



تأثیر شرایط استخراج به کمک فراصوت بر راندمان استخراج و میزان ترکیبات فنولی و توکوفرول روغن

سویا

وحیده گواهیان<sup>1</sup>، رضا اسماعیل زاده کناری<sup>2\*</sup>، زینب رفتنی امیری<sup>2</sup>

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

2- استاد گروه صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: 1398 /02/17

تاریخ پذیرش: 1398/03/12

کلمات کلیدی:

پروب فراصوت،

ترکیبات فنلی،

توکوفرول،

حمام فراصوت.

دانه سویا یکی از منابع مهم روغن های گیاهی است که در مقیاس تجاری تولید میشود و منبع ترکیباتی نظیر ایزوفلاون ها و ترکیبات فنولی است. در این پژوهش تأثیر دو روش استخراج با حمام و پروب فراصوت در دو شدت (50% و 75%) بر میزان استخراج ترکیب های فنولی، آلفا توکوفرول و راندمان استخراج روغن از دانه سویا با استفاده از سه حلال مختلف (هگزان، ایزوپروپانول، و مخلوط حلال های ایزوپروپانول و هگزان (1:1) در چهار زمان مختلف (30، 60، 90 و 120 دقیقه) بررسی شد. نتایج نشان داد، در روش استخراج به کمک پروب فراصوت، بالاترین راندمان استخراج روغن در شدت 50% و زمان 120 دقیقه با استفاده از حلال هگزان (8/41%) به دست آمد. بالاترین میزان ترکیبات فنولی (1/57 g GAE /kg soyben oil) و توکوفرول (g α-TocoPherol/kg soyben oil) نیز از پروب فراصوت با شدت 50% با استفاده از حلال ایزوپروپانول در زمان 120 دقیقه بدست آمد. در روش استخراج به کمک حمام فراصوت، بالاترین راندمان استخراج روغن (10/76%) مربوط به زمان 30 دقیقه و مخلوط حلال های ایزوپروپانول: هگزان (نسبت 1:1) بود. در روش استخراج به کمک حمام فراصوت، بالاترین راندمان استخراج روغن (10/76%) مربوط به زمان 30 دقیقه و مخلوط حلال های ایزوپروپانول: هگزان (نسبت 1:1) بود. بالاترین میزان فنل (1/48 g GAE /kg soyben oil) مربوط به حلال ایزوپروپانول در زمان 90 دقیقه بود. بالاترین میزان آلفا توکوفرول (g α-TocoPherol/kg soyben oil) در زمان 120 دقیقه با استفاده از مخلوط حلال های ایزوپروپانول: هگزان (1:1) مشاهده شد. در تمامی روش ها حلال ایزوپروپانول بهترین حلال برای استخراج فنل بود. نتایج این تحقیق نشان داد که استخراج به کمک پروب و حمام فراصوت تأثیر متفاوتی در میزان استخراج روغن و ترکیبات زیست فعال دانه سویا داشت. در هر روش استخراج، میزان استخراج این ترکیبات بسته به نوع حلال و روش استخراج متفاوت بود.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.205

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.1.2

\* مسئول مکاتبات:

reza\_kenari@yahoo.com

## 1- مقدمه

ترکیبات فنولی به فنول‌های ساده، اسیدهای فنولی، مشتقات هیدروکسی سینامیک و فلاونونئیدها طبقه بندی می‌شوند. این ترکیبات دارای خصوصیات آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشند [1]. آنتی‌اکسیدان‌ها از فرآیند اکسیداسیون پیشگیری کرده و از این جهت بر سلامت انسان می‌گذارند. علاوه بر این، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی معمولاً به منظور جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدها، در برخی محصولات به عنوان افزودنی اضافه شده که سبب بهبود ماندگاری نیز می‌شوند [2]. یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی دیگر توکوفرول است که در حد وسیعی در مواد غذایی بخصوص روغن‌های گیاهی وجود دارد. این ترکیبات به صورت ایزومرهای مختلفی با نام‌های  $\alpha$ ،  $\beta$ ،  $\gamma$  و  $\delta$  توکوفرول در طبیعت یافت می‌شوند که در مجموع با عنوان ویتامین E شناخته می‌شوند. توانایی توکوفرول در جذب رادیکال‌های آزاد اسیدچرب و خواص سلامت‌بخش این ترکیب بسیار بالاست که منجر شده نظر محققان زیادی به این ماده معطوف گردد [3]. توکوفرول‌ها به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین نقش ویتامینی که دارند ترکیباتی مهم و حائز اهمیت در صنعت غذا خصوصاً روغن‌های خوراکی هستند. نقش این ترکیبات علاوه بر پایداری روغن، مهار رادیکال‌های آزاد است [4]. استخراج یکی از مراحل اصلی بازیابی این ترکیبات است که این فرآیند بر اساس استفاده از یک حلال مناسب برای حذف این ترکیبات از داخل بافت‌های گیاهی می‌باشد [5]. در فرآیند استخراج عواملی نظیر روش استخراج، نوع حلال و زمان استخراج حائز اهمیت می‌باشند [6]. به علاوه، استخراج مولکول‌ها از مواد گیاهی توسط روش‌های معمول به‌عنوان مثال غرقابی، نیاز به صرف زمان طولانی و مقدار حلال زیادی دارد. بنابراین نیاز به روش‌های استخراج جدید با زمان استخراج کوتاه‌تر، مصرف حلال و آلودگی کمتر، افزایش یافته است.

استخراج به کمک فراصوت از جمله روش‌های سریع و موثر جهت استخراج ترکیبات چربی دوست و موثره از بافت گیاهی است [7]. اثرات مکانیکی امواج فراصوت و پدیده کاویتاسیون ایجاد شده در اثر این امواج، سبب افزایش نفوذپذیری حلال به داخل سلول‌های گیاهی، افزایش انتقال جرم و به دنبال آن افزایش بازدهی استخراج در ماه‌های پایین‌تر می‌شود [8]. اولتراسوند دارای دو سیستم پروب و حمام است که این دو سیستم در برخی

ویژگی‌ها با هم تفاوت دارند. در سیستم پروب فراصوت، نمونه به طور مداوم در تماس با پروب قرار گرفته و قابلیت تکرارپذیری کمی دارد. همچنین خطر آلودگی نمونه و تولید کف بیشتر است در حالیکه در سیستم حمام فراصوت می‌توان طیف وسیعی از نمونه‌ها به طور همزمان صوت دهی شود و قابلیت تکرار پذیری بالاتر می‌باشد [9]. کلودوئو و حباب (2013) گزارش کردند با استفاده از تیمار اولتراسوند، میزان استخراج روغن زیتون افزایش و زمان خمیر سازی کاهش یافت [10]. ویناتورو و همکاران در سال 1997 گزارش کردند استفاده از تیمار اولتراسوند در مقایسه با روش سوکسله، میزان ترکیبات چربی دوست استخراج شده از گیاهانی مانند رازیانه را افزایش و زمان استخراج را کاهش داد [11].

