

بهینه‌سازی شرایط استخراج روغن از دانه ریحان با روش فراصوت و مقایسه خصوصیات فیزیکوشیمیایی روغن با روش متداول استخراج با حلال

مریم جعفری^{۱،۲}، مریم ترابیان دهکردی^۳، عاطفه رضانی^۴

۱- نویسنده مسئول: استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
پست الکترونیک: jafari.iaushk@yahoo.com

۲- استادیار، مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۳- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۴- دانشجوی دکترا، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نجف آباد، دانشگاه آزاد اسلامی، نجف آباد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۶/۱۴

چکیده

سابقه و هدف: ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum* L، از خانواده نعنائیان و منبع غنی از اسیدهای چرب ضروری (ω۶ و ω۹) است. این پژوهش با هدف بهینه‌سازی استخراج روغن دانه ریحان با استفاده از هگزان و امواج فراصوت و مقایسه آن با روش متداول سوکسله انجام شده است.

مواد و روش‌ها: بهینه‌سازی استخراج روغن با استفاده از هگزان و فراصوت به روش سطح پاسخ تحت تأثیر دما (۳۵، ۴۵ و ۵۵ درجه سانتی‌گراد)، زمان (۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه) و نسبت حلال به دانه (۱:۱، ۱:۲ و ۱:۳) انجام گرفت. سپس خصوصیات روغن استخراج شده با روش فراصوت و سوکسله از نظر اندیس اسیدی، اندیس پراکسید، رنگ، درصد مهار رادیکال آزاد (DPPH)، ترکیبات فیتواسترولی و اسیدهای چرب مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها: بازده استخراج روغن با افزایش زمان فراصوت، دماهای بالاتر و استفاده از مقادیر بیش‌تر حلال افزایش یافت. دما و نسبت حلال به دانه بر میزان عدد پراکسید دارای اثر متقابل معنی‌دار بود و استخراج ترکیبات فنلی نیز با زمان و نسبت حلال به دانه ارتباط معنی‌دار ($p < 0.05$) نشان داد. روغن استخراج شده به روش فراصوت، عددپراکسید و اسیدی کم‌تر و قدرت مهار رادیکال آزاد بیشتری را نسبت به سوکسله نشان داد اما ترکیبات اسید چرب و فیتواسترولی تفاوت چندانی در این دو روش نداشتند.

نتیجه‌گیری: در تحقیق حاضر، شرایط بهینه برای استخراج روغن با کیفیت مناسب از دانه ریحان، دمای ۵۵°C، مدت زمان فراصوت ۹۰ دقیقه و نسبت حلال به دانه ۸/۸۶ به ۱ برآورد شد. استخراج با امواج فراصوت با کاهش زمان و دمای استخراج، روش مناسبی نسبت به سوکسله برای استخراج روغن با ارزش دانه ریحان بوده و کمترین تأثیر را بر خواص فیزیکوشیمیایی روغن و ترکیب اسیدهای چرب آن نشان داد.

واژگان کلیدی: استخراج، فراصوت، سوکسله، روغن دانه ریحان، سطح پاسخ

پیام‌های اصلی

- شرایط استخراج روغن از دانه‌های ریحان به کمک امواج فراصوت با روش سطح پاسخ بهینه‌سازی شد.
- خصوصیات روغن استخراج شده با روش فراصوت با روش متداول سوکسله مورد مقایسه قرار گرفت.
- عواملی همچون زمان فراصوت، دما و نسبت حلال به دانه بر بازده استخراج روغن، اندیس پراکسید و میزان استخراج ترکیبات فنلی تأثیر معنی‌دار نشان دادند.
- روغن استخراج شده با فراصوت پایداری اکسیداتیو بهتر، اسید چرب آزاد کمتر و قدرت مهار رادیکال آزاد بیشتری نسبت به روش سوکسله نشان داد.
- تفاوت قابل توجهی در ترکیب اسیدهای چرب و فیتواسترول‌ها در دو روش مشاهده نشد.

● مقدمه

به کمک فراصوت و استخراج توسط مایع فوق بحرانی از جمله این تکنیک‌ها می‌باشند. برای استخراج روغن و مواد مختلف از منابع گیاهی و در مقیاس صنعتی جهت کاربردهای داروسازی گیاهی از امواج فراصوت استفاده می‌شود (۸). امواج فراصوت امواج صوتی دارای بسامد بیشتر از بازه بسامد شنوایی انسان است و در مقایسه با سایر روش‌های استخراج، استفاده از فراصوت مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست می‌باشد (۹). امواج فراصوت در صنعت غذا به دو دسته تقسیم می‌شوند شامل امواج با فرکانس زیاد و توان کم (بالاتر از ۱۰۰ کیلو هرتز و شدت کمتر از ۱ وات بر سانتیمتر مربع) که باعث تغییر خواص فیزیکوشیمیایی مواد غذایی نشده و از طریق سنجش تأثیر متقابل بین طول موج و ماده، اطلاعاتی در مورد خواص ماده و حتی ساختار آن به دست می‌آید. دسته دوم امواج با فرکانس‌های کم و توان زیاد (محدوده ۱۰۰-۱۰۰۰ وات بر سانتی‌متر مربع و فرکانسی بین ۱۰۰-۱۸ کیلو هرتز) هستند که می‌توانند خواص مواد را تغییر داده و در تولید امولسیون‌ها، پخش کردن مواد تجمع یافته و تخریب سلول‌ها به کار می‌روند. استخراج به کمک امواج فراصوت مربوط به انتشار امواج فشاری فراصوت و پدیده کاویتاسیون است. انفجارهای داخلی حباب‌های کاویتاسیون، باعث تخریب دیواره سلولی و شکستن ذره در نتیجه افزایش انتقال جرم می‌شود (۵).

