

مقایسه تاثیر روش های مختلف استخراج بر بازدهی و ترکیب اسید چرب روغن دانه نارنج

محمد تقی گل‌مکانی^{۱*}، غلامرضا مصباحی^۲، نرجس گرجی^۳، مهرداد نیاکوثری^۴

۱- دکتری، دانشیار، بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۲- کارشناسی ارشد، استادیار، بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۴- دکتری، استاد، بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۶/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۵/۲۲)

چکیده

استخراج به کمک امواج فراصوت یک روش جایگزین ارزان، ساده و کارآمد در مقایسه با روش‌های متداول استخراج می‌باشد. هدف از این مطالعه مقایسه عملکرد استخراج روغن دانه نارنج (*Citrus aurantium*) به کمک امواج فراصوت می‌باشد. در این مطالعه، اثر استخراج به کمک امواج فراصوت (۲، ۴ و ۶ ساعت) در مقایسه با روش استخراج الکتروممتل (۸ ساعت در ۳۰۰ وات، ۱۲ ساعت در ۲۰۰ وات و ۲۴ ساعت در ۱۰۰ وات) و روش متداول سوکسله (۴۲ ساعت) بر بازدهی و ترکیب روغن دانه نارنج انجام پذیرفت. ترکیب اسید چرب روغن‌های دانه نارنج استخراج شده به وسیله روش کروماتوگرافی گازی سریع تعیین شدند. روش‌های مختلف استخراج به شکل معنی‌داری بر بازدهی روغن دانه نارنج موثر بودند ($P < 0.05$) و می‌توان استخراج به کمک امواج فراصوت را به عنوان یک روش سریع معرفی نمود. علاوه بر این، در تمامی روش‌های استخراج، بازدهی روغن دانه نارنج با افزایش زمان استخراج افزایش یافت. نتایج به دست آمده بیانگر این مسئله بود که در بین اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع، اسید پالمیتیک و اسید لینولئیک به شکل معنی‌داری به ترتیب بالاترین مقادیر را داشتند ($P < 0.05$). همچنین، مقادیر اسیدهای چرب تک غیراشباع و اسیدهای چرب چند غیراشباع خصوصاً اسید چرب آلفا لینولئیک در روغن دانه نارنج مشابه روغن‌های سویا و کانولا بود. ترکیب اسیدهای چرب روغن‌های حاصل از روش‌های مختلف استخراج اختلاف معنی‌داری نداشتند ($P < 0.05$). با استفاده از روش‌های استخراج به کمک امواج فراصوت و الکتروممتل می‌توان در مدت زمان کمتری، روغن‌هایی با ویژگی‌های مشابه روغن استخراج شده توسط روش استاندارد سوکسله به دست آورد.

کلید واژگان: روغن دانه نارنج، روش استخراج، ترکیب اسید چرب، بازدهی استخراج، امواج فراصوت

* مسئول مکاتبات: golmakani@shirazu.ac.ir

۱- مقدمه

در روغن دانه‌های مختلف به این صورت مشخص شد که دانه پرتقال حاوی ۶۲/۱۸ درصد اسید لینولئیک، دانه انگور حاوی ۵۲/۴۲ درصد اسید اروسیک، دانه لیموترش حاوی ۶۱/۱۱ درصد اسید لینولئیک می‌باشد. بازده استخراج این روغن‌ها متفاوت می‌باشد و همه سرشار از اسیدهای چرب ضروری هستند [۴].

معمولترین روش‌های استخراج روغن از منابع گیاهی، سوکسله، استخراج با حلال، استخراج آزمیمی و استخراج به کمک سیال فوق بحرانی می‌باشند [۵]. در سال‌های اخیر، استخراج به کمک فراصوت به‌عنوان یک روش کارآمد ارزان قیمت برای استخراج ترکیبات فعال زیستی (نظیر آنتی‌اکسیدان‌ها، فیتوسترول‌ها و ویتامین‌های محلول در چربی) و روغن از منابع گیاهی مورد استفاده قرار گرفته است. مزایای تکنیک فراصوت (مانند: بازدهی بالا، روش کار ساده و زمان استخراج کوتاه)، این روش را به عنوان یک جایگزین قابل قبول برای روش‌های متداول استخراج مطرح می‌کند. به‌طور کلی، توان فراصوت موجب ارتعاش اضافی در مولکول‌های نمونه می‌شود، کاویتاسیون و سطح تماس بین ماتریکس نمونه و فاز حلال مایع را افزایش می‌دهد و در نتیجه باعث افزایش بازدهی در زمان استخراج کوتاه می‌گردد [۶].

در بررسی اسیدهای چرب به روش کروماتوگرافی گازی، اسیدهای چرب متیل استر شده^۱ در حالت بخار بین فاز متحرک گازی و فاز ثابت جامد/ مایع جداسازی و با شناساگر یونیزاسیون شعله‌ای^۲ شناسایی می‌شوند. اخیراً استفاده از روش‌های کروماتوگرافی گازی سریع^۳ گسترش فراوانی یافته است. در این روش‌ها از ستون‌های با طول، قطر داخلی و ضخامت فیلم کمتر و دمای بالا استفاده می‌شود. در این شرایط دمایی و نوع ستون، امکان جداسازی مناسب اسیدهای چرب در زمان کوتاهی فراهم می‌گردد [۷].