دانه سویا یکی از منابع روغن‌های گیاهی است که یک محصول کشاورزی مهم در جهان به شمار می‌رود. سویا حدود 20% روغن دارد و منبع ترکیباتی نظیر ایزوفلاون‌هاست. روغن سویا جزو روغن‌های ارزان است و در مقیاس تجاری تولید می‌شود. بر اساس مطالعات انجام شده استفاده از اولتراسوند با شدت بالا می‌تواند راندمان استخراج روغن از سویا را بهبود بخشد و از طرفی با مصرف کمتر حلال مشکلات مربوط به محیط زیست را تا حد زیادی کاهش دهد. هدف از انجام این مطالعه، مقایسه دو روش استخراج به کمک پروب فراصوت و حمام فراصوت بر راندمان استخراج روغن و میزان ترکیبات فنولی و آلفا توکوفرول روغن سویا و بررسی اثر نوع حلال مورد استفاده و زمان‌های مختلف استخراج در هر دو روش استخراج به کمک فراصوت بر ترکیبات نام‌برده بود.

## 2- مواد و روش‌ها

### 2-1- مواد

دانه سویا خام از کارخانه پرتودانه خزر تهیه و برای حذف هرگونه مواد خارجی مانند سنگ‌های کوچک، شن و برگ‌های گیاهی که ممکن است پس از برداشت، حمل و نقل و ذخیره‌سازی وجود داشته باشد، تمیز شد. مقدار رطوبت سویا تا رطوبت نهایی 10 درصد تنظیم گردید و در کیسه‌های پلاستیکی ضد هوا بسته‌بندی و تا زمان انجام آزمایش در دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [12]. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده دارای خلوص بالایی بوده و از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

**2-2- استخراج به کمک پروب فراصوت**

100 گرم از پودر دانه‌های سویا با 150 میلی لیتر حلال (از هگزان، ایزوپروپانول و مخلوط 1:1 هگزان: ایزوپروپانول) در یک ارلن شیشه‌ای 600 میلی لیتر مخلوط و برای 30، 60، 90 و 120 دقیقه با استفاده از یک پروب فراصوت (مدل KS-250F) با قدرت 250 W فرکانس 20 کیلوهرتز در دمای 45 درجه سانتی-گراد سونیکاسیون شد. شدت اولتراسونیک 50 درصد و 75 درصد بود. پس از دو مرحله صاف کردن (قبل و بعد از سانتریفوژ با دور 4000 rpm، 15 دقیقه) در دمای 45 درجه سانتی‌گراد به وسیله تبخیرکننده چرخشی تحت خلا، حلال از آن جدا شد [12].

**2-3- استخراج به کمک حمام فراصوت**

100 گرم از پودر دانه‌های سویا با 150 میلی لیتر حلال (از هگزان، ایزوپروپانول و مخلوط 1:1 هگزان: ایزوپروپانول) در یک ارلن شیشه‌ای 600 میلی لیتر مخلوط و برای 30، 60، 90 و 120 دقیقه با استفاده از یک حمام فراصوت (Elmasonic S 30 H, Germany) در دمای 45 درجه سانتی‌گراد در فرکانس 20 کیلوهرتز سونیکاسیون شد. پس از دو مرحله صاف کردن (قبل و بعد از سانتریفوژ با دور 4000 rpm، 15 دقیقه) در دمای 45 درجه سانتی‌گراد به وسیله تبخیر کننده چرخشی تحت خلا، حلال از آن جدا شد. روغن به دست آمده تا زمان استفاده در ظروف غیرقابل نفوذ به هوا و رطوبت در فریزر با دمای 18- نگهداری شد [13].

**2-4- اندازه گیری میزان کل ترکیبات فنولی**

مقدار کل ترکیبات فنولی به روش فولین سیوکالچو اندازه گیری شد. به طور خلاصه به 2/5 گرم نمونه روغن 2/5 میلی لیتر هگزان و 2/5 میلی لیتر محلول متانول:آب (20:80) اضافه گردید. سپس به مدت 5 دقیقه با سرعت 5000 دور در دقیقه سانتریفوژ شد. فاز روغنی رویی خارج گردید، فاز آبی نیز به صورت جداگانه نگهداری شد. این عمل را سه بار انجام داد، سپس به فازهای آبی 2/5 میلی لیتر معرف فولین سیوکالچو اضافه گردید. در ادامه پنج میلی لیتر کربنات سدیم 7/5 درصد به فاز آبی اضافه و با آب مقطر به حجم 50 میلی لیتر رسانده شد. نمونه در طول شب نگهداری و سپس جذب آن در طول موج 765 نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های 0/05 تا

0/4 میلی گرم بر میلی لیتر اسیدگالیک استفاده و جذب آن در طول موج 765 نانومتر خوانده شد. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره بر حسب معادل اسید گالیک و با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد ( $Y=0/8058 * X + 0/0471$ ) مقدار ترکیبات فنولی بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و  $Y$  جذب خوانده شده در طول موج 765 نانومتر است) محاسبه و نتایج بر حسب گرم اسیدگالیک در کیلوگرم روغن بیان شد [14].

**2-5- اندازه گیری آلفا توکوفرول**

200 میلی‌گرم نمونه روغن داخل بالن ژوژه 10 میلی‌لیتری وزن شد. 5 میلی لیتر تولوئن به نمونه اضافه و به خوبی مخلوط شد. سپس 3/5 میلی لیتر محلول ۲،۲-بی‌پیریدین (0/07 درصد وزنی-حجمی در اتانول آبی 95 درصد) و 0/5 میلی‌لیتر کلرید آهن III شش آبه (0/2 درصد وزنی-حجمی در اتانول آبی 95 درصد) اضافه و مخلوط گردید. سرانجام حجم محلول‌های استاندارد با اتانول آبی 95 درصد به حجم 10 میلی لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت 1 دقیقه در حالت سکون قرار گرفت و جذب آن در 520 نانومتر خوانده شد. مقدار ترکیبات توکوفرولی بر اساس گرم توکوفرول در کیلوگرم روغن محاسبه گردید [15].