Faiznur و همکاران (۲۰۱۶) روغن بذر گیاه *Calophyllum Inophyllum* را با روش فراصوت استخراج کردند و دریافتند بازدهی استخراج روغن با افزایش دمای استخراج، قدرت فراصوت و نسبت حلال به ماده افزایش می‌یابد. مقدار بهینه دما ۴۰ درجه سانتی‌گراد، قدرت فراصوت ۲۱۰ وات و نسبت مایع به ماده ۲۰ به ۱ بود (۱۰). در مطالعه Garcia-Hernandez و همکاران (۲۰۱۷) تأثیر انواع حلال‌ها و نیز استفاده از امواج فراصوت و روش متداول سوکسله در میزان بازده استخراج روغن از ۹ نمونه تجاری دانه بزرک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نه تنها نوع حلال در بازده استخراج روغن تأثیر بسزایی می‌تواند داشته باشد بلکه استفاده از روش سوکسله در مقایسه با امواج فراصوت، منجر به استخراج میزان بیشتری از روغن از دانه‌ها گردید (۱۱). در تحقیق Pereira و همکاران (۲۰۱۷) نیز به بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی روغن استخراج شده از دانه میوه گل ساعتی با روش سیال زیر دمای بحرانی (Subcritical fluid extraction)، سوکسله و امواج

ریحان یک محصول مهم اقتصادی در سراسر جهان است که به عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای و همچنین به عنوان سبزی تازه استفاده می‌شود. این گیاه در مناطق گرمسیری جهان مانند آسیا، آفریقا و آمریکای مرکزی و جنوبی رشد می‌کند. ریحان در ایران و افغانستان به طور خودرو می‌روید ولی تولید فعلی در ایران صد در صد از کشت در مزارع به دست می‌آید (۱). ریحان با نام علمی (*Ocimum basilicum L.*) از خانواده نعنائیان به شمار می‌رود. تیره نعنائیان جز اولین و مهم‌ترین تیره گیاهان دارویی می‌باشند و در درمان بیماری‌هایی چون سردرد، سرفه، ناراحتی‌های قلبی و کلیوی و بزرگ شدن طحال مورد استفاده قرار می‌گیرد. از دانه‌ها برای غنی‌سازی نوشیدنی‌های میوه‌ای از نظر خواص عملکردی و نیز زیبایی ظاهری محصول استفاده می‌شود (۲). موسیلاژ دانه این گیاه در طب سنتی برای درمان سرفه و التهاب کلیه و مجاری ادراری به کار رفته و به علاوه از نظر خواص امولسیون‌کنندگی، ایجاد کف، ایجاد قوام و ویسکوزیته، و خصوصیات ژل‌کنندگی به طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته است (۳، ۴). بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه ریحان نشان داده است که این روغن منبع طبیعی برای اسیدهای لینولئیک و لینولنیک می‌باشد که می‌تواند در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربرد داشته باشد (۵، ۶). دانه ریحان به طور معمول به عنوان یک غذا استفاده نمی‌شود، علی‌رغم اینکه بررسی منابع نشان می‌دهد مصرف آن نه تنها به دلیل ارزش تغذیه‌ای آن، بلکه به دلیل مزایای سلامت بخش قابل توجه از جمله تأثیرات ضد دیابتی، ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی آن است (۷). استفاده از روش‌های مختلف برای استخراج روغن عمدتاً به ویژگی منبع روغنی، هزینه تولید، اثرات محیطی و ایمنی بستگی دارد. روش‌های قدیمی (مانند سوکسله و روش مکانیکی) استخراج روغن، نیاز به مصرف مقادیر بالای حلال و زمان طولانی دارند و بازده استخراج آن‌ها به خصوص در روش مکانیکی پایین است. امروزه توجه بسیاری به استفاده از روش‌های نوین در استخراج روغن شده است. در این روش‌ها سعی شده فرایند استخراج با سهولت و اثر بخشی بیشتر به گونه‌ای انجام شود که مصرف حلال، زمان و دمای استخراج کاهش یابد و در عین حال بازدهی فرایند افزایش یابد. این روش‌ها به روش‌های سبز مشهور هستند. استخراج آبی-آنزیمی، استخراج آنزیمی-آبی با استفاده از مایکروویو، استخراج آنزیمی

تبخیر کننده ی چرخان تحت خلا به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد، حلال از روغن جداسازی شد.

تعیین بازده استخراج روغن

ابتدا وزن دانه ریحان مصرف شده و وزن روغن حاصل از آن تعیین و با استفاده از معادله (۱) بازده استخراج به دست آمد.

معادله (۱)

$$R = \frac{Q}{x} \times 100$$

R: بازده استخراج روغن (درصد)، Q: مقدار روغن استخراج شده (گرم)، X: وزن دانه های اولیه (گرم).

تعیین محتوای پلی فنول

میزان فنول کل با روش فولین سیوکالتیو اندازه‌گیری شد (۱۴). برای این منظور ۲/۵ گرم از نمونه روغن با ۲/۵ میلی‌لیتر n-هگزان مخلوط شده و سپس سه مرتبه با ۲ میلی‌لیتر مخلوط متانول/آب (نسبت ۲۰ به ۸۰) استخراج شد. فاز متانولی با ۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم (۰.۷/۵٪) و ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو در یک بالن حجمی ۵۰ میلی‌لیتری مخلوط شده و به حجم رسانده شد. میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-2100) قرائت شد و بر اساس منحنی استاندارد گالیک اسید، میزان فنل کل محاسبه گردید.