در سال‌های اخیر به منابع جدید روغن‌های خوراکی توجه فراوانی شده است [۸] و تحقیقات بسیاری در رابطه با تولید روغن‌های خوراکی از میوه‌ها و گیاهان مختلف صورت گرفته است که البته این امر در مورد استفاده از دانه نارنج کمتر محقق شده است و حداقل در ایران و بر روی واریته‌های نارنج موجود موردی از تحقیق یافت نشده است. هدف از این

نارنج (*Citrus aurantium*) هیبریدی متشکل از ژنوتیپ‌های *Citrus grandis* و *Citrus reticulata* می‌باشد. منشا این میوه کشور چین بوده و از قرن دهم وارد کشورهای خاورمیانه (ایران، عراق، سوریه، فلسطین و مصر) شده و بعد از آن به آفریقای شمالی و اروپا آورده شده است [۱]. میوه نارنج به طور متوسط دارای ۲۶/۵۳ درصد آب نارنج می‌باشد. مقدار کل لیپید و کل اسیدهای چرب آب نارنج به ترتیب ۰/۱۷ درصد و ۶۷۸ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد. در میان اسیدهای چرب آب نارنج، اسید اولئیک بیشترین مقدار (۱۶۴/۰۲ میلی‌گرم در لیتر) را به خود اختصاص داده است [۲]. دانه‌های مرکبات نیز تقریباً دارای ۳۶ درصد روغن می‌باشند که می‌توانند هم از طریق پرس و هم با استفاده از حلال استخراج شوند. بعد از استخراج آبمیوه از مرکبات، دانه‌ها با استفاده از جداکننده‌های پره‌ای از ضایعات جدا شده و بعد از شستشو، خشک شده و در نهایت روغن آن‌ها استخراج می‌شود. روغن تصفیه شده دانه مرکبات برای مصارف خوراکی به‌عنوان روغن پخت و پز و سالاد و همچنین برای تولید مارگارین و چاشنی سالاد استفاده می‌شود و سرشار از اسیدهای چرب ضروری می‌باشد [۳].

روغن دانه مرکبات منبع مناسبی از اسیدهای چرب ضروری می‌باشد. بیش از ۶۰ نوع اسید چرب در روغن دانه مرکبات شناسایی شده است که عمده‌ترین آن‌ها مربوط به اسیدهای چرب غیراشباع (بیشتر از ۶۵ درصد) می‌باشد. به‌طورکلی، اسیدهای چرب غیراشباع موجود در روغن دانه مرکبات شامل اسیدهای اولئیک (بیشتر از ۱۸ درصد)، لینولئیک (بیشتر از ۳۰ درصد) و لینولئیک (۱۲-۲ درصد) می‌باشند. نسبت اسیدهای چرب اشباع به اسیدهای چرب غیراشباع در روغن دانه مرکبات بسیار پایین می‌باشد. عمده‌ترین اسیدهای چرب اشباع موجود در روغن دانه مرکبات اسیدهای پالمیتیک و استئاریک بوده که مقادیر آن‌ها به ترتیب حدود ۳۱-۲۲ درصد و ۶-۱ درصد می‌باشد. در مقایسه با سایر اسیدهای چرب، اسیدهای آراشیدونیک و لوریک در مقادیر بسیار ناچیز در روغن دانه مرکبات وجود دارند (۳).

آتولانی و همکاران (۲۰۱۲) ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه چند میوه خوراکی از جمله هندوانه، لیموترش، انگور و پرتقال را بررسی کردند. در این مطالعه اسیدهای چرب مهم موجود

1. Fatty acid methyl ester
2. Flame ionization detector
3. Fast GC method

ساعت استفاده شد. در این روش به ۵۰ گرم نمونه پودر شده، ۲۵۰ میلی‌لیتر حلال هگزان اضافه شد. پس از خاتمه استخراج، میسلا به وسیله فیلتراسیون تحت خلأ جداسازی شد. سپس با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخشی تحت خلأ به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰ دور در دقیقه و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس حلال از میسلا جداسازی گردید. در نهایت درصد وزنی- وزنی روغن استخراج شده با توزین آن اندازه‌گیری شد.

۲-۳-۳- استخراج روغن به کمک امواج فراصوت

در این روش، از دستگاه حمام امواج فراصوت مدل Bandelin DT255H (با ابعاد ۱۵۰×۱۵۰×۳۰۰ میلی‌متر مکعب، توان ۱۶۰ وات، فرکانس ۵۰ کیلوهرتز و حجم ۳/۸ لیتر) ساخت کشور آلمان استفاده گردید. بعد از آماده‌سازی دانه‌های نارنج، مقدار ۵۰ گرم از نمونه آسیاب شده وزن گردید و درون فلاسک یک لیتری ریخته شد. در ادامه ۲۵۰ میلی‌لیتر حلال هگزان به نمونه اضافه گردید و درون حمام امواج فراصوت قرار گرفت. دمای حمام امواج فراصوت در ۶۰ درجه سلسیوس تنظیم گردید و استخراج در توان ثابت ۱۶۰ وات و در سه زمان ۲، ۴ و ۶ ساعت انجام پذیرفت. بعد از سرد شدن فلاسک حاوی میسلا، تفاله با استفاده از فیلتراسیون تحت خلأ جداسازی شد. به وسیله دستگاه تبخیرکننده چرخشی تحت خلأ به مدت ۱۵ دقیقه و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و با سرعت ۳۰ دور در دقیقه، حلال از میسلا جداسازی گردید. سپس، وزن روغن استخراجی اندازه‌گیری و درصد وزنی- وزنی روغن استخراج شده محاسبه شد.

