

## استخراج لوتئین با استفاده از فناوری نانو (روش میکروامولسیون): تاثیر سورفاکتانت، کمک سورفاکتانت و پیش تیمار فراصوت

مهدی جلالی جوان<sup>۱</sup>، سلیمان عباسی<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی دکتری، آزمایشگاه کلونیدهای غذایی و رئولوژی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- استاد، آزمایشگاه کلونیدهای غذایی و رئولوژی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۸/۲۰)

### چکیده

در این پژوهش، توانایی فناوری نانو (روش میکروامولسیون) در استخراج لوتئین از پودر گل جعفری بررسی شد. بدین منظور، از دو گروه سورفاکتانت طبیعی (سایونین، لسیتین، سوکروزمونوپالمیتات و رامنولپید) و سنتزی (توئین ۲۰، توئین ۸۰، اسپن ۲۰ و سدیم دو دسیل سولفات) در نسبت‌های مختلف سورفاکتانت: لوتئین (۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰، ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰۰، ۱:۲۰۰۰ و ۱:۵۰۰۰) در ترکیب با کمک سورفاکتانت‌های گوناگون (گلیسرول، پروپیلن گلیکول، اتانول و ۱-پروپانول) در سطوح متفاوت سورفاکتانت: کمک سورفاکتانت (۱:۲، ۱:۱، ۲:۱، ۵:۱، ۱۰:۱، ۲۰:۱ و ۵۰:۱) بصورت جداگانه استفاده گردید. نتایج نشان داد که بدون استفاده از کمک سورفاکتانت، بهترین کارایی مابین ۵/۱۱-۱۳/۲۲٪ بود که در مقایسه با کارایی استخراج با استون (۱۵/۸۳ میلی‌گرم بر گرم) بسیار پایین می‌باشد هر چند که با استفاده از کمک سورفاکتانت‌های اشاره شده این کارایی پائین بصورت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) افزایش یافت بطوری‌که میکروامولسیون متشکل از توئین ۸۰: ۱- پروپانول (سورفاکتانت: کمک سورفاکتانت برابر ۱:۲) بالاترین کارایی استخراج را نشان داد (۳۹/۴۱٪). در ادامه این پژوهش، تاثیر مولفه‌های مختلف پیش تیمار فراصوت (دامنه ۲۵-۱۰۰٪، زمان ۳۰-۱۲۰ ثانیه، دمای محیط) بر کارایی استخراج میکروامولسیون طبیعی سوکروزمونوپالمیتات: ۱-پروپانول (۵:۱) بررسی گردید. نتایج نشان داد که هر دو مولفه تاثیر مستقیمی بر کارایی داشت بطوری‌که کارایی اولیه این فرمولاسیون (۲۵/۵۲٪ بدون پیش تیمار فراصوت) بعد از پیش تیمار فراصوت بهینه (۱۲۰ ثانیه با دامنه ۱۰۰٪) به بالاترین مقدار رسید (۷۱/۱۹٪). نتایج این مطالعه نشان داد که انتخاب درست ترکیب و نسبت بهینه اجزای میکروامولسیون (سورفاکتانت، کمک سورفاکتانت، آب و لوتئین) نقش بسزایی در افزایش کارایی استخراج دارد ضمن اینکه با بکارگیری پیش تیمار فراصوت می‌توان کارایی را بشکل خیلی موثری افزایش داد.

کلید واژگان: میکروامولسیون، لوتئین، سورفاکتانت، کمک سورفاکتانت، فراصوت.