اندازه‌گیری عدد پراکسید

عدد پراکسید مطابق با روش مصوب AOCS به شماره Cd 8b-90 تعیین شد (۱۵).

ارزیابی عدد اسیدی

به منظور بررسی عدد اسیدی روغن از روش مصوب AOCS به شماره Cd 3-63 استفاده شد (۱۵).

تعیین محتوای فیتواسترول

به منظور اندازه‌گیری استرول‌های گیاهی از روش Kyryk و همکاران (۲۰۱۶) استفاده شد. ابتدا ۱ گرم از نمونه روغن با ۳۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد، ۵ میلی‌لیتر اسید آسکوربیک ۱۰ درصد، ۱۰ میلی‌لیتر پتاسیم هیدروکسید ۸۰ درصد و ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. بخش غیر صابونی شده با n-هگزان ۹۵ درصد استخراج شد. فاز هگزان با آب شسته و به وسیله سولفات سدیم بی‌آب خشک گردید. برای تبخیر کامل حلال از دستگاه تبخیر کننده چرخان تحت خلا استفاده شد و باقی‌مانده در n-هگزان حل شد. حجم ۱ میکرولیتر از محلول به سیستم کروماتوگرافی گازی Agilent مجهز به ستون SE-54 (طول ۵۰ سانتی‌متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۱ میکرومتر) تزریق شد. گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با فلوریت ۱/۱ میلی‌لیتر در دقیقه مورد استفاده قرار گرفته و دمای تزریق و دمای دکتور FID به ترتیب ۲۶۰ و ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد در

فراصوت پرداختند و نشان دادند که راندمان استخراج، میزان اسیدهای چرب غیر اشباع و میزان توکوفرول‌ها در روغن استخراج شده با روش سیال زیر نقطه بحرانی بیشتر می‌باشد (۱۲).

هدف از پژوهش حاضر، بهینه سازی شرایط استخراج روغن از دانه ریحان از نظر بازده و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و در نهایت مقایسه خصوصیات روغن استخراجی با کمک روش فراصوت با روش معمول استخراج روغن به نام سوکسله می‌باشد.

• مواد و روش‌ها

آماده سازی نمونه

نمونه دانه‌های ریحان از عطاری معتبر در شهرستان شهرکرد استان چهار محال و بختیاری خریداری شد و بعد از خشک شدن در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایشها نگهداری شدند. دانه‌های مذکور بلافاصله قبل از استخراج روغن با استفاده از دستگاه آسیاب آزمایشگاهی خرد و سپس عمل استخراج انجام شد.

استخراج روغن

به منظور استخراج روغن دانه ریحان به روش سوکسله مقدار ۱۰ گرم نمونه آسیاب شده، در یک کاغذ صافی قرار داده شد و با حدود ۲۵۰ میلی‌لیتر هگزان (مرک با خلوص ۹۵٪) در بالن سوکسله مخلوط و طی ۸ ساعت استخراج روغن صورت پذیرفت (۱۳). سپس به منظور تبخیر حلال، از اواپراتور چرخان تحت خلاء (مدل RV 05) استفاده شد. در استخراج روغن به کمک امواج فراصوت ابتدا نمونه آسیاب شده و سپس با حلال هگزان با نسبت های مشخص مخلوط شده و به دنبال آن عملیات استخراج در دما و زمان های مشخص مطابق با طرح RSM (جدول ۱) تحت امواج فراصوت با استفاده از حمام اولتراسوند (DSA 150-SK2-5/7L) انجام گردید.

جدول ۱. متغیرها و سطوح به کار رفته برای بهینه‌سازی شرایط استخراج روغن دانه ریحان

متغیرها	علامت	سطوح مورد استفاده		
دما (درجه سانتی‌گراد)	X1	۳۵	۴۵	۵۵
زمان (دقیقه)	X2	۳۰	۶۰	۹۰
نسبت دانه به حلال (w/v)	X3	۱ به ۶	۱ به ۸	۱ به ۱۰

پس از عملیات استخراج، ذرات معلق توسط سانتریفیوژ (SIGMA D-37520) با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی شد و سپس با استفاده از دستگاه

میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون t-test در سطح احتمال ۰/۵/ (p<۰/۰۵) با یکدیگر مقایسه شدند.

• یافته‌ها

تأثیر متغیرها بر بازده استخراج روغن

پس از آنالیز داده‌ها توسط نرم افزار، مدل درجه دوم به عنوان مدل معنی‌دار انتخاب شده و معادله مربوط به تأثیر متغیرها بر بازده استخراج روغن، طبق معادله ۳ (X₁، X₂، X₃ به ترتیب دما بر حسب درجه سانتی‌گراد، زمان بر حسب دقیقه و نسبت دانه به حلال) می‌باشد.