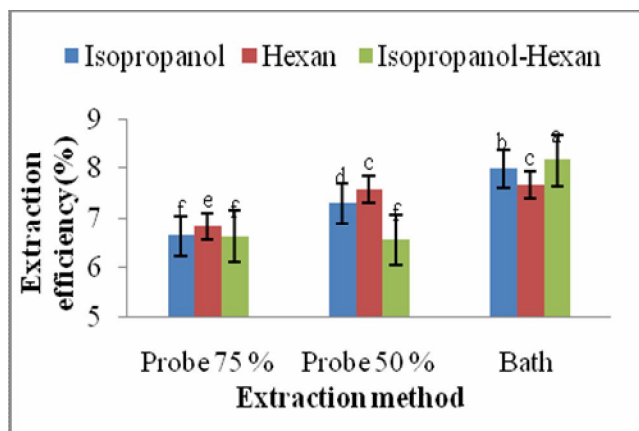
**2-6- تجزیه و تحلیل آماری**

در روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل، آلفا توکوفرول، میزان راندمان استخراج، مقایسه میانگین‌های به دست آمده از سه تکرار با آزمون دانکن ( $P < 0/05$ ) بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی گرفت. نرم افزار مورد استفاده برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها SPSS نسخه 20 بود.

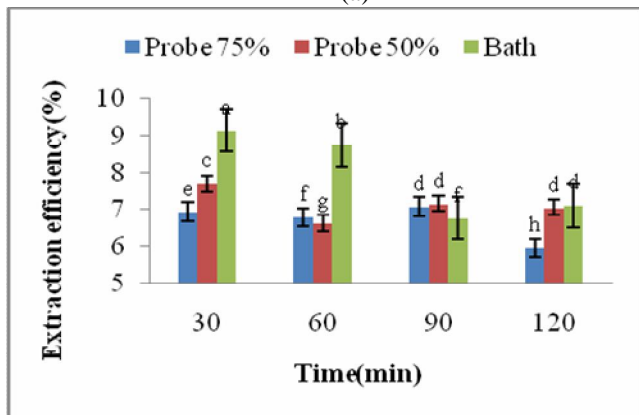
**3- نتایج و بحث****3-1 راندمان استخراج**

نتایج حاصل از اثر ترکیبی نوع روش استخراج و نوع حلال بر راندمان استخراج در شکل 1-a نشان داده شده است. نتایج نشان داد راندمان استخراج وابسته به میزان تمایل مولکول‌ها به حلال می‌باشد. راندمان استخراج در نمونه‌ای که با استفاده از سیستم حمام فراصوت و مخلوط حلال‌های ایزوپروپانول: هگزان (نسبت 1:1) به دست آمد، به صورت معنی داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بود ( $p < 0.05$ )، که با نتایج گزارش شده از مطالعه لی و

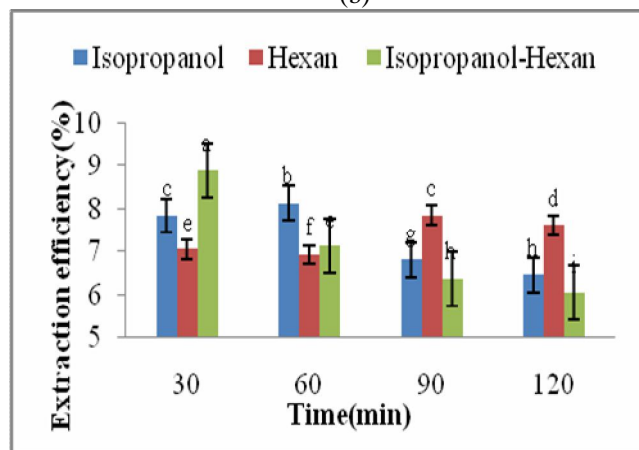
حلال ترکیبی ایزوپروپانول: هگزان (1:1) و زمان 30 دقیقه راندمان استخراج 8/89% بود که به صورت معنی داری بیشتر از دیگر نمونه‌ها بود ( $p < 0.05$ ).



(a)



(b)



(c)

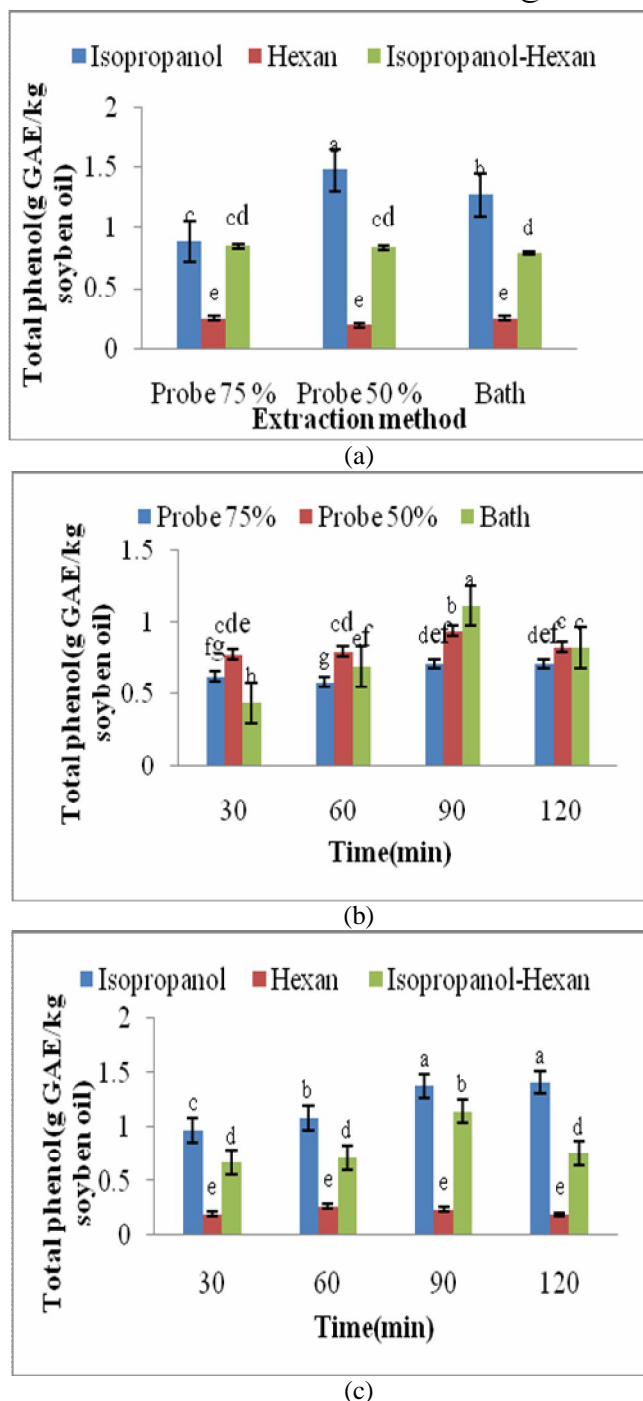
**Fig 1** Interaction effect of type of extraction method×solvent (a), extraction method×time (b), time×solvent on extraction efficiency. Different letters indicated significant statistical different between soybean oil samples