\* مسئول مکاتبات: sabbasifood@modares.ac.ir

## ۱- مقدمه

امروزه با افزایش بیماری‌های قلبی-عروقی، انواع سرطان‌ها، بیماری‌های مرتبط با چشم و بیماری‌های پوستی از یک طرف و افزایش آگاهی افراد جامعه از ارتباط بین تغذیه و سلامتی از طرف دیگر، نوع بشر در محافظت از سلامتی و درمان این بیماری‌ها و نارسایی‌های سلامتی، بیش از پیش به استفاده از مواد غذایی، داروها و یا مکمل‌های بر پایه‌ی ترکیبات طبیعی استخراج شده از گیاهان دارویی روی آورده است. گل جعفری<sup>۱</sup> یکی از این گیاهان دارویی است که سرشار از ترکیبات کاروتنوئیدی می‌باشد که حدود ۹۰٪ آن لوتئین می‌باشد [۱]. لوتئین به‌عنوان یک کاروتنوئید گزانتوفیلی دارای اثرات غذا دارویی فراوانی از قبیل؛ خواص آنتی‌اکسیدانی، روبنده رادیکال‌های آزاد<sup>۲</sup>، خاموش کننده اکسیژن یگانه<sup>۳</sup> و نیز افزایش پاسخ ایمنی بدن می‌باشد [۲ و ۳]. علاوه بر اثرات سلامتی‌بخش اشاره شده، لوتئین به جهت حضور در مرکز بینایی چشم (موسوم به لکه زرد<sup>۴</sup>)، نقش مثبتی در پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با چشم از قبیل آب مروارید و بیماری تخریب لکه زرد مرتبط با سن<sup>۵</sup> دارد [۴ و ۵]. همچنین، لوتئین نقش مثبتی در پیشگیری از بیماری‌های قلبی، بعضی از انواع سرطان‌ها و بیماری‌های پوستی دارد [۲ و ۶]. از اینرو این رنگدانه بیش از پیش مورد توجه متخصصین غذایی و غذا دارویی در تولید محصولات غذایی، مکمل‌ها و غذا داروهای غنی شده قرار گرفته است.

بدن انسان قادر به سنتز لوتئین نبوده و دریافت آن از طریق رژیم-های غذایی یک ضرورت است [۷] هر چند که میزان دریافت آن از طریق منابع رایج غذایی نظیر زرده تخم مرغ، ذرت و اسفناج [۸، ۹ و ۱۰] از نظر تغذیه‌ای و داروشناختی<sup>۶</sup> کافی نمی‌باشد [۱۱] لذا استخراج آن به‌منظور تهیه‌ی مکمل‌ها و افزودنی‌های غذایی امری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد. در حال حاضر این رنگدانه مفید تماما از طریق حلال‌های آلی استخراج می‌شود این روش‌ها با وجود کارایی استخراج بالا، مشکلات و محدودیت‌های عدیده‌ای دارد که از آن جمله می‌توان به خطرات مصرف حلال باقی‌مانده در عصاره‌ی بدست آمده، مشکلات زیست‌محیطی پس‌ماندهای

حلال، نیاز به تجهیزات گران‌قیمت و اشتعال ناپذیر و همچنین انجام فرآیند استخراج در دمای بالا و مصرف بالای انرژی اشاره کرد. از اینرو، جهت جایگزینی این روش نیاز به استفاده از فناوری‌های جدید می‌باشد. با توجه به استخراج تقریباً موفق بعضی از ترکیبات آبدوست و آبگریز از قبیل آنزیم‌ها، پروتئین‌ها، پلی فنل‌ها، روغن کانولا و لیکوپن توسط فناوری میکروامولسیون [۱۲-۱۵]، این فناوری پتانسیل بالایی جهت استخراج و انحلال همزمان لوتئین را دارد

از اینرو در پژوهش فعلی به استخراج لوتئین توسط این فناوری با استفاده از سورفاکتانت‌های مختلف بصورت تکی و نیز در ترکیب با کمک سورفاکتانت‌های مختلف از گل جعفری به‌عنوان منبع اصلی این گزانتوفیل [۱۶] پرداخته شد سپس در ادامه تاثیر اعمال پیش تیمار فراصوت بر کارایی استخراج مورد مطالعه قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

## ۲-۱- آماده‌سازی پودر گل جعفری

نمونه‌های گل جعفری بعد از جداکردن گل‌ها از ساقه شستشو داده شده و با ۸ ساعت حرارت دهی ملایم در دمای ۴۵°C آون (UFE 500, Memmert, Germany) تا رطوبت نهایی ۸٪ خشک شد (Ma 35, Sartorius, Germany)، سپس با استفاده از آسیاب خانگی (Hamilton, FH-140, 230 W, China) کاملاً پودر و با استفاده از الک مش ۲۵ (ENDECOTTS, London, England) جداسازی و تا زمان استفاده در فریزر ۱۸- درجه نگهداری شدند.