معادله (۳)

=بازده استخراج روغن

$$13/97 + 0/091X_1 + 1/12X_2 + 1/15X_3 + 1/08X_1^2$$

نتایج تجزیه واریانس ضرایب برآورد شده مدل درجه دوم پیشنهادی در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به جدول ۲، تأثیر خطی و درجه دوم دما و تأثیر خطی زمان و نسبت دانه به حلال بر میزان روغن استخراج شده معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵) و برهمکنش معنی‌داری بین متغیرها در مورد این پاسخ مشاهده نشد.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس ضرایب برآورد شده مدل پیشنهادی برای بازده استخراج روغن

p-value	ضرایب	
۰/۰۰۴۱	-	مدل
-	۱۳/۹۷	β ₀
۰/۰۱۵۱	۰/۹۱	X ₁ (دما)
۰/۰۰۴۷	۱/۱۲	X ₂ (زمان)
۰/۰۰۴۱	۱/۱۵	X ₃ (نسبت دانه به حلال)
۰/۲۴۵۹	۰/۵۰	X ₁ X ₂
۰/۲۴۵۹	-۰/۵۰	X ₁ X ₃
۰/۲۴۵۹	۰/۵۰	X ₂ X ₃
۰/۰۰۵۰	۱/۰۸	X ₁ ²
۰/۰۹۷۳	۰/۵۵	X ₂ ²
۰/۱۱۷۶	۰/۵۲	X ₃ ²

مطابق با معادله ۳، تأثیر دما بر بازده استخراج روغن به صورت خطی و درجه دوم معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵). دما یکی از عوامل تأثیرگذار در استخراج روغن است به طوری که ابتدا با افزایش دما، بازده استخراج روغن اندکی کاهش یافته ولی در ادامه با افزایش دما تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد، میزان بازده به طور قابل توجهی افزایش نشان داد (شکل ۱a). زمان استخراج و مقدار حلال نیز تأثیر خطی مثبت و معنی‌داری (p<۰/۰۵) بر این پاسخ نشان دادند به طوری که میزان بازده استخراج روغن با افزایش مدت زمان استفاده از فراصوت (شکل ۱b) و استفاده از مقادیر بیش‌تر حلال (شکل ۱c) افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، افزایش نسبت حلال به دانه از ۶ به ۱۰ تا ۱۰ به ۱ سبب افزایش درصد استخراج از ۱۳/۸۰ به ۲۰/۰۱ گردید.

نظر گرفته شد. کمی‌سازی با استفاده از استاندارد داخلی (آلفا-کلسنتانول) انجام شد (۱۶).

قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH

برای تعیین قدرت مهار رادیکال آزاد از روش Yao و همکاران (۲۰۱۳) استفاده شد. بدین منظور ۰/۳ میلی‌لیتر از روغن با ۲/۷ میلی‌لیتر متانول مخلوط، و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق در مکان تاریک نگهداری شد. سپس میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر UV-Visible (UV-2100) قرائت شد و از طریق معادله (۲) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس مهار رادیکال آزاد به دست آمد (۱۷).

معادله (۲)

$$DPPH\% = \frac{Ac - Ax}{Ac} \times 100$$

Ac: جذب کنترل، Ax: جذب نمونه

اندازه‌گیری رنگ روغن

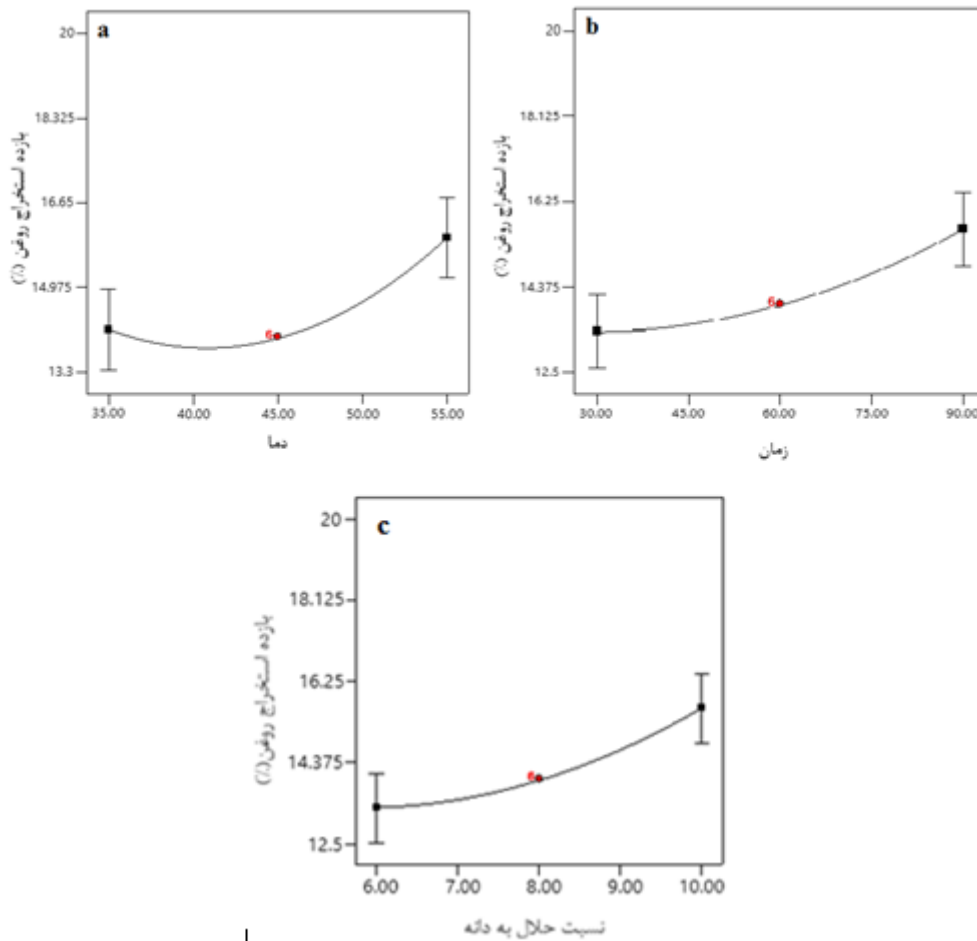
رنگ نمونه‌ی روغن با استفاده از رنگ سنج لایوباند مطابق استاندارد AOCS شماره CC 13e-92 انجام شد. نمونه‌ی روغن به یک سل ۱۰ میلی‌متری انتقال و رنگ آن در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد با انطباق بر اسلایدهای رنگی استاندارد، اندازه‌گیری گردید (۱۴).