۲-۴- تعیین بازدهی روغن در روش‌های

مختلف استخراج

برای ارزیابی بازدهی روش‌های ذکر شده در استخراج روغن از معادله زیر استفاده شد (۱۰).
معادله ۱: $۱۰۰ \times (\text{گرم روغن حاصل} / \text{گرم روغن نمونه خشک}) = \text{بازدهی استخراج روغن (درصد)}$

۲-۵- تعیین ترکیب اسیدهای چرب روغن

جهت بررسی اسیدهای چرب نمونه‌های روغن استخراج شده، از دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل BP 3400A ساخت کشور چین، مجهز به ستون BPX70 با طول ۳۰ متر، ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر و قطر ۰/۲۵ میلی‌متر ساخت شرکت SGE استرالیا و شناساگر FID 1075 system

پژوهش، استخراج روغن دانه نارنج با روش‌های استخراج به کمک امواج فراصوت و الکتروموتل در مقایسه با روش استاندارد سوکسله به منظور تعیین بازدهی روغن و مشخص کردن میزان و نوع اسیدهای چرب موجود با روش کروماتوگرافی گازی سریع به منظور یافتن کاربردهای مناسب‌تر برای این روغن می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی دانه‌های نارنج

دانه نارنج از کارخانه تولید آب نارنج لیموندیس در استان فارس تهیه شد. دانه‌ها بعد از جداسازی از قسمت پالپ، شسته شدند. سپس در آن با هوای داغ (دمای ۶۰ درجه سلسیوس) به مدت ۴۸ ساعت خشک و سپس بسته بندی شده و تا زمان استفاده درون یخچال نگهداری شدند. برای استخراج بهتر روغن، دانه‌های خشک شده بلافاصله قبل از استخراج با استفاده از آسیاب برقی (شرکت Moulinex، مدل ۳۲۰، ساخت فرانسه) و مش‌های ۷۰ به اندازه ذرات ۲۱۰-۵۰۰ میکرومتر در آمدند.

۲-۲- تعیین ترکیبات شیمیایی دانه نارنج

برای اندازه‌گیری رطوبت، خاکستر، چربی و پروتئین در دانه نارنج به ترتیب از روش‌های ۱۵-۱۴، ۰۱-۰۸، ۲۵-۳۰ و ۱-۴۶ استاندارد AACC (۹) استفاده گردید.

۲-۳- استخراج روغن از دانه نارنج

۲-۳-۱- استخراج روغن با روش سوکسله

به منظور استخراج روغن از دانه نارنج به روش سوکسله، مقدار ۱۰ گرم نمونه خرد شده با ۲۵۰ میلی‌لیتر حلال هگزان مخلوط گردیده و به مدت ۴۲ ساعت استخراج صورت گرفت. عمل استخراج چهار بار دیگر نیز تکرار شد تا در مجموع روغن از ۵۰ گرم دانه نارنج استخراج شده باشد. جهت حذف کامل حلال از دستگاه تبخیرکننده چرخشی تحت خلأ استفاده گردید. بعد از حذف حلال، درصد وزنی- وزنی روغن استخراج شده با توزین آن اندازه‌گیری شد.

۲-۳-۲- استخراج روغن با روش الکتروموتل

به منظور استخراج روغن با استفاده از دستگاه الکتروموتل از سه توان ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ وات به ترتیب به مدت ۸، ۱۲ و ۲۴

4. Vacuum rotary evaporator

کیلوهرتز و دمای ۵۵ تا ۶۵ درجه سلسیوس) جهت استخراج روغن از دانه نارنج استفاده شد. روش های مختلف استخراج، بازدهی روغن متفاوتی از خود نشان دادند (شکل ۱). با افزایش زمان در روش های مختلف استخراج، مقدار روغن استخراج شده از دانه نارنج نیز افزایش یافت. با افزایش زمان در معرض قرار گرفتن ذرات دانه نارنج با حلال هگزان، میزان نفوذ حلال به ذرات دانه بیشتر شده و در نتیجه حلال قادر به استخراج مقدار بیشتری روغن می باشد. در رابطه با اعمال امواج فراصوت نیز به دلیل تخریب ساختار دانه، روغن سریع تر از بافت دانه خارج می گردد.

نتایج این تحقیق با نتایج ژانگ و همکاران (۲۰۰۸) که روش غوطه وری و امواج فراصوت را در استخراج روغن دانه بذرک مورد بررسی قرار داده و دریافته اند امواج فراصوت به دلیل شکستن دیواره سلولی بذرک منجر به افزایش تماس بین حلال و نمونه شده که در نتیجه روغن سریع تر از سلول های بذر خارج و وارد فاز حلال می شود، مطابقت دارد [۱۳]. مشاهدات تیان و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که فرایند استخراج با استفاده از امواج فراصوت باعث تقویت استخراج روغن دانه انار می گردد. آن ها بیان کردند که امواج فراصوت باعث پدیده کاویتاسیون در نزدیکی سطح مشترک مایع- جامد شده و یک جریان پر سرعت از مایع به سطح دانه انار می فرستند. کاویتاسیون در سطح دانه انار باعث کنده شدن پوسته، سایش و شکسته شدن آن می شود. این اثر، سطح جدید بیشتری را جهت انتقال جرم فراهم کرده و روغن در زمان کمتری وارد فاز حلال می گردد [۱۰]. این یافته ها، نتایج تحقیق حاضر را تأیید می کنند.