## ۲-۲- استخراج لوتئین با فناوری میکروامولسیون

## و تعیین کارایی آن

جهت استخراج لوتئین با فناوری میکروامولسیون، از دو گروه سورفاکتانت‌های طبیعی (ساپونین، لسیتین، سوکروز مونوپالمیتات و رامنولپید) و سنتزی (توئین ۲۰، توئین ۸۰، اسپن ۲۰ و سدیم دو سولفات) بصورت تکی استفاده شد و کارایی استخراج نسبت‌های مختلف سورفاکتانت: لوتئین (۱:۱۰۰، ۱:۲۰۰، ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰۰، ۱:۲۰۰۰ و ۱:۵۰۰۰) برای هر یک از سورفاکتانت‌ها بصورت جداگانه بررسی گردید و نسبتی که بالاترین کارایی را داشت جهت مطالعه در ترکیب با کمک سورفاکتانت‌های گوناگون (گلیسرول، پروپیلن گلیکول، اتانول و ۱-پروپانول) در سطوح

1. Marigold Flower (*Tagetes erecta*)
2. Free Radical Quencher
3. Single Oxygen
4. Macula
5. Age Related Macular Degeneration (AMD)
6. Pharmacological

در اینجا  $Y$  کارایی استخراج میکروامولسیون (%)،  $X1$  غلظت لوتئین در پودر گل جعفری (mg/g)،  $X2$  غلظت لوتئین در پلت (mg/g) و  $X3$  غلظت لوتئین استخراج شده با میکروامولسیون (mg/g) می‌باشد.

در استخراج لوتئین با میکروامولسیون‌های حاوی کمک-سورفاکتانت نیز، ابتدا پودر اولیه در کمک‌سورفاکتانت خیسانده شده سپس بقیه اجزای میکروامولسیون اضافه گردید و بقیه مراحل استخراج و تعیین کمیت مشابه توضیحات ارایه شده در بالا انجام گرفت.

### ۳-۲- پیش‌تیمار فراصوت

بمنظور بررسی اثر فراصوت در کارایی استخراج، در این بخش نمونه‌ی میکروامولسیون بدست آمده از ترکیب سورفاکتانت طبیعی سوکروزمونوپالمیتات (SMP) با کمک‌سورفاکتانت ۱-پروپانول (۵:۱) قبل از استخراج به روش میکروامولسیون، با استفاده از دستگاه فراصوت با پروب تیتانیومی با قطر ۲۰mm در ۴ دامنه‌ی ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ در زمان‌های متفاوت (۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ ثانیه) تیمار شد. قابل ذکر است که در فراصوت‌دهی پروب دستگاه فراصوت به عمق ۲ سانتی متر در داخل نمونه قرار گرفت.

### ۴-۲- تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام گرفت و نتایج ارائه شده بصورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد سه تکرار (Mean $\pm$ SD) گزارش شد. جهت مقایسه‌ی میانگین‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اثر تیمارها در سطح اطمینان ۰/۰۵ ( $P < 0/05$ )، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و آنالیز واریانس (ANOVA) با استفاده از نرم-افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (IBM SPSS Statistics 21) استفاده شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- استخراج با میکروامولسیون

همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است بدون استفاده از کمک‌سورفاکتانت‌ها، بهترین کارایی میکروامولسیون‌های مورد مطالعه مابین ۵/۱۱ و ۱۳/۲۲٪ بود که به ترتیب مربوط به لسیترین و توئین ۸۰ بود. همچنین این میکروامولسیون‌ها در نسبت‌های سورفاکتانت: لوتئین متفاوت (۲۰۰:۱ الی ۲۰۰۰:۱) منجر به

متفاوت سورفاکتانت: کمک سورفاکتانت (۱:۲، ۱:۱، ۲:۱، ۵:۱، ۱۰:۱، ۲۰:۱ و ۵۰:۱) بصورت جداگانه استفاده گردید.