تعیین ترکیب اسیدهای چرب روغن

به منظور تعیین ترکیب اسیدچرب روغن دانه ریحان از روش جعفری و همکاران (۲۰۲۰) استفاده شد. ابتدا متیل استرهای اسید چرب تهیه شد و برای این منظور، ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه روغن در ۱ میلی‌لیتر هگزان حل شد، سپس ۵۰ میکرولیتر متوکسید سدیم ۰/۵ نرمال اضافه شده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط همزده شد. پس از دو فاز شدن، فاز هگزان استخراج شده و توسط سولفات سدیم آبگیری شد. یک میکرولیتر از فاز هگزان به دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به ستون HP 88 (طول ۱۰۰ متر، قطر ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت فاز ساکن ۰/۲ میکرومتر) تزریق شد. دمای تزریق و دتکتور (FID) به ترتیب ۱۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد بود (۱۸).

بررسی آماری داده‌ها

در این تحقیق به منظور بهینه‌سازی شرایط استخراج روغن، ۳ فاکتور در سه سطح با استفاده از طرح RSM مورد بررسی قرار گرفت و ۲۰ تیمار انجام شد. پارامترها به طور همزمان بهینه شده و برای این منظور از طرح دی-اوپتیمال استفاده شد. پس از انجام تیمارها، آنالیز نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار (Design Expert ۶,۱,۷) صورت گرفت. در بخش دوم تحقیق،



شکل ۱. تأثیر (a) دما، (b) زمان و (c) نسبت حلال به دانه (v/w) بر درصد بازده استخراج روغن

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس ضرایب برآورد شده مدل پیشنهادی

برای ترکیبات فنولی کل		
p-value	ضرایب	
۰/۰۱۹۴	-	مدل
-	۷/۹۰	β_0
۰/۰۷۸۸	۰/۵۷	X_1 (دما)
۰/۲۵۵۴	۰/۳۵	X_2 (زمان)
۰/۷۶۰۰	-۰/۰۹۱	X_3 (نسبت دانه به حلال)
۰/۴۶۶۸	-۰/۲۹	X_1X_2
۰/۰۹۹۸	-۰/۶۹	X_1X_3
۰/۲۲۹۹	۰/۴۸	X_2X_3
۰/۳۰۷۰	-۰/۳۸	X_1^2
۰/۰۲۶۳	-۰/۷۳	X_2^2
۰/۰۰۱۱	-۱/۲۸	X_3^2

با افزایش زمان فراصوت تا حدود ۶۰ دقیقه، استخراج ترکیبات فنولی افزایش یافته ولی در ادامه، افزایش بیش تر در

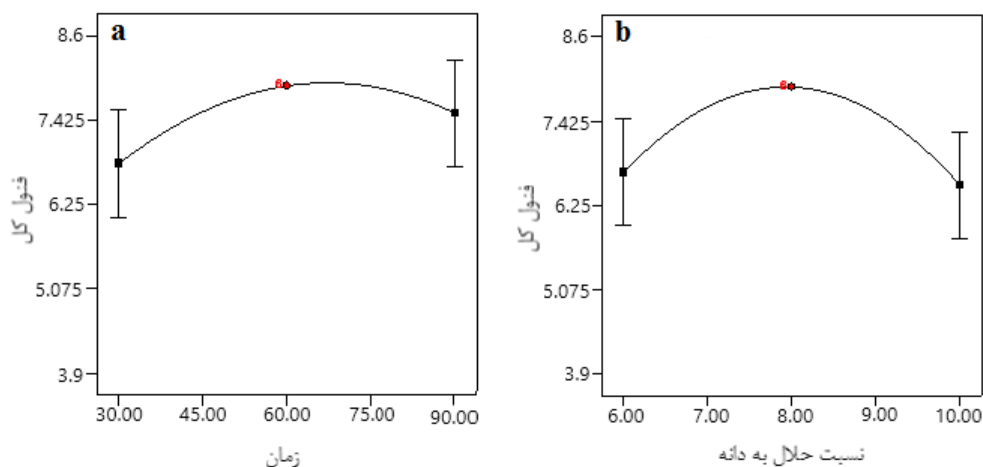
تأثیر متغیرها بر ترکیبات فنولی کل در روغن

ترکیبات فنولی مشتقات پنتوز فسفات و فنیل پروپانوئید در گیاهان هستند که تجزیه اکسیداتیو لیپیدها را به تأخیر انداخته و سبب بهبود کیفیت مواد غذایی می‌شوند. معادله ۴ نشان دهنده مدل پیشنهادی توسط نرم افزار برای استخراج میزان ترکیبات فنولی کل در روغن است. نتایج تجزیه واریانس ضرایب برآورد شده مدل پیشنهادی در جدول ۳ آورده شده است. مطابق با جدول ۳، تأثیر درجه دوم زمان و نسبت دانه به حلال بر میزان ترکیبات فنولی روغن معنی‌دار می‌باشد ($p < 0/05$) و بر همکنش معنی‌داری بین متغیرها مشاهده نشد. دما نیز با داشتن p-value بیشتر از ۰/۰۵، تأثیر معنی‌داری بر مقدار کل ترکیبات فنولی در تحقیق حاضر نشان نداد.