همکاران (2004) و هارا و رادین (1978) مطابقت داشت [12]. به طور کلی کمترین راندمان استخراج مربوط به نمونه‌های استحصالی از سیستم پروب فراصوت با شدت 75% بود. در سیستم ترکیبی حمام فراصوت - مخلوط حلال‌های ایزوپروپانول: هگزان (نسبت 1:1)، راندمان استخراج 8/15% بود. وو و همکاران (2001) گزارش کردند که بازده استخراج با استفاده از سیستم حمام فراصوت نسبت به سایر سیستم‌های استخراج (استخراج با اولتراسوند پروب و روش معمولی) بیشتر بود [16]، که این نتایج مربوط به همزدن در این سیستم نسبت به سایر سیستم‌ها بود. علاوه بر نوع روش استخراج، نوع حلال مورد استفاده نیز بر بازده استخراج موثر است. کاویتاسیون در فاز پیوسته مایع به شدت تحت تأثیر خواص فیزیکی مانند فشار بخار و کشش سطحی می‌باشد. وقتی فشار بخار و کشش سطحی زیاد شود شدت کاویتاسیون کاهش می‌یابد [17]. در حالیکه کشش سطحی دو حلال تفاوت معنی داری ندارد ولی فشار بخار هگزان در حدود پنج بار بیشتر از ایزوپروپانول است. میل ترکیبی روغن با حلال ترکیبی بیشتر از هگزان یا ایزوپروپانول است [18]. در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد که اضافه کردن حلال‌های قطبی (ایزوپروپانول) به حلال‌های غیرقطبی (هگزان) موجب بالا رفتن درصد بازیابی چربی‌های قطبی مانند فسفولپیدها و لیپوپروتئین‌ها و در نتیجه چربی کل می‌شود [19]. در شکل 1-b نتایج به دست آمده از اثر ترکیبی زمان و نوع روش استخراج نشان داده شده است. بر اساس این نتایج، راندمان استخراج در نمونه‌ای که با استفاده از سیستم حمام فراصوت و زمان 30 دقیقه به دست آمد، 9/13% بود که به صورت معنی داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بود ( $p < 0.05$ ). به طور کلی بیشترین راندمان استخراج مربوط به نمونه‌های استحصالی از سیستم حمام فراصوت و زمان‌های استخراج کوتاه‌تر بود. با افزایش زمان و شدت اولتراسوند بازده استخراج کاهش یافت به طوری که در نمونه‌ای که با استفاده از سیستم پروب فراصوت با شدت 75% و زمان 120 دقیقه به دست آمد، راندمان استخراج 5/95% بود که به صورت معنی داری کمتر از سایر نمونه‌ها بود ( $p < 0.05$ ). در شکل 1-c نتایج حاصل از اثر ترکیبی زمان استخراج و نوع حلال نشان داده شده است. به طور کلی بیشترین راندمان استخراج مربوط به نمونه‌های استحصالی در زمان‌های استخراج کوتاه‌تر بود. در نمونه تولیدی با استفاده از

فنلی عامل تاثیر گذاری بود. مطالعات استخراج ما نشان داد که بهبود استخراج تا زمان 90 دقیقه افزایش یافت.