جهت فرمولاسیون میکروامولسیون، در فاکتورهای ۵۰ میلی‌لیتری، ابتدا مقادیر مختلف سورفاکتانت در ۴۰ میلی‌لیتر آب با استفاده از ورتکس بمدت ۳۰ ثانیه خوب همزنی شد تا کاملاً تک فاز شود سپس مقدار ۲۰ میلی‌گرم پودر گل جعفری اضافه شده و بمنظور خیس خوردن کامل این منبع لوتئین، برای ۳۰ ثانیه دیگر همزنی شد سپس، جهت انجام فرآیند استخراج با میکروامولسیون بمدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط با سرعت ۱۸۰ دور در دقیقه شیکر انکوباتور (RPn-250, Padideh Nojen Pars, Iran) همزنی شد. بعد از پایان مرحله استخراج، محتوای فاکتور در شتاب ۱۳۰۰۰g و دمای ۲۵°C بمدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد سپس فاز میکروامولسیون جدا گردید و از پلت باقی‌مانده جهت تعیین محتوای لوتئین، استخراج با استون با سه مرتبه تکرار (هر بار ۵ میلی‌لیتر استون و بمدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط با سرعت ۹۰ دور در دقیقه شیکر انکوباتور) انجام گردید. در پایان، فاز آلی بدست آمده از ۳ مرحله با هم ترکیب شده و جذب لوتئین آن با استفاده از اسپکتروفتومتر مرئی-فراابنفش در طول موج ۴۴۶ نانومتر قرائت شد و محتوای لوتئین آن ( $X2$ ) با استفاده از معادله‌ی ۱ تعیین گردید و نهایتاً میزان لوتئین استخراج شده با میکروامولسیون ( $X3$ )، از اختلاف محتوای لوتئین پودر اولیه گل جعفری ( $X1$ ) و محتوای لوتئین باقی‌مانده در پلت ( $X2$ ) بدست آمد و درصد استخراج لوتئین با روش میکروامولسیون (کارایی استخراج میکروامولسیون) از معادله‌ی ۲ به شرح زیر محاسبه گردید.

$$\text{معادله (۱): } C = (A/\epsilon) \times (1/b) \times 568.88 \times$$

$V / M \times 1L/10^3ml \times 10^3mg/g \times Kg/10^3g$   
در این معادله،  $C$  محتوای لوتئین نمونه (mg/g)،  $A$  میزان جذب نمونه در طول موج بیشینه لوتئین در حلال مربوطه،  $b$  طول مسیر نوری (cm)،  $568.88$  وزن مولی لوتئین (g/mol)،  $V$  حجم حلال مورد استفاده (ml) و  $M$  وزن نمونه مورد استخراج (Kg) می‌باشد. همچنین، ضریب خاموشی مولی لوتئین ( $\epsilon$ ) در استون معادل  $144500$  (l/mol cm) می‌باشد [۱۷].

معادله (۲):

$$Y(\%) = X3 * 100 / X1 = (X1 - X2) * 100 / X1$$

استخراج لوتئین با استون (با محتوای لوتئین ۱۵/۸۳ میلی گرم بر گرم) بسیار پائین می باشد از اینرو در ادامه جهت افزایش کارایی این سامانه ها تاثیر استفاده از کمک سورفاکتانت های مختلف مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲).

بالاترین کارایی خود شدند. نکته ی قابل توجه دیگر در این خصوص کارایی نسبی بالاتر میکروامولسیون های تهیه شده از سورفاکتانت های سنتزی نسبت به موارد مشابه طبیعی است. هر چند که کارایی تمامی این فرمولاسیون ها در مقایسه با کارایی

**Table 1** Comparison of the extraction efficiency of different microemulsions under optimized SOR (surfactant: lutein ratio)

Microemulsion type	SOR (%w/w)	Lutein extraction yield (%)
Saponin	200:1	7.25±0.34 <sup>c</sup>
Lecithin	200:1	5.15±0.23 <sup>g</sup>
Rhamnolipid	1000:1	6.20±0.16 <sup>f</sup>
Sucrose monopalmitate	200:1	8.11±0.09 <sup>d</sup>
Tween20	200:1	12.31±0.74 <sup>b</sup>
Tween80	2000:1	13.22±0.60 <sup>a</sup>
Span20	1000:1	10.20±0.43 <sup>c</sup>
Sodium dodecyl sulfate	200:1	10.40±0.52 <sup>c</sup>

قابل توجه دیگر در مورد نتایج ارائه شده در این جدول، تاثیرگذاری بیشتر کمک سورفاکتانت های ۱-پروپانول و اتانول در بهبود کارایی نسبت به گلیسرول و پروپیلن گلیکول می باشد و بجز در مورد میکروامولسیون های بر پایه ی رامنولپید و سدیم دودسیل سولفات که اتانول منجر به بالاترین کارایی شده، در بقیه موارد ۱- پروپانول کمک سورفاکتانت غالب در افزایش کارایی استخراج میکروامولسیون های مورد مطالعه بوده است.