معادله (۴)

$$\text{مقدار کل ترکیبات فنولی} = 7/90 - 0/73X_2^2 - 1/28X_3^2$$

مدت زمان استخراج (تا ۹۰ دقیقه) تأثیر منفی بر میزان ترکیبات فنلی داشته است (شکل ۲).



شکل ۲. (a) تأثیر زمان (دقیقه) و (b) تأثیر نسبت حلال به دانه (v/w) بر مقدار ترکیبات فنلی کل روغن

زمان تا ۹۰ دقیقه، میزان عدد پراکسید به مقدار جزئی کاهش نشان داد. افزایش در اندیس پراکسید با گذشت زمان می‌تواند به علت مدت زمان زیاد استخراج و تماس بیشتر روغن با اکسیژن و نیز ورود ناخالصی‌های بیش‌تر در روغن استخراج شده باشد. در شکل ۳ تأثیر متقابل دما و مقدار حلال بر میزان عدد پراکسید به صورت نمودار سطح پاسخ سه بعدی قابل مشاهده است. افزایش دما از ۳۵ تا ۵۵ درجه سانتی‌گراد هم‌زمان با افزایش مقدار حلال، باعث افزایش میزان عدد پراکسید تا ۰/۹۹ شده است. مقدار حلال با مدت زمان استخراج نیز دارای اثر متقابل است. در شکل ۳b مشاهده می‌شود که افزایش در مدت زمان هم‌زمان با افزایش مقدار حلال منجر به افزایش در عدد پراکسید روغن می‌شود.

جدول ۴. نتایج حاصل از تجزیه واریانس ضرایب برآوردشده مدل پیشنهادی برای عدد پراکسید

p-value	ضرایب	
۰/۰۰۹۸	-	مدل
-	۰/۸۴	β_0
۰/۷۶۸۰	۰/۰۱۱	X_1 (دما)
۰/۳۰۴۰	-۰/۰۲۸	X_2 (زمان)
۰/۰۱۹۹	۰/۰۹۶	X_3 (نسبت دانه به حلال)
۰/۱۲۴۵	-۰/۰۷۶	X_1X_2
۰/۰۱۴۷	۰/۱۳	X_1X_3
۰/۰۱۴۷	-۰/۱۳	X_2X_3
۰/۰۷۲۵	-۰/۰۶۸	X_1^2
۰/۰۰۶۰	-۰/۱۲	X_2^2
۰/۱۸۲۲	-۰/۰۴۹	X_3^2

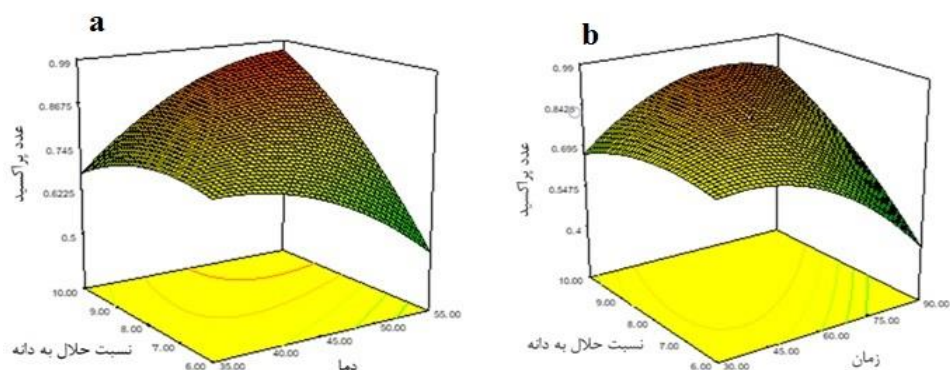
تأثیر متغیرها بر اندیس پراکسید روغن

عدد پراکسید نشان دهنده محتوای هیدروپراکسید در چربی‌ها است. افزایش عدد پراکسید در طول زمان ناشی از شدت یافتن اکسیداسیون با افزایش مدت زمان نگهداری است. میزان پراکسید معیاری از اکسیداسیون یا فساد روغن در مراحل اولیه آن است. در تحقیق حاضر از اندیس پراکسید جهت بررسی پایداری روغن دانه ریحان تحت تأثیر متغیرهای مورد بررسی و نحوه تأثیر این متغیرها بر کیفیت روغن استخراج شده استفاده گردید. نتایج تجزیه واریانس ضرایب برآورد شده برای مدل پیشنهادی در جدول ۴ آورده شده است. پس از آنالیز داده‌ها توسط نرم افزار، مدل درجه دوم در سطح احتمال ۵ درصد برای تغییرات عدد پراکسید معنی‌دار شد و معادله ۵ توسط نرم افزار پیشنهاد گردید.