همچنین، پورتو و همکاران (۲۰۱۳) که بازدهی روش های سوکسله (۶ ساعت) و فراصوت (۳۰ دقیقه، ۲۰ کیلوهرتز، توان های ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ وات) را در استخراج روغن دانه انگور مورد بررسی قرار دادند، نتایجی مشابه یافته های ما به دست آوردند. آن ها نشان دادند که با افزایش توان امواج فراصوت، بافت سلولی سریع تر تخریب شده و در نتیجه بازدهی استخراج افزایش می یابد. بازدهی امواج فراصوت با توان ۱۵۰ وات در استخراج روغن مشابه روش سوکسله در زمان ۶ ساعت بود [۱۴].

استفاده شد. دمای ستون (هم دما)، تزریق کننده و شناساگر به ترتیب ۱۹۸، ۲۵۰ و ۳۰۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. علاوه بر این، متیل استر استانداردها نیز در شرایط مشابه به دستگاه تزریق شدند. حجم تزریق سه میکرولیتر و جداسازی تزریق کننده ۱ به ۸ بود. جهت ارزیابی پیک های حاصل و تعیین اسیدهای چرب روغن از نرم افزار peak-ABC chromatography work station نسخه ۲/۲۴ استفاده شد. جهت تعیین نوع اسیدهای چرب (کیفی) از زمان ماند اسیدهای چرب استاندارد استفاده شد. همچنین، جهت تعیین کمی (درصد) اسیدهای چرب روغن از نسبت سطح زیر پیک استفاده گردید [۱۱].

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

برای آنالیز آماری داده های به دست آمده از روش های مختلف استخراج به کمک امواج فراصوت، الکترومیتل و سوکسله از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. آزمون ها در حداقل سه تکرار انجام شده و سپس میانگین و انحراف معیار آن ها به دست آمد. به منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (سه تکرار هر آزمایش)، پس از آنالیز واریانس از آزمون چند دامنه ای دانکن استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ انجام شد.

۳- نتایج و بحث

در این پژوهش مشخص گردید که دانه نارنج دارای ۸/۵ درصد رطوبت، ۱/۷ درصد پروتئین، ۲/۷ درصد خاکستر، ۱۸/۱ درصد چربی و ۶۹/۰ درصد کربوهیدرات می باشد. نتایج نشان می دهند که دانه نارنج حاوی مقدار زیادی روغن می باشد. در پژوهش دیگری، وحید و همکاران (۲۰۰۹) نیز درصد چربی موجود در دانه نارنج را ۲۱/۸ درصد گزارش کرده اند [۱۲].

۳-۱- بازدهی روش های مختلف استخراج

روغن دانه نارنج

در این پژوهش از دو روش سوکسله (۴۲ ساعت) و الکترومیتل (۸ ساعت ۳۰۰ وات، ۱۲ ساعت ۲۰۰ وات و ۲۴ ساعت ۱۰۰ وات) به عنوان روش های متداول و از روش نوین امواج فراصوت (۲، ۴ و ۶ ساعت، توان ۱۶۰ وات، فرکانس ۵۰

رایج‌ترین اسید چرب اشباع در روغن‌های گیاهی و حیوانی، اسید پالمیتیک می‌باشد. در میان اسیدهای چرب تک غیراشباع، اسید اولئیک (C18:1، امگا ۹) عمده‌ترین اسید چرب در روغن‌های گیاهی و حیوانی است. اسیدهای چرب چند غیراشباع اسید لینولئیک (C18:2، امگا ۶) و اسید آلفا لینولئیک (C18:1، امگا ۳) به‌عنوان اسیدهای چرب ضروری شناخته شده و از اهمیت بالایی در رژیم غذایی برخوردار هستند. بدن قادر به سنتز این اسیدهای چرب نبوده و بایستی از طریق رژیم غذایی تأمین شوند. اسیدهای چرب چند غیراشباع امگا ۳، شامل اسید آلفا لینولئیک در کاهش بیماری‌های قلبی عروقی و دیابت و همچنین کاهش سطح کلسترول بد و فشار خون نقش اساسی دارند. مقدار اسید لینولئیک در اکثر روغن‌ها کمتر از ۲-۱ درصد بوده و تنها در کانولا و سویا به ترتیب ۱۰ و ۸ درصد می‌باشد [۱۵]. روغن دانه نارنج نیز ۸/۰۹-۶/۶۹ درصد اسید لینولئیک دارد.

علیرغم کوتاه‌تر بودن زمان استخراج و انرژی مصرفی روش‌های الکتروموتل و امواج فراصوت، ترکیب اسیدهای چرب روغن‌های حاصل از این دو روش با روغن حاصل از روش سوکسله اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) نداشتند (جدول ۱). برای مثال تفاوت معنی‌داری در مقدار اسید اولئیک به عنوان اسید چرب اصلی دانه نارنج، میان روش‌های مختلف استخراج مشاهده نگردید. این امر می‌تواند تأیید کننده این مطلب باشد که روش‌های استخراج بر ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه نارنج موثر نیستند. با توجه به یکسان بودن ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه نارنج استخراج شده به کمک روش‌های مختلف استخراج، تنها تفاوتی جزئی معنی‌دار ($P < 0.05$) بین مقادیر اسیدهای چرب اشباع، تک و چند غیراشباع نیز مشاهده می‌شود.