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است با بکارگیری کمک سورفاکتانت ها، کارایی به شکل قابل توجهی افزایش یافت که کمترین میزان افزایش کارایی مربوط به میکروامولسیون تویین ۲۰: ۱-پروپانول (۱۶٪) و بیشترین مقدار آن مربوط به میکروامولسیون لسیتین: ۱- پروپانول بود (۳۹٪). همچنین، میکروامولسیون متشکل از تویین ۸۰: ۱- پروپانول در نسبت سورفاکتانت: کمک سورفاکتانت ۲: ۱ بالاترین کارایی استخراج را در بین میکروامولسیون های مطالعه شده دارد (۳۹/۴۱٪)، نکته ی

**Table 2** Comparison of the effect of various co-surfactants on lutein extraction yield (%) of different microemulsion (water 40 g, MPP 20 mg) under optimized SCR (surfactant: co-surfactant ratio)

Surfactant	Co-surfactant	SCR (%w/w)	Extraction yield (%)*	Yield increase (%)**
Lec	1-PrOH	2:1	25.36±0.76 <sup>f</sup>	396
Sap	1-PrOH	1:2	33.00±0.43 <sup>c</sup>	355
Rhl	EtOH	2:1	26.50±0.82 <sup>e</sup>	327
SMP	1-PrOH	1:5	25.52±0.24 <sup>ef</sup>	215
T20	1-PrOH	1:50	32.91±0.11 <sup>c</sup>	167
T80	1-PrOH	2:1	39.41±0.40 <sup>a</sup>	198
S20	1-PrOH	1:50	35.67±0.53 <sup>b</sup>	250
SDS	EtOH	1:2	29.54±0.79 <sup>d</sup>	184

Different small letters represent significant difference ( $p < 0.05$ ).

\*Efficiencies were reported in comparison to acetone extraction (15.83 mg/g)

\*\* Compared to results presented in Table 1

توانایی ها تاثیر بسزایی در تشکیل بهتر میکروامولسیون دارد. کمک سورفاکتانت های کوچک مولکول نسبت به انواع درشت مولکول بهتر می توانند در داخل ساختمان سورفاکتانت جای بگیرند و از این طریق به اصلاح شاخص تعادل آبدوستی-چربی-دوستی<sup>۱</sup> (HLB) کمک کنند [۱۸].

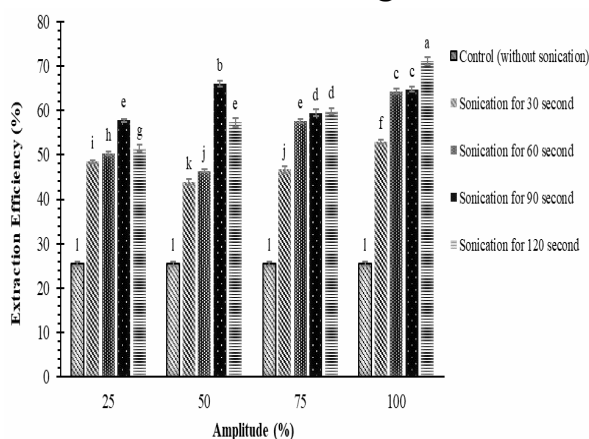
در جدول ۳ ویژگی های فیزیکوشیمیایی کمک سورفاکتانت های استفاده شده در این پژوهش خلاصه شده است. مهمترین تفاوت تاثیرگذار کمک سورفاکتانت های ۱-پروپانول و اتانول نسبت به گلیسرول و پروپیلن گلیکول در تشکیل بهتر میکروامولسیون و به تبع آن انجام استخراج، اندازه مولکولی نسبتا کوچک و نیز توانایی بالای این ترکیبات در پائین آوردن کشش سطحی است که این

1. Hydrophilic Lipophilic Balance (HLB)

**Table 3** Physico-chemical characteristics of various co-surfactants used for microemulsions construction

Characteristic	Co-surfactant			
	Ethanol	1-Propanol	Propylene glycol	Glycerol
Chemical formulas	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>
Molar mass (g/mol)	46.07	60.09	76.10	92.02
Interface tension (mN/m)	22.0	20.9	45.6	76.2
Number of OH	1	1	2	3
Viscosity (cp at 25 °C)	1.07	1.95	40.40	934.00
Boiling point (°C)	78.0	97.0	188.2	290.0