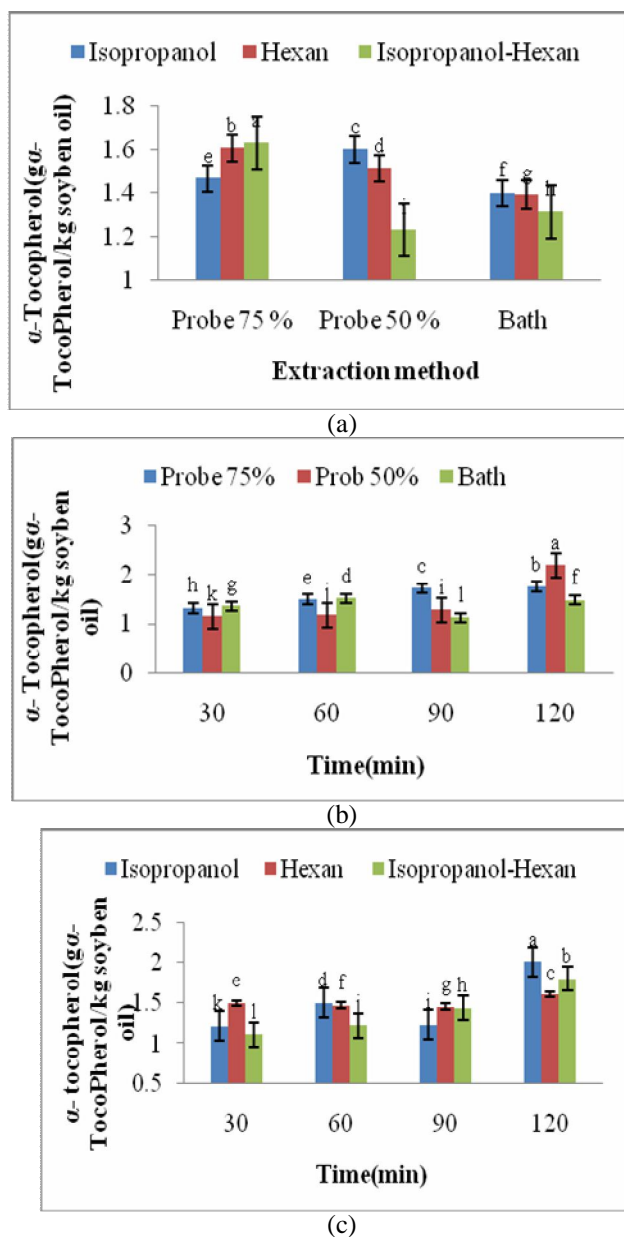
### 2-3 فنول کل

نتایج به دست آمده از اثر ترکیبی نوع روش استخراج و نوع حلال (شکل a- 2) نشان داد میزان ترکیبات فنلی در نمونه‌ای که با استفاده از سیستم پروب فراصوت با شدت 50% برای حلال ایزوپروپانول به دست آمد، به صورت معنی داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بود ( $p < 0.05$ ). در سیستم ترکیبی پروب فراصوت با شدت 50% ایزوپروپانول، میزان ترکیبات فنلی  $1.11 \text{ g GAE/kg}$  soyben oil بود. به طور کلی بیشترین و کمترین میزان ترکیبات فنلی به ترتیب مربوط به نمونه‌هایی بود که با حلال ایزوپروپانول و حلال هگزان استخراج شده بودند. لانژ و ها ثا (2017) در مطالعه‌ای که بر روی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی سیب‌زمینی قرمز (*Solanum tuberosum* L) انجام دادند، بیان کردند با افزایش دامنه سونیکاسیون از 30 به 70٪ میزان بازده استخراج این ترکیبات کاهش یافت [20] که هم راستا با نتایج ما است که میزان ترکیبات فنلی در نمونه‌هایی که با استفاده از پروب فراصوت با شدت 50% استخراج شده بودند نسبت به پروب فراصوت با شدت 75% بیشتر بود. که احتمالاً به دلیل اکسیداسیون این مواد در شدت‌های بالاتر اولتراسوند می‌باشد. در ارتباط با نوع حلال، حلال‌های غیر قطبی مثل هگزان پایین‌ترین میزان ترکیبات فنلی و حلال‌های قطبی مانند آب، اتانول و ایزوپروپانول میزان ترکیبات فنلی بالایی را استخراج می‌نمایند [21]. نتایج به دست آمده از اثر ترکیبی نوع روش استخراج و زمان استخراج در شکل b- 2 نشان داده شده است. طبق نتایج به دست آمده، میزان ترکیبات فنلی در نمونه‌ای که با استفاده از سیستم حمام فراصوت و زمان 90 دقیقه به دست آمد، به صورت معنی داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بود ( $p < 0.05$ ). به طور کلی بیشترین میزان ترکیبات فنلی مربوط به نمونه‌هایی بود که در زمان 90 دقیقه استخراج شده بودند. در سیستم ترکیبی حمام فراصوت - زمان 90 دقیقه، میزان ترکیبات فنلی  $1.11 \text{ g GAE/kg}$  soyben oil بود. کمترین میزان این ترکیبات مربوط به نمونه‌های استحصالی در زمان 30 دقیقه بود. همانطور که قبلاً توسط وانگ و همکاران (2008) در مورد مواد سبوس گندم گزارش شده است، زمان صوت‌دهی در استخراج ترکیبات



**Fig 2** Interaction effect of type of extraction method×solvent (a), extraction method×time (b), time×solvent on total phenol. Different letters indicated significant statistical different between soybean oil samples





**Fig 3** Interaction effect of type of extraction method  $\times$  solvent (a), extraction method  $\times$  time (b), time  $\times$  solvent on alpha tocopherol. Different letters indicated significant statistical different between soybean oil samples

دامنه فراصوت اولتراسوند میتواند موجب آسیب بیشتر دیواره‌های سلولی شود و آنتی اکسیدان‌های بیشتری را به حلال منتقل کند [24]. نتایج به دست آمده از اثر ترکیبی نوع روش استخراج و زمان استخراج در شکل 3-b نشان داده شده است. بیشترین کمترین میزان آلفاتوکوفرول به ترتیب مربوط به نمونه‌هایی بود که در زمان 120 دقیقه و 30 دقیقه استخراج شده بودند. در نمونه‌ی روغن به دست آمده با استفاده از سیستم پروب فراصوت با

علت افزایش میزان استخراج این ترکیبات با افزایش زمان فراصوت را می‌توان به پدیده کاویتاسیون نسبت داد که در واقع در اثر انتشار امواج صوتی در فاز جامد-مایع، چرخه‌های انقباض و انبساطی در محیط ایجاد می‌شود که باعث تشکیل حباب‌هایی شده که این حباب‌ها در ادامه رشد و در نهایت متلاشی می‌شوند. این عمل باعث نوسان ذرات جامد و مایع شده و تحت عمل فراصوت سرعت پیدا می‌کنند. در نتیجه مواد حل شونده سریعاً از فاز جامد به حلال انتشار پیدا می‌کنند. علاوه بر این، دیگر اثرها مانند امولسیفیکاسیون، انتشار و صدمه به بافت نیز به افزایش استخراج اجزای مورد نظر از مواد خام کمک می‌کند [22]. به طوری که در زمان‌های بالاتر ممکن است به دلیل وقوع اکسیداسیون (به علت قرار گرفتن در معرض امواج فراصوت) میزان استخراج کاهش یابد. در شکل 2-c نتایج به دست آمده از اثر ترکیبی نوع حلال و زمان استخراج نشان داده شده است. نتایج نشان داد، میزان ترکیبات فنلی در نمونه‌هایی که با استفاده از حلال ایزوپروپانول در زمان‌های 90 و 120 دقیقه به دست آمدند، به صورت معنی داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بودند ( $p < 0.05$ ). به طور کلی بیشترین میزان این ترکیبات مربوط به نمونه‌هایی بود که با حلال ایزوپروپانول استخراج شده بودند. در نمونه‌ی تولیدی با استفاده از حلال ایزوپروپانول در زمان 90 میزان ترکیبات فنلی  $1/37$  gGAE/kg soyben oil و در زمان 120 دقیقه  $1/41$  gGAE/kg soyben oil بود. کمترین میزان ترکیبات فنلی مربوط به نمونه‌های استحصالی با حلال هگزان بود.