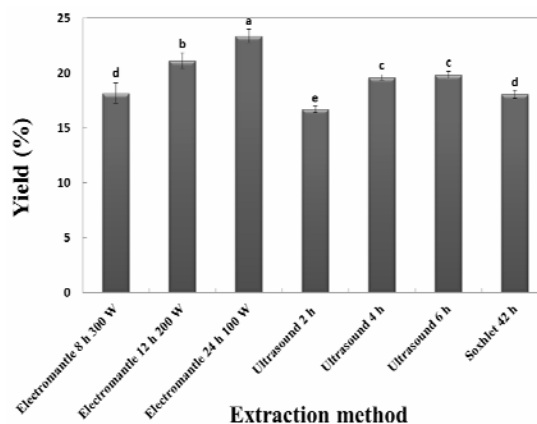


Fig 1 Sour-orange seed oil yields extracted with different methods.

۲-۳- بررسی ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه نارنج

نتایج مربوط به ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه نارنج در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که ملاحظه می‌شود دانه نارنج حاوی اسیدهای چرب ضروری و مهم برای بدن است. روغن دانه نارنج شامل اسیدهای چرب ۱۶ تا ۱۸ کربنه غیراشباع می‌باشد. اسیدهای چرب غیراشباع از لحاظ تغذیه دارای ارزش بالایی هستند. داشتن بیش از ۶۰ درصد اسیدهای چرب غیراشباع و بیش از ۴۰ درصد اسیدهای چرب چند غیراشباع، روغن دانه نارنج را به عنوان روغنی مرغوب از جنبه تغذیه‌ای مطرح می‌سازد. نتایج این تحقیق با نتایج شهیدی و ژانگ (۲۰۰۵) که بیان کردند اسیدهای چرب غیراشباع موجود در روغن دانه مرکبات شامل اسیدهای اولئیک (بیشتر از ۱۸ درصد)، لینولئیک (بیشتر از ۳۰ درصد) و لینولئیک (۱۲-۲ درصد) و اسیدهای چرب اشباع آن اسیدهای پالمیتیک (۳۱-۲۲ درصد) و استئاریک (۶-۱ درصد) می‌باشند، مطابقت دارند [۳].

Table 1 Fatty acids profiles of sour-orange seed oil extracted with different methods

Extraction method							g fatty acid/100 g oil
Soxhlet 42 h 260 W	Ultrasound 6 h 160 W	Ultrasound 4 h 160 W	Ultrasound 2 h 160 W	Electromantle e 24 h 100 W	Electromantle 12 h 200 W	Electromantle 8 h 300 W	
31.50 ^{ab} ± 0.59	30.14 ^b ± 0.38	31.09 ^b ± 1.50	31.81 ^{ab} ± 1.18	30.42 ^b ± 0.36	30.88 ^b ± 1.14	33.47 ^a ± 0.17*	Palmitic acid
2.42 ^b ± 0.41	3.42 ^a ± 0.42	3.23 ^{ab} ± 0.11	3.43 ^a ± 0.21	2.52 ^{ab} ± 0.42	3.34 ^{ab} ± 0.39	2.76 ^{ab} ± 0.44	Stearic acid
23.41 ^{ab} ± 2.05	25.20 ^a ± 0.20	23.00 ^{ab} ± 0.70	24.07 ^{ab} ± 0.50	22.39 ^b ± 0.55	24.62 ^{ab} ± 0.26	22.95 ^b ± 0.02	Oleic acid
32.65 ^a ± 1.03	33.38 ^a ± 0.43	33.34 ^a ± 0.35	32.91 ^a ± 0.10	32.87 ^a ± 0.41	33.42 ^a ± 0.31	32.74 ^a ± 0.39	Linoleic acid
6.69 ^a ± 0.59	8.09 ^a ± 0.14	7.18 ^a ± 0.53	7.76 ^a ± 0.36	7.26 ^a ± 0.05	7.43 ^a ± 0.58	7.06 ^a ± 1.16	α -Linolenic acid
33.92 ^{bc} ± 1.00	33.56 ^{bc} ± 0.04	34.33 ^{abc} ± 1.62	35.24 ^{ab} ± 0.97	32.95 ^c ± 0.06	34.22 ^{abc} ± 0.74	36.24 ^a ± 0.62	Saturated fatty acid
62.76 ^a ± 3.68	66.68 ^a ± 0.37	63.52 ^a ± 1.59	64.75 ^a ± 0.96	62.52 ^a ± 0.19	65.47 ^a ± 1.16	62.75 ^a ± 0.79	Unsaturated fatty acid
23.41 ^{ab} ± 2.05	25.25 ^a ± 0.20	23.00 ^{ab} ± 0.70	24.07 ^{ab} ± 0.50	22.39 ^b ± 0.55	24.62 ^{ab} ± 0.26	22.95 ^b ± 0.02	Monounsaturated fatty acid
39.35 ^a ± 1.60	41.47 ^a ± 0.58	40.52 ^a ± 0.88	40.68 ^a ± 0.46	40.13 ^a ± 0.35	40.85 ^a ± 0.89	39.80 ^a ± 0.76	Polyunsaturated fatty acid

* Mean ± SD (n=3); In each row, means with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