معادله ۵

$$\text{عدد پراکسید} = ۰/۰۹۶ + ۰/۸۴X_3 + ۰/۱۳X_1X_3 + ۰/۱۳X_2X_3 - ۰/۱۲X_2^2$$

همان‌طور که در معادله ۵ و جدول ۴ مشاهده می‌شود اثر خطی متغیر نسبت حلال به دانه و اثر درجه دوم زمان تأثیر معنی‌دار بر میزان عدد پراکسید داشته‌اند. همچنین بین دو متغیر دما و نسبت حلال به دانه و متغیرهای زمان و نسبت حلال به دانه، اثر متقابل معنی‌دار مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$). با افزایش نسبت حلال به دانه تا میزان ۱۰ به ۱ (v/w)، عدد پراکسید از ۰/۶۹ تا مقدار ۰/۸۸ meqO_2/kg افزایش یافته است. با افزایش مدت زمان استخراج تا ۶۰ دقیقه نیز در ابتدا میزان عدد پراکسید افزایش یافته در ادامه با طولانی‌تر شدن مدت



شکل ۳. نمودار سطح پاسخ سه بعدی (a) تأثیر دما (درجه سانتی‌گراد) و نسبت حلال به دانه (v/w) بر میزان عدد پراکسید و (b) نمودار سطح پاسخ سه بعدی تأثیر مدت زمان (دقیقه) و نسبت حلال به دانه (v/w) و اثر متقابل آن‌ها بر میزان عدد پراکسید

جدول ۶ مقایسه بازده استخراج روغن و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن دانه ریحان استخراج شده با کمک امواج فراصوت در شرایط بهینه و روش سوکسله را نشان می‌دهد. **بازده استخراج روغن:** بازده استخراج روغن با روش سوکسله طی ۸ ساعت، ۲۱/۰۲ درصد به دست آمد. نتایج مربوط به استخراج با کمک فراصوت نشان داد که استفاده از فراصوت سبب افزایش میزان استخراج روغن در زمان بسیار کمتر نسبت به روش سوکسله شد. با تعیین شرایط بهینه استخراج، میزان بازده روغن در مدت زمان ۹۰ دقیقه، ۱۹/۲۵ درصد محاسبه شد که بسیار نزدیک به میزان روغن استخراج شده طی ۸ ساعت با روش سوکسله است.

جدول ۶. مقایسه خصوصیات فیزیکی و شیمیایی روغن دانه ریحان با روش استخراج به کمک امواج فراصوت و سوکسله

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی	استخراج شده با روش فراصوت	استخراج شده با روش سوکسله
بازده استخراج روغن (%)	۱۹/۰۵ ± ۰/۵ ^b	۲۱/۰ ± ۰/۳ ^a
اندیس اسیدی (%)	۰/۹۸ ± ۰/۰۷ ^b	۲/۰۵ ± ۰/۳۶ ^a
مقدار فنول کل (میلی‌گرم در گرم)	۱۴/۲۸ ± ۰/۱۹ ^b	۲۴/۲۱ ± ۰/۱۶ ^a
اندیس پراکسید (meqO ₂ /kg)	۰/۲۲ ± ۰/۰۴ ^b	۱/۱۲ ± ۰/۰۵ ^a
شاخص رنگ (زردی)	۴/۹ ± ۰/۲۸ ^b	۱۱ ± ۲/۸۲ ^a
مهار رادیکال آزاد (DPPH) (%)	۴۸/۸۹ ± ۰/۱۶ ^a	۴۴/۲۶ ± ۰/۰۳ ^b

حروف غیر یکسان در هر سطر، نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است (p < ۰/۰۵)

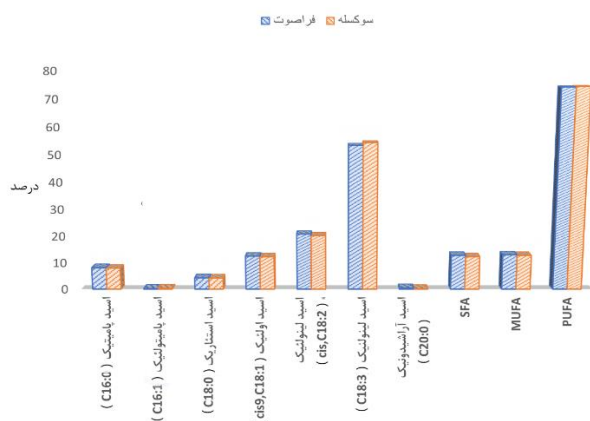
پس از بررسی تأثیر متغیرها و اثرات متقابل آن‌ها، تعیین شرایط بهینه استخراج توسط نرم افزار انجام شد. شرایط واکنش زمانی می‌تواند بهینه در نظر گرفته شود که بازده استخراج روغن و میزان ترکیبات فنل کل به حداکثر و میزان پراکسید به حداقل مقدار خود برسد. مقادیر بهینه پیش بینی شده برای متغیرها توسط نرم افزار به صورت دما ۵۵ درجه سانتی‌گراد، مدت زمان ۹۰ دقیقه و نسبت حلال به دانه ۸/۸۶ به ۱ بود. جهت تایید مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم افزار، عمل استخراج در شرایط بهینه در سه تکرار انجام شد و نتیجه با مقادیر پیش‌بینی شده مقایسه گردید. مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم افزار و مقادیر واقعی به دست آمده برای بازده استخراج روغن، فنل کل و میزان پراکسید در جدول ۵ قابل مشاهده است. با توجه به نتایج به دست آمده اختلاف معنی‌داری بین نتایج پیش‌بینی شده و نتایج واقعی در شرایط بهینه مشاهده نشد (p > ۰/۰۵).