### 3-3-آلفا توکوفرول

طبق نتایج حاصل از اثر ترکیبی نوع روش استخراج و نوع حلال (شکل 3-a)، نمونه‌ای که با استفاده از سیستم پروب فراصوت با شدت 75% برای مخلوط حلال‌های ایزوپروپانول: هگزان (نسبت 1:1) استخراج شده بود، میزان آلفا توکوفرول به صورت معنی داری ( $p < 0.05$ ) بیشتر از دیگر نمونه‌ها بود- $\alpha$  g (1/62 TocoPherol/kg soyben oil). بیشترین میزان آلفا توکوفرول مربوط به نمونه‌هایی بود که با استفاده از پروب فراصوت با شدت 75% به دست آمده بودند. که هم راستا با نتایج تحقیق حسین و همکاران (2012) بود که گزارش کردند بیشترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با استفاده از پروب فراصوت با شدت‌های بالاتر به دست آمد [23].

بیان کردند که بهترین نتیجه با افزایش زمان و دما حاصل گردید [23]. بر اساس نتایج حاصل از اثر ترکیبی زمان استخراج و نوع حلال (شکل 3-c)، میزان آلفا توکوفرول در نمونه‌ای که با استفاده از حلال ایزوپروپانول و زمان 120 دقیقه به دست آمد، به صورت معنی داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بود ( $p < 0.05$ ). در نمونه‌ی تولیدی با استفاده از حلال ایزوپروپانول در زمان 120 دقیقه، میزان آلفا توکوفرول  $g$  TocoPherol/kg soyben oil  $2\alpha$ - بود.

شدت 50% در زمان 120 دقیقه میزان آلفا توکوفرول  $\alpha$ -  $g$  Tocopherol/kg soyben oil 2/18 بود که به صورت معنی داری بیشتر از دیگر نمونه‌ها بود ( $p < 0.05$ ). افزایش زمان استخراج اجازه می‌دهد که ماده حل شونده مورد نظر در تماس با حلال برای مدت طولانی‌تری قرار گیرد و بازده استخراج افزایش یابد [25]. در همین راستا حسین و همکاران (2012) برای انتخاب بهینه ترین شرایط استخراج ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با استفاده از اولتراسوند پروب از گیاه مرزنگوش (*marjoram*)

**Table 1** Effect of different variable extraction condition on total phenolic content, alpha-tocopherol, extraction efficiency of different samples of soybean oil

Extraction condition		Total phenol (g GAE/kg soyben oil)	Total Tocopherol (g $\alpha$ -Tocopherol/kg soyben oil)	Extraction efficiency(%)
Probe (intensity 75%)	isopropanol	30 min	0.55 ± 0.22 <sup>defghi</sup>	6.98 ± 0.08 <sup>defghijkl</sup>
		60 min	0.58 ± 0.21 <sup>defgh</sup>	7.14 ± 0.24 <sup>defghijkl</sup>
		90 min	1.19 ± 0.09 <sup>ab</sup>	7.04 ± 0.19 <sup>defghijkl</sup>
		120 min	1.21 ± 0.24 <sup>ab</sup>	5.37 ± 0.24 <sup>kl</sup>
	Hexan	30 min	0.34 ± 0.14 <sup>ghij</sup>	5.50 ± 0.2 <sup>ijkl</sup>
		60 min	0.24 ± 0.18 <sup>hij</sup>	6.68 ± 0.18 <sup>efghijkl</sup>
		90 min	0.14 ± 0.11 <sup>j</sup>	7.89 ± 0.18 <sup>bcdefgh</sup>
		120 min	0.25 ± 0.08 <sup>hij</sup>	7.25 ± 0.08 <sup>defghijkl</sup>
	isopropanol_Hexan (1:1)	30 min	0.98 ± 0.18 <sup>bc</sup>	8.35 ± 0.19 <sup>bcdef</sup>
		60 min	0.92 ± 0.27 <sup>bcd</sup>	6.56 ± 0.04 <sup>efghijkl</sup>
		90 min	0.80 ± 0.14 <sup>cde</sup>	6.33 ± 0.16 <sup>fghijkl</sup>
		120 min	0.67 ± 0.21 <sup>cdefg</sup>	5.25 ± 0.21 <sup>l</sup>
isopropanol	30 min	1.45 ± 0.05 <sup>a</sup>	7.63 ± 0.17 <sup>defghij</sup>	
	60 min	1.41 ± 0.13 <sup>a</sup>	7.53 ± 0.14 <sup>defghij</sup>	
	90 min	1.46 ± 0.09 <sup>a</sup>	7.41 ± 0.15 <sup>defghijk</sup>	
	120 min	1.57 ± 0.12 <sup>a</sup>	6.58 ± 0.08 <sup>efghijkl</sup>	
Probe (intensity 50%)	Hexan	30 min	0.15 ± 0.07 <sup>l</sup>	7.89 ± 0.08 <sup>bcdefgh</sup>
		60 min	0.22 ± 0.1 <sup>hij</sup>	6.63 ± 0.24 <sup>efghijkl</sup>
		90 min	0.17 ± 0.13 <sup>ij</sup>	7.38 ± 0.13 <sup>defghijk</sup>
		120 min	0.20 ± 0.19 <sup>hij</sup>	8.41 ± 0.18 <sup>bcde</sup>
	Isopropanol_Hexan (1:1)	30 min	0.70 ± 0.16 <sup>cdefg</sup>	7.57 ± 0.23 <sup>defghij</sup>
		60 min	0.74 ± 0.18 <sup>cdef</sup>	5.75 ± 0.12 <sup>ijkl</sup>
		90 min	1.18 ± 0.15 <sup>ab</sup>	6.70 ± 0.16 <sup>efghijkl</sup>
		120 min	0.70 ± 0.08 <sup>cdefg</sup>	6.20 ± 0.22 <sup>ghijkl</sup>
	Isopropanol	30 min	0.89 ± 0.12 <sup>bcd</sup>	8.89 ± 0.13 <sup>bcd</sup>
		60 min	1.24 ± 0.16 <sup>ab</sup>	9.62 ± 0.08 <sup>ab</sup>
		90 min	1.48 ± 0.11 <sup>a</sup>	5.97 ± 0.09 <sup>hijkl</sup>
		120 min	1.45 ± 0.07 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.25 <sup>defghijk</sup>
Bath	Hexan	30 min	0.10 ± 0.18 <sup>l</sup>	7.74 ± 0.23 <sup>bcdefgh</sup>
		60 min	0.34 ± 0.21 <sup>ghij</sup>	7.46 ± 0.15 <sup>defghij</sup>
		90 min	0.40 ± 0.15 <sup>fghij</sup>	8.27 ± 0.19 <sup>bcdefg</sup>
		120 min	0.12 ± 0.17 <sup>j</sup>	7.18 ± 0.12 <sup>defghijkl</sup>
	Isopropanol_Hexan (1:1)	30 min	0.2 ± 0.11 <sup>hij</sup>	10.76 ± 0.14 <sup>a</sup>
		60 min	0.48 ± 0.1 <sup>efghij</sup>	9.07 ± 0.11 <sup>abc</sup>
		90 min	1.45 ± 0.14 <sup>a</sup>	6.07 ± 0.15 <sup>hi</sup>
		120 min	0.88 ± 0.18 <sup>bcd</sup>	6.71 ± 0.17 <sup>efghijkl</sup>