زایی<sup>۱</sup> می‌باشد که با افزایش دامنه و زمان فراصوت‌دهی این پدیده با شدت بالاتر و برای زمان طولانی‌تری اتفاق می‌افتد که منجر به تسهیل تخریب دیواره‌ی سلولی می‌شود [۲۱]. در نتیجه، دسترسی ترکیبات فعال سطحی (سورفاکتانت و کمک‌سورفاکتانت) به لوتئین واقع در داخل دیواره‌ی سلولی تسهیل شده و از اینرو سرعت انتقال جرم لوتئین به داخل نانومیس‌های میکروامولسیون و حلالیت آن افزایش می‌یابد که تمامی این عوامل منجر به افزایش کارایی استخراج لوتئین خواهد شد.

**Fig 1** Effect of sonication time–amplitude on lutein extraction efficiency of marigold petal powder based on SMP: 1-PrOH (1:5) microemulsion

#### ۴- نتیجه‌گیری کلی

نتایج این بررسی نشان داد که کارایی سامانه‌های میکروامولسیونی بدون استفاده از پیش تیمار فراصوت و کمک‌سورفاکتانت، در مقایسه با روش استخراج با استون بسیار پایین می‌باشد (کمتر از ۱۵٪) در صورتیکه استفاده از کمک‌سورفاکتانت‌ها به شکل موفقیت آمیزی این کارایی را تا حدود ۴۰٪ و اعمال پیش تیمار

همچنین یکی دیگر از پارامترهای موثر در تشکیل موثر میکروامولسیون پایدار، کاهش کشش سطحی در سطح مشترک دوفاز آبی و آلی است از اینرو کمک‌سورفاکتانت‌هایی که بتوانند در برآوردن این ویژگی کمک کنند در تشکیل میکروامولسیون و پایداری آن تاثیر بیشتری دارند [۱۹] و مطابق اطلاعات ارائه شده در جدول ۳، اتانول و بویژه ۱-پروپانول در مقایسه با پروپیلن گلیکول و گلیسرول در تامین این ویژگی موثرتر می‌باشند. هر چند که گرانبوی این کمک‌سورفاکتانت‌ها نیز نسبت به پروپیلن گلیکول و بویژه گلیسرول بسیار پایین است اما با توجه به مقادیر بسیار پائین مصرف این کمک‌سورفاکتانت‌ها در مقایسه با حجم نهایی میکروامولسیون، تاثیر چشم‌گیر این مولفه در افزایش کارایی این کمک‌سورفاکتانت‌ها دور از انتظار می‌باشد.

#### ۳-۲- پیش تیمار فراصوت

در مورد میکروامولسیون‌های غذایی مواردی همانند زهرآگینی، تحریک‌کنندگی و سازوکار مبهم عملکرد، استفاده از سورفاکتانت‌ها را محدود کرده است. در این موارد بایستی ترکیباتی انتخاب شوند که از نظر زهرآگینی و مسائل بالینی مشکلی نداشته و در حالت کلی سالم تشخیص داده شده و جزو فهرست مواد ایمن انگاشته (GRAS) باشند [۲۰]. از اینرو، در ادامه‌ی این مطالعه میکروامولسیون طبیعی متشکل از سوکروزمونوپالمیتات: ۱-پروپانول (۵:۱) جهت بررسی تاثیر مولفه‌های مختلف پیش تیمار فراصوت (دامنه ۲۵-۱۰۰٪، زمان ۳۰-۱۲۰ ثانیه، دمای محیط) انتخاب گردید. نتایج نشان داد که هر دو مولفه تاثیر مستقیمی بر کارایی داشت بطوری که کارایی اولیه این فرمولاسیون (۲۵/۵۲٪) بدون پیش تیمار فراصوت) بعد از پیش تیمار فراصوت بهینه (۱۲۰ ثانیه با دامنه‌ی ۱۰۰٪) به بالاترین مقدار رسید (۷۱/۱۹٪). دلیل این افزایش مکانیزم اصلی تاثیرگذاری فراصوت یعنی پدیده‌ی حفره-