جدول ۵. نتایج تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم افزار برای بازده استخراج روغن، ترکیبات فنول کل و عدد پراکسید در شرایط بهینه

	مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار	مقادیر واقعی
بازده استخراج روغن (%)	۱۸/۷	۱۹/۲۵
فنول کل (mg/g)	۷/۰۱	۷/۹
پراکسید (meq O ₂ /kg)	۰/۲۷	۰/۲۲

مقایسه خصوصیات روغن استخراج شده به کمک فرایند اولتراسوند در شرایط بهینه و روغن استخراج شده با روش سوکسله

چرب چند غیراشباع، روغن دانه ریحان را به عنوان روغنی با ارزش از نظر تغذیه‌ای مطرح می‌سازد.



شکل ۴. نتایج آنالیز ترکیب اسیدهای چرب استخراج شده در روغن دانه ریحان با کمک امواج فراصوت و سوکسله

ترکیب فیتواسترول‌ها: استرول‌ها گروهی از الکل‌های استروئیدی بوده که از نظر ساختاری شبیه کلسترول هستند و به طور عمده در بخش غیر صابونی روغن‌های گیاهی وجود دارند. فیتواسترول‌ها خاصیت ضد سرطانی، ضد التهابی و آنتی‌اکسیدانی دارند و برای کاهش سطح کلسترول خون استفاده می‌شوند. اندازه‌گیری مقادیر فیتواسترول‌ها، یکی از شاخص‌های شناسایی کیفیت روغن‌های گیاهی می‌باشد (۲۰). همان‌طور که جدول ۷ نشان می‌دهد، بتا سیتواسترول (۷۱/۳۸٪) و کمپسترول (۲۲/۴٪) بیش‌ترین میزان استرول‌ها در روغن دانه ریحان را به خود اختصاص می‌دهند.

جدول ۷. ترکیبات فیتواسترولی استخراج شده روغن دانه ریحان، با کمک امواج فراصوت و سوکسله

ترکیب فیتواسترول (%)	فراصوت	سوکسله
کلسترول (CHOL)	۱/۸۲	۱/۹۷
کمپسترول (CAMP)	۲۲/۴	۲۱/۵
استیگما استرول (STIG)	۴/۴	۳/۷۶
بتا سیتواسترول (β-SITOS)	۷۱/۳۸	۷۲/۷۷

• بحث

بررسی تأثیر متغیرها بر بازده، ترکیبات فنل کل و پراکسید روغن در روش فراصوت
تأثیر متغیرها بر بازده استخراج روغن: در این مطالعه، بهینه‌سازی استخراج روغن دانه ریحان با استفاده از هگزان و امواج فراصوت تحت تأثیر سه فاکتور دما، زمان و نسبت حلال به دانه برای رسیدن به بالاترین بازده استخراج روغن و فنل کل و کمترین عدد پراکسید مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس

عدد اسیدی: با توجه به جدول ۶ عدد اسیدی در روش سوکسله با مقدار ۲/۰۵٪ و با اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) بیشتر از روش فراصوت (۰/۹۸٪) به دست آمد.

ترکیبات فنلی کل: ترکیبات فنولی به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی و فعالیت بیولوژیکی، حائز اهمیت می‌باشند. این ترکیبات معمولاً با استفاده از حلال استخراج می‌شوند و دما، زمان و نوع و غلظت حلال بر کیفیت استخراج اثر گذار هستند. با توجه به جدول ۶، مقدار فنول کل روغن استخراج شده توسط سوکسله، به طور قابل توجهی بیش‌تر از روش فراصوت به دست آمد و این دو نمونه در سطح احتمال ۵ درصد دارای تفاوت معنی‌دار بودند ($p < 0.05$).

عدد پراکسید: طبق جدول ۶، استفاده از روش فراصوت به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) سبب کاهش تولید پراکسید در روغن می‌شود. در این مطالعه عدد پراکسید در روش فراصوت برای روغن دانه ریحان، ۰/۲۲ meqO₂/kg به دست آمد و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را با روش سوکسله (۱/۱۲ meqO₂/kg) نشان داد ($p < 0.05$).

شاخص‌های رنگ: رنگ از جمله ویژگی‌های مهم روغن بوده و نقش زیادی در خصوصیات حسی دارد و در میزان پذیرش روغن‌های گیاهی حائز اهمیت است (۱۹). با توجه به جدول ۶، رنگ زرد در روغن حاصل از روش سوکسله در مقایسه با روش فراصوت بیش‌تر می‌باشد که این تفاوت از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد ($p < 0.05$).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن: DPPH یک رادیکال پایدار است که اغلب برای ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شود. طبق جدول ۶ روغن استخراج شده با روش فراصوت نسبت به روش سوکسله فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری را نشان داد و در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ($p < 0.05$) بین دو نمونه مشاهده شد. این اختلاف را می‌توان به تفاوت در نوع ترکیبات فنلی استخراج شده در روغن‌ها نسبت داد.

ترکیب اسیدهای چرب: شکل ۴ نتایج آنالیز ترکیب اسیدهای چرب استخراج شده روغن دانه ریحان، با کمک امواج فراصوت و روش سوکسله را نشان می‌دهد. ترکیب و نوع اسیدهای چرب در هر دو روش استخراج با اختلاف بسیار جزئی، تقریباً مشابه بود. در استخراج با روش فراصوت در بین اسیدهای چرب؛ اسیدهای لینولئیک (۵۳/۳۸ درصد)، لینولئیک (۲۰/۷۹ درصد)، اولئیک (۱۲/۴۹ درصد) و پالمیتیک (۸/۱۲ درصد) بیش‌ترین مقدار را به