۳-۳- بررسی میزان اسیدهای چرب روغن دانه

نارنج

مقدار اسیدهای چرب موجود در دانه نارنج با توجه به بازدهی روغن روش های مختلف محاسبه شد. نتایج حاصل در جدول ۲ آورده شده است. نتایج نشان دهنده وجود اختلاف آماری معنی دار ($P < 0.05$) میان برخی از اسیدهای چرب موجود در روغن دانه نارنج حاصل از روش های مختلف استخراج بود. در میان روغن های حاصل از روش های مختلف استخراج، بالاترین مقدار اسیدهای چرب اشباع و همچنین بالاترین مقدار

اسیدهای چرب غیراشباع مربوط به روغن های به دست آمده با الکتروموتل در بیشترین زمان (۲۴ ساعت، توان ۱۰۰ وات) و همچنین روغن به دست آمده با امواج فراصوت در بیشترین زمان (۶ ساعت) بود. زمان لازم برای استخراج روغن از ۵۰ گرم دانه نارنج در روش های امواج فراصوت و الکتروموتل به ترتیب ۱۴ و ۵۷ درصد روش مرجع سوکسله بودند. روش های نوین باعث کاهش زمان و افزایش بازدهی استخراج روغن می گردند. در نتیجه، استفاده از این روش های نوین منجر به کاهش انرژی و هزینه مصرفی جهت استخراج روغن می شوند.

Table 2 Fatty acids contents of sour-orange seed oil extracted with different methods

Extraction method							g fatty acid/100 g seed
Soxhlet 42h 260W	Ultrasound 6h 160W	Ultrasound 4h 160W	Ultrasound 2h 160W	Electromantle 24h 100W	Electromantle 12 h 200W	Electromantle 8 h 300W	
5.50 ^{cd} ±0.26	6.18 ^{bc} ±0.31	6.09 ^{bc} ±0.37	5.31 ^d ±0.28	7.11 ^a ±0.26	6.52 ^{ab} ±0.02	6.08 ^{bc} ±0.33*	Palmitic acid
0.52 ^{cd} ±0.19	0.57 ^{cd} ±0.04	0.63 ^a ±0.03	0.57 ^{cd} ±0.02	0.59 ^{cd} ±0.08	0.70 ^{cd} ±0.10	0.50 ^f ±0.10	Stearic acid
4.26 ^{cd} ±2.34	4.95 ^{cd} ±0.04	4.51 ^{cd} ±0.19	4.01 ^d ±0.02	5.23 ^a ±0.05	5.20 ^a ±0.23	4.17 ^{cd} ±0.21	Oleic acid
5.86 ^{cd} ±0.03	6.69 ^{bc} ±0.00	6.53 ^c ±0.14	5.49 ^c ±0.07	7.68 ^a ±0.10	7.06 ^b ±0.30	6.04 ^d ±0.35	Linoleic acid
1.28 ^b ±0.19	1.51 ^{ab} ±0.12	1.41 ^{ab} ±0.12	1.29 ^{ab} ±0.03	1.70 ^a ±0.05	1.57 ^{ab} ±0.17	1.29 ^{ab} ±0.27	α-Linolenic acid
6.02 ^{cd} ±0.07	6.76 ^{bc} ±0.26	6.73 ^b ±0.40	5.88 ^d ±0.25	7.70 ^a ±0.18	7.23 ^{ab} ±0.08	6.59 ^{bc} ±0.44	Saturated fatty acid
11.41 ^{de} ±0.57	13.16 ^{bc} ±0.07	12.45 ^{cd} ±0.46	10.80 ^f ±0.01	14.62 ^a ±0.10	13.84 ^{ab} ±0.71	11.50 ^{de} ±0.84	Unsaturated fatty acid
4.26 ^{cd} ±0.34	4.95 ^{cd} ±0.04	4.51 ^{cd} ±0.19	4.01 ^d ±0.02	5.23 ^a ±0.05	5.20 ^a ±0.23	4.17 ^{cd} ±0.21	Monounsaturated fatty acid
7.14 ^{cd} ±0.22	8.21 ^b ±0.12	7.94 ^{cd} ±0.27	6.78 ^d ±0.03	9.38 ^a ±0.16	8.64 ^{ab} ±0.48	7.33 ^{cd} ±0.63	Polyunsaturated fatty acid

* Mean ± SD (n=3); In each row, means with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

حلال و کشش سطحی نیز نقش مهمی در این خصوص بازی می کنند (۱۶). همچنین، پورتو و همکاران (۲۰۱۳) نیز ترکیب اسیدهای چرب روغن های استخراج شده از هسته انگور با دو روش امواج فراصوت و سوکسله را مورد بررسی قرار دادند. آن ها دریافتند که اسیدهای چرب اصلی روغن هسته انگور (به جز اسید استئاریک) تحت تأثیر روش استخراج قرار نمی گیرند (۱۴).

کروماتوگرام های مربوط به اسیدهای چرب روغن دانه نارنج استخراج شده به کمک روش های امواج فراصوت (۶ ساعت، توان ۱۶۰ وات)، الکتروموتل (۲۴ ساعت، توان ۱۰۰ وات) و سوکسله در شکل های ۴-۲ نشان داده شده است. استفاده از روش های کروماتوگرافی گازی سریع قادر به تفکیک مناسب تمامی پیک ها در ۴ دقیقه بوده است. استفاده از ستون مناسب برنامه دمایی هم دما این امکان را فراهم آورده است تا اسیدهای چرب پالمیتیک، استئاریک، اولئیک، لینولئیک و آلفا لینولئیک در دقایق ۴-۲ به خوبی جداسازی شوند.