Different letters in each column indicate significant statistical different at  $P < 0.05$

به طور کلی با توجه نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین ها (جدول 1)، بالاترین مقدار روغن استحصالی مربوط به نمونه‌ای بود که با استفاده از سیستم حمام فراصوت و مخلوط حلال‌های ایزوپروپانول: هگزان (1:1) در زمان 30 دقیقه (10/76%) به دست آمد. میزان فنل در نمونه‌هایی که با استفاده از سیستم پروب فراصوت با شدت 50% و حلال ایزوپروپانول در زمان‌های 30، 60، 90 و 120 دقیقه و نمونه‌هایی که با استفاده از سیستم حمام فراصوت و حلال ایزوپروپانول در زمان‌های 90 و 120 دقیقه و نیز نمونه استحصالی از حمام فراصوت با استفاده از مخلوط حلال‌های ایزوپروپانول: هگزان (1:1) در زمان 90 دقیقه حاصل شدند، به صورت معنی داری بیشتر از سایر نمونه‌ها بودند ( $p < 0.05$ ). با توجه به تاثیر قطبیت حلال‌های مورد استفاده، نمونه‌هایی که با حلال ایزوپروپانول استخراج شده بودند بیشترین میزان فنل را دارا بودند که این را میتوان به قطبی بودن این حلال نسبت داد، به طوریکه هگزان که حلالی غیرقطبی است در استخراج ترکیبات فنلی موثر نبود [22]. در رابطه با نوع روش استخراج، همانطور که قبلا اشاره شد، با افزایش دامنه سونیکاسیون مقدار ترکیبات فنلی کاهش میابد که این را میتوان به تخریب این مواد در شدت‌های بالاتر نسبت داد [21]. در رابطه با میزان آلفاتوکوفرول، نمونه‌ای که با استفاده از سیستم پروب فراصوت با شدت 50% در زمان 120 دقیقه و با استفاده از حلال ایزوپروپانول به دست آمد، بیشترین میزان توکوفرول را دارا بود ( $p < 0.05$ ). به طور کلی بیشترین میزان آلفا توکوفرول مربوط به نمونه‌هایی بود که در زمان 120 دقیقه استخراج شده بودند.

ترکیبات می‌شوند. امواج فراصوت منجر به ایجاد نوسانات مکانیکی در یک مایع می‌گردند. تاثیر مکانیکی فراصوت باعث نفوذ حلال به درون مواد سلولی شده و انتقال جرم را بهبود می‌دهد. همچنین بازیافت پلی‌فنول‌ها از مواد گیاهی توسط قطبیت حلال مورد استفاده جهت فرآیند استخراج تحت تاثیر قرار می‌گیرد. نتایج این تحقیق نشان داد که استخراج به کمک پروب و حمام فراصوت تاثیر متفاوتی در میزان استخراج روغن و ترکیبات زیست فعال دانه سویا داشت. در هر روش استخراج، میزان استخراج ترکیبات زیست فعال بسته به نوع حلال متفاوت بود. در تمامی روش‌ها حلال ایزوپروپانول بهترین حلال برای استخراج فنل بود. در سیستم حمام فراصوت بالاترین راندمان استخراج روغن (10/76%) مربوط به زمان 30 دقیقه و مخلوط حلال‌های ایزوپروپانول- هگزان (نسبت 1:1) بود. بالاترین میزان ترکیبات فنلی توسط حلال ایزوپروپانول در زمان 90 دقیقه (g GAE/kg soyben oil) 1/48 به دست آمد. بالاترین میزان آلفا توکوفرول مربوط به مخلوط حلال‌های ایزوپروپانول: هگزان (1:1) در زمان 120 بود. در سیستم پروب فراصوت، پروب فراصوت با شدت 75% و زمان 90 دقیقه با استفاده از حلال هگزان (7/89%) و حلال هگزان (7/89%) بالاترین راندمان استخراج روغن را دارا بودند. بالاترین میزان ترکیبات فنلی (g GAE/kg soyben oil) 2/66 و توکوفرول (g  $\alpha$ -TocoPherol/kg soyben oil) 2/66 به ترتیب مربوط به پروب فراصوت با شدت 75% و 50% با استفاده از حلال ایزوپروپانول در زمان 120 دقیقه بود.

#### 4- نتیجه گیری

میزان روغن استخراجی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن استخراجی به میزان قابل توجهی تحت تاثیر ماهیت حلال، زمان استخراج و نوع روش استخراجی و تعامل این عوامل است. با این حال، قدرت استخراج حلال و نوع روش استخراج، مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و بازده روغن استخراجی هستند. روش‌های سنتی استخراج نظیر روش غرقابی و سوکسله نیاز به صرف زمان طولانی و مقدار حلال زیاد دارند همچنین از لحاظ دمایی ایمن نیستند و باعث تجزیه تعدادی از

#### 5- منابع

- [1] Serrano, J., Goñi, I. & Saura-Calixto, F. (2006). Food antioxidant capacity determined by chemical methods may underestimate the physiological antioxidant capacity. *Food Research International*, 40: 15–21.
- [2] Chang, C., Yang, M., Wen, H. & Chern, J. (2002). Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Food and Drug Analysis*, 10: 178-182.
- [3] Reyhaneh, Sh., Nayebezhadeh, K. & Alizadeh, L. (2013). Study Tocopherol Antioxidant