- pharmaceutical and nutraceutical applications". *Journal of Dietary Supplements*, Vol. 9(3), PP. 183–210.
- [6] Krinsky, N. I. & Johnson, E. J. (2005). "Carotenoid actions and their relation to health and disease". *Molecular Aspects of Medicine*, Vol. 26, PP. 459–516.
- [7] Khalil, M., Raila, J., Ali, M., Islam, K. M. S., Schenk, R., Krause, J. P., Schweigert, F. J. & Rawel, H. (2012). "Stability and bioavailability of lutein ester supplements from Tagetes flower prepared under food processing conditions". *Journal of Functional Foods*, Vol. 4, PP. 602–610.
- [8] Simonovska, B., Vovka, I., Glavnika, V. & Cernelic, K. 2013. "Effects of extraction and high-performance liquid chromatographic conditions on the determination of lutein in spinach". *Journal of Chromatography A*, Vol. 1276, PP. 95–101.
- [9] De Oliveira, G. P. R. & Rodriguez-Amaya, D. B. (2007). "Processed and prepared corn products as sources of lutein and zeaxanthin: Compositional variation in the food chain". *Journal of Food Science*, Vol. 72, PP. 79–85.
- [10] Perry, A., Rasmussen, H. & Johnson, E. J. (2009). "Xanthophyll (lutein, zeaxanthin) content in fruits, vegetables and corn and egg products". *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 22, PP. 9–15.
- [11] Alvarez, M. V., Hincapie, S., Saavedra, N., Alzate, L. M., Munoz, A. M., Cartagena, C. J. & Londono-Londono, J. (2015). "Exploring feasible sources for lutein production: food by-products and supercritical fluid extraction, a reasonable combination". *Phytochemistry Reviews*, Vol. 14, PP. 891–897.
- [12] Abbasi, S. & Amiri-Rigi, A. (2017). "Microemulsions as nano-carriers for nutraceuticals: current trends and the future outlook". *EC Nutrition*, Vol. 12, No. 1, PP. 46–50.
- [13] Abbasi, S. & Scanlon, M. G. (2016). "Nano-structural characterization of food grade microemulsions: Ultrasonic resonator technology". In A. M. Grumezescu (Ed.), *Nanotechnology in food industry: Emulsions*, Vol. 3, PP. 443–478.
- [14] Amiri-Rigi, A. & Abbasi, S. (2016). "Microemulsion-based lycopene extraction: Effect of surfactants, co-surfactants and
- بهینه‌ی فراصوت بر میکرومولسیون حاوی کمک‌سورفاکتانت این کارایی را تا بالای ۷۰٪ روش استخراج با استون افزایش داد. به عبارت دیگر، بکارگیری پیش تیمار فراصوت و نیز انتخاب درست ترکیب و نسبت بهینه‌ی اجزای میکرومولسیون (سورفاکتانت، کمک‌سورفاکتانت، آب و لوتئین) نقش بسزایی در افزایش کارایی استخراج داشتند و با انتخاب درست این مولفه‌ها، روش استخراج فراصوت‌دهی میکرومولسیون از نظر کارایی تا حدودی قابل مقایسه با روش مرسوم (استخراج با حلال) می‌باشد. اما مزیت عمده دیگر در ارتباط با استفاده از این فناوری این است که لوتئین استخراج شده از حلالیت خوبی در محیط‌های آبی برخوردار بوده و به همان صورت می‌توان از میکرومولسیون حاوی لوتئین جهت غنی‌سازی فرآورده‌های غذایی و دارویی استفاده کرد.

#### ۵- منابع

- [1] Gong Y, Liu X, He WH, Xu, H. G., Yuan, F. & Gao, Y. X. (2012). "Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue". *Fitoterapia*, Vol. 83, No. 3, PP. 481–489.
- [2] Ciccone, M. M., Cortese, F., Gesualdo, M., Carbonara, S., Zito, A., Ricci, G., De Pascalis, F., Scicchitano, P. & Riccioni, G. (2013). "Dietary intake of carotenoids and their antioxidant and anti-inflammatory effects in cardiovascular care". *Mediators of Inflammation*, Vol. 2013, PP. 1–11.
- [3] Jaswir, I., Noviendri, D., Hasrini, R. F. & Octavianti, F. (2011). "Carotenoids: source, medicinal properties and their application in food and nutraceutical industry". *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 5, No. 33, PP. 7119–7131.
- [4] Lietz, G., Mulokozi, G., Henry, J. C. K. & Tomkins, A. M. (2006). "Xanthophyll and hydrocarbon carotenoid patterns differ in plasma and breast milk of women supplemented with red palm oil during pregnancy and lactation". *Journal of Nutrition*, Vol. 136, PP. 1821–1827.
- [5] Shegokar, R. & Mitri, K. (2012). "Carotenoid lutein: A promising candidate for