نتایج این پژوهش با یافته های ژانگ و همکاران (۲۰۰۸) که تأثیر دو روش استخراج با امواج فراصوت و روش غوطه وری را بر ترکیب اسیدهای چرب روغن پنبه دانه مورد مطالعه قرار دادند، همخوانی داشت. این محققان نیز نشان دادند که علیرغم بالاتر بودن بازدهی استخراج روغن در روش امواج فراصوت، ترکیب اسیدهای چرب روغن پنبه دانه تحت تأثیر روش استخراج قرار نمی گیرد (۱۲). لی و همکاران (۲۰۰۴) نیز که اثر استخراج با امواج فراصوت با شدت بالا را بر ترکیب اسیدهای چرب روغن سویا مورد مطالعه قرار دادند، نتایج مشابهی گزارش کردند. آن ها بیان کردند که اگرچه امواج فراصوت با شدت بالا باعث کاهش زمان و بهبود بازدهی استخراج روغن سویا می گردند اما نمی توانند اختلاف معنی داری را در ترکیب اسیدهای چرب روغن سویا ایجاد کنند. همچنین، آن ها بیان کردند که دلیل افزایش بازدهی استخراج روغن با امواج فراصوت تنها انتشار مولکول های حلال به درون ذرات سویا نبوده و کاویتاسیون، فشار بخار

۴- نتیجه گیری کلی

در این تحقیق استخراج روغن از دانه نارنج به کمک امواج فراصوت و الکترومنتل در مقایسه با روش استاندارد سوکسله انجام و بازدهی استخراج، ترکیب و میزان اسیدهای چرب روغن بررسی شد. عمده‌ترین اسیدهای چرب موجود در روغن دانه نارنج (در روش سوکسله) به ترتیب شامل اسیدهای لینولئیک، پالمیتیک، اولئیک، لینولئیک و استئاریک بودند. به دلیل وجود مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع مفید به ویژه اسیدهای چرب چند غیراشباع اسید لینولئیک و اسید آلفا لینولئیک، می‌توان روغن دانه نارنج را جزو روغن‌های دارای ارزش تغذیه‌ای بالا معرفی نمود. ترکیب اسیدهای چرب روغن‌های حاصل از روش‌های مختلف استخراج تقریباً مشابه بود. به‌طورکلی می‌توان بیان کرد که ویژگی‌ها و ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه نارنج تحت تأثیر روش استخراج قرار نمی‌گیرند. بنابراین، می‌توان با استفاده از روش‌های الکترومنتل و امواج فراصوت در مدت زمان کمتری، روغن‌هایی با ویژگی‌های مشابه روغن استخراج شده توسط روش استاندارد سوکسله به‌دست آورد.

۵- منابع

- [1] Khan, I. 2007. Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology. London.
- [2] Moufida, S., and Marzouk, B. 2003. Biochemical characterization of blood orange, sweet orange, lemon, bergamot and bitter orange. *Phytochemistry*. 62: 1283-1289.
- [3] Shahidi, F., and Zhong, Y. 2005. Citrus Oil and Essences. PP. 50-51, 53-61. In: F. Shahidi (ed.) *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 6th ed. Canada, Memorial University of Newfoundland.
- [4] Atolani, O., Omere, J., Otuechere, C.A., and Adewuyi, A. 2012. Antioxidant and cytotoxicity effects of seed oils from edible fruits. *Journal of Acute Disease*. 1: 130-134.
- [5] Castillo-Herrera, G.A., Farías-Álvarez, L.G., García-Fajardo, J.A., Delgado-Saucedob, J.I., Puebla-Pérez, A.M., and Lugo-Cervantes, E. 2015. Bioactive extracts of *Citrus aurantifolia* swingle seeds obtained by supercritical CO₂ and organic solvents comparing its cytotoxic activity against

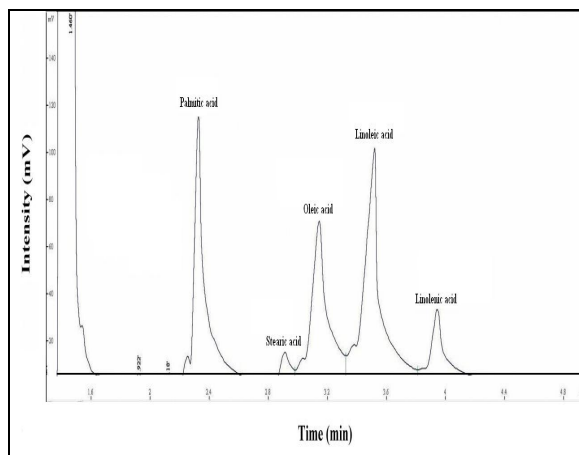


Fig 2 Chromatogram of sour-orange seed oil extracted with Soxhlet method (42 h, 260 W).

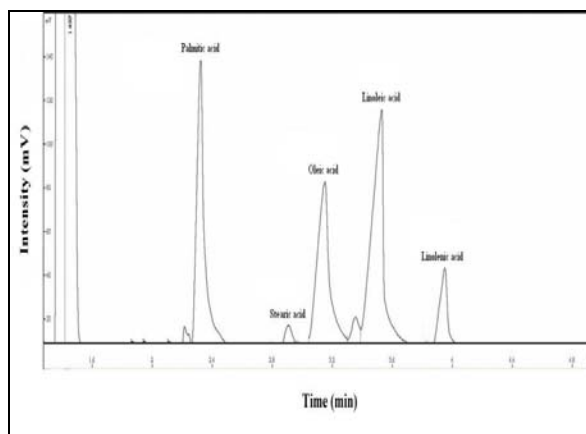


Fig 3 Chromatogram of sour-orange seed oil extracted with Electromantle method (24 h, 100 W).