- seeds. *Journal of Ultrasonics Sonochemistry*, 14: 646–652.
- [14] Capannesi, Cecilia, et al. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71.4: 553-562.
- [15] Wong, M. L., R. E. Timms, and E. M. Goh. (1988). Colorimetric determination of total tocopherols in palm oil, olein and stearin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 65.2: 258.
- [16] Wu, J., Lidong. L & Foo-tim. Ch., (2001). Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrasonics sonochemistry* 8.4 (2001): 347-352.
- [17] More, N.S. & Gogate. P.R., (2018) . Ultrasound assisted enzymatic degumming of crude soybean oil, *J. Food Eng.* 218 33–43.
- [18] Li, T., Qua. X. Y., Zhang, Q. A. & Wang, Z. Z. (2012). Ultrasound-assisted extraction and profile characteristics of seed oil from *Isatis indigotica* Fort. *Industrial Crops and Products*, 35: 98–104.
- [19] Metherel, A. H., Taha, A. Y., Izadi, H. & Stark, K. D. (2009). The application of ultrasound energy to increase lipid extraction throughput of solid matrix samples (flaxseed). *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 81, 417–423.
- [20] Lanez, T. & Haoua, KB. (2017). The effect of soxhlet and ultrasonic-assisted extraction on antioxidant components and antioxidant properties of selected south Algerian red potatoes cultivars. *Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*, 18 (4), 435 – 448.
- [21] Khalili, Ma. & Ebrahimzadeh, MA., (2015) A review on antioxidants and some of their common evaluation methods. *J Mazandaran Univ Med Sci*; 24(120): 188-208 (Persian).
- [22] Yousuf, O., Gaibimeh, P. & Singh, A., (2018). Ultrasound Assisted Extraction of Oil from Soybean. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(7): 843-852.
- [23] Hossain, M. B., Brunton, N. P., Patras, A., Tiwari, B., O'Donnell, C. P., Martin-Diana, A. Effects Compared to TBHQ on Mayonnaise Oil Oxidation Process. *Iranian nutrition and food Technology*, 8(4): 135-144.
- [4] Demurin, Y., Shoric, D. & Karlovic, D. (1996) genetic variability of tocopherol composition in Improved oil Quality. *Plant breeding* 155, 33-36.
- [5] Durvic, s., Nikolic, B., Lukovic, N., Jovanovic, J., Stefanovic, A., Sekuljica, N., Mijin, D. & Jogovic, Z. K. (2018). The impact of high-power ultrasound and microwave on the phenolic acid profile and antioxidant activity of the extract from yellow soybean seed. *Industrial Crops & Products*, 122, 223–231.
- [6] Hayouni, A., Abedrabba, M., Bouix, M. & Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*, 105 (3): 1126–1134.
- [7] Wang, L. & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 300-312.
- [8] Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs, *Ultrasonics Sonochemistry*, 8: 303-313.
- [9] Luque-Garcia, J.L. & Luque de Castro, M.D. (2003). Where is microwave based analytical treatment for solid sample pretreatment going? *Trends Analays Chemistry*, 22: 90–99.
- [10] Clodoveo, M. L., & Hbaieb, R. H. (2013). Beyond the traditional virgin olive oil extraction systems: Searching innovative and sustainable plant engineering solutions. *Food research international*, 54(2), 1926-1933.
- [11] Vinatoru, M., Toma, M., Radu, O., Filip, P. I., Lazurca, D., & Mason, T. J. (1997). The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. *Ultrasonics Sonochemistry*, 4(2), 135–139.
- [12] Li, H., Pordesimo, L., Weiss, J. (2004). High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food Research International*, 37: 731–738.
- [13] Ivana T. Stanisavljevic., Lazic. M.L. & Veljkovic. V.B. (2007). Ultrasonic extraction of oil from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)

(*Origanum majorana* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) using response surface methodology. *Food Chemistry*, 126(1), 339–346.

[25] Ghafoor, K., Choi, Y. H., Jeon, J. Y., & Jo, I. H. (2009). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4988–4994.

B., & Barry-Ryan, C. (2012). Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), 582–590.

[24] Hossain, M. B., Barry-Ryan, C., Martin-Diana, A. B., & Brunton, N. P. (2011). Optimisation of accelerated solvent extraction of antioxidant compounds from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), marjoram



## The effect of ultrasound assisted extraction on extraction efficiency and the amount of phenol and tocopherol compounds of soybean oil

Govahian, V. <sup>1</sup>, Esmailzadeh kenari, R. <sup>2\*</sup>, Raftani Amiri, Z. <sup>2</sup>

1. MSC graduated of food science and technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources university.
2. Professor, Department of Food Science and technology, Sari , Sari Agricultural Sciences and Natural Resources university.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 2019/ 05/07 Accepted 2019/ 06/ 02</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b></p> <p>Bath ultrasound, Prob ultrasound, Phenolic compounds, Tocopherol.</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.22034/FSCT.19.126.205 <b>DOR:</b> 20.1001.1.20088787.1401.19.126.1.2</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: reza_kenari@yahoo.com</p>	<p>Soybean seeds are one of the major sources of vegetable oils produced on a commercial scale And the source of compounds such as isoflavones and phenolic compounds. In this study, the effect of two methods of ultrasound assisted extraction bath and probe ultrasound in two intensities (50%w, 75%w) by using three different types of solvents hexane, isopropanol and hexane:isopropanol composition and four levels of sonication time (30, 60, 90 and 120) on total phenolic compounds, alpha-tocopherol and extraction efficiency of soybean oil were investigated. The results showed that the highest oil extraction efficiency (8.41%) was obtained at 50% intensity of probe ultrasound at 120 min by using hexan solvent. The highest phenolic content (1.57 g GAE /kg soyben oil) and tocopherole (2.66 g <math>\alpha</math>-TocoPherol/kg soyben oil) were obtained at 50% intensity of probe ultrasound at 120 min by using isopropanol solvent. In bath ultrasound extraction method the highest extraction efficiency (10.76%) was related to 30 min time of sonication and isopropanol:hexane (1:1) solvent. The highest phenol (1.48 g GAE /kg soyben oil) and tocopherol (1.68 g <math>\alpha</math>-TocoPherol/kg soyben oil) were observed at 90 and 120 min of sonication, isopropanol and isopropanol:hexane solvent respectively. In all extraction methods the isopropanol solvent was the best solvent to extraction phenolic compounds. The results of this study showed that extraction by using bath and probe ultrasound had different effect on extraction oil and bioactive compounds of soybean. In each extraction method the amount of mentioned compounds was related to type of solvent and extraction method.</p>