- system". *Current Drug Delivery*, Vol. 3, PP. 167–180.
- [19] Lv, F. F., Zheng, L. Q. & Tung, C. H. (2006). "Studies on the stability of the chloramphenicol in the microemulsion free alcohols". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. Vol. 62, PP. 288–294.
- [20] Sushama, T., Adnan, A., Farhan, J. A., Roop, K. K., Shadab, A. P. & Zeenat, I. K. (2008). "Microemulsions: A novel approach to enhanced drug delivery". *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, Vol. 2, PP. 238–257.
- [21] Sanchez, M. D. M., Mantell, C., Rodriguez, M., Martinez de la Ossa, E., Lubian, L.M. & Montero, O. (2009). "Comparison of supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Dunaliella salina*". *Talanta*, Vol. 77, PP. 948–952.
- pretreatments". *Food Chemistry*, Vol. 197, PP. 1002–1007.
- [15] Radi, M., Abbasi, S., Hamidi, Z. & Azizi, M. H. (2013). "Development of a new method for extraction of canola oil using lecithin based microemulsion systems". *Agro FOOD Industry Hi Tech*, Vol. 24, No. 5, PP. 70–72.
- [16] Gao, Y., Nagy, B., Liu, X., Simándi, B. & Wang, Q. (2009). "Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lutein esters from marigold (*Tagetes erecta* L.) enhanced by ultrasound". *Journal of Supercritical Fluids*, Vol. 49, PP. 345–350.
- [17] Craft, N. E. & Soares, J. H. Jr. (1992). "Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and  $\beta$ -carotene in organic solvents". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 40, PP. 431–434.
- [18] Ghosh, P. K. & Murthy, R. S. R. (2006). "Microemulsions: A potential drug delivery

## Lutein extraction using nanotechnology (microemulsion): effect of surfactant, co-surfactant and ultrasound pretreatment

Jalali Jivan, M.<sup>1</sup>, Abbasi, A.<sup>2\*</sup>

1. Ph.D Student, Food Colloids and Rheology Lab., Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

2. Professor, Food Colloids and Rheology Lab., Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

(Received: 2018/06/15 Accepted:2018/11/11)

In the present study, the ability of microemulsion technique (MET), as an environmentally friendly green nano-technology and potential alternative technique for the organic solvent extraction methods on lutein extraction from marigold petals, a major plant source containing 15.83mg/g (dry weight), was assessed. For this purpose, the capability of eight surfactants (Saponin, Lecithin, Rhamnolipid, Sucrose Monopalmitate, Span 20, Tween 20, Tween 80 and Sodium Dodecyl Sulfate) in combination with four co-surfactants (Ethanol, 1-propanol, Glycerol and Propylene Glycol) on extraction yield was investigated. The experimental results showed without co-surfactants and over SOR range of 200:1 to 2000:1 the extraction yield was 5.11–13.22% (in comparison with acetone). However, by using various co-surfactants, the extraction efficiency was significantly ( $p < 0.05$ ) increased. The highest yield was obtained using Tween 80: 1-propanol at SCR of 2:1 (39.41%). The next set of this study attempted to investigate pretreatment effects (*i.e.*, ultrasonication) on enhancement of extraction efficiency. For this purpose, the natural microemulsion composed of SMP:1-propanol (surfactant: co-surfactant ratio, SCR 1:5) was exposed to sonication for various times (30, 60, 90 and 120 seconds) at different amplitudes (25, 50, 75 and 100%). The results showed that by rising the sonication time and amplitude, the extraction efficiency was outstandingly (~200%) increased (e.g., from 25.52% to 71.19% when sonicated for 120 seconds at max amplitude). These findings revealed the outstanding success of sonication pretreatment as well as importance of type and precise composition of microemulsion ingredients (surfactant, co-surfactant, water and oil phase ratios) on its extraction capability and yield.

**Key words:** Microemulsion, Lutein, Surfactant, Co-Surfactant, Ultrasound.

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: sabbasifood@modares.ac.ir