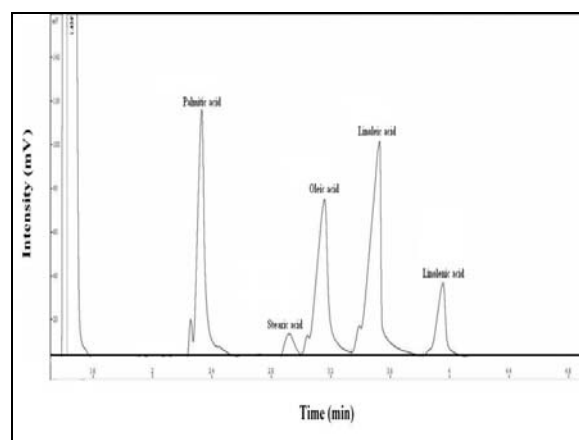


Fig 4 Chromatogram of sour-orange seed oil extracted with ultrasound method (6 h, 160 W).

- vulgaris* biomass. Journal of Food Science and Technology. 54: 2464-2473.
- [12] Waheed, A., Mahmud, S., Saleem, M., and Ahmad, T. 2009. Fatty acid composition of neutral lipid: Classes of Citrus seed oil. Journal of Saudi Chemical Society. 13: 269-272.
- [13] Zhang, Z.S., Wang, L.J., Li, D., Jiao, S.S., Chen, X.D., and Mao, Z.H. 2008. Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. Separation and Purification Technology. 62: 192-198.
- [14] Porto, C.D., Porretto, E., and Decorti, D. 2013. Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. Ultrasonics Sonochemistry. 20: 1076-1080.
- [15] Muller H., Kirkhus, B., and Pedersen, J.I. 2001. Serum cholesterol predictive equations with special emphasis on trans and saturated fatty acids. An analysis from designed controlled studies. Lipids. 36: 783-791.
- [16] Li, H., Pordesimo, L., and Weiss, J. 2004. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. Food Research International. 37: 731-738.
- L5178Y leukemia lymphoblasts. Journal of Supercritical Fluids. 101: 81-86.
- [6] Samarama, S., Mirhosseini, H., Tana, C.P., and Ghazali, H.M. 2014. Ultrasound-assisted extraction and solvent extraction of papaya seed oil: Crystallization and thermal behavior, saturation degree, color and oxidative stability. Industrial Crops and Products. 52: 702-708.
- [7] Kumar, D.M. 2002. Biotechnology and Biochemistry. In: C. Akoh, Casimir and B. Min David (ed.) Food Lipids, Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. New York.
- [10] Nehdi, I. 2011. Characteristics, chemical composition and utilization of *Albizia julibrissin* seed oil. Industrial Crops and Products. 33: 30-34.
- [9] AACC. 2000. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of Analysis of the American.
- [10] Tian, Y., Xu, Z., Zheng, B., and Lo, Y.M. 2012. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. Ultrasonics Sonochemistry. 20: 202-208.
- [11] Alavi, N., and Golmakani, M.T. 2017. Improving oxidative stability of virgin olive oil by addition of microalga *Chlorella*

Comparison the effect of different extraction methods on yield and fatty acid composition of sour-orange seed oil

Golmakani, M. T. ^{1*}, Mesbahi, G. R. ², Gorji, N. ³, Niakosari, M. ⁴

1. PhD, Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University
 2. MSc, Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University
 3. Graduated MSc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University
 4. PhD, Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shiraz University
- (Received: 2016/08/31 Accepted:2017/08/13)

Ultrasound-assisted extraction is an inexpensive, simple and efficient alternative method in comparison with conventional extraction methods. The objective of this study was to compare the performance of ultrasound-assisted extraction of sour-orange (*Citrus aurantium*) seed oil. In this study, ultrasound-assisted extraction (2, 4, and 6 h) was applied in comparison with heat reflux extraction (8 h at 300 W, 12 h at 200 W, and 24 h at 100 W) and conventional Soxhlet (42 h) methods in terms of yield and composition of sour-orange seed oil. The fatty acid composition of the extracted sour-orange seed oils were determined by using fast gas chromatography method. There were significant differences among sour-orange seed oil yields of different extraction methods ($P<0.05$) and ultrasound-assisted extraction method can be introduced as a time consuming method. Moreover, in all extraction methods, sour-orange seed oil yield increased by increasing extraction time. Obtained results indicated that palmitic acid and linoleic acid were significantly the most abundant saturated fatty acid and unsaturated fatty acid of sour-orange seed oil, respectively ($P<0.05$). Also, the amounts of monounsaturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids especially α -linolenic acid of sour-orange seed oil were similar to soya and canola oils. There were no significant ($P<0.05$) differences among fatty acid profiles of the oils obtained with different extraction methods. By using ultrasound-assisted extraction and heat reflux extraction methods, it is possible to extract oils in shorter time, but with similar characteristics to the oil extracted with standard Soxhlet method.

Keywords: Sour-orange seed oil, Extraction method, Fatty acid profile, Extraction yield, Ultrasound

*Corresponding Author E-Mail Address: golmakani@shirazu.ac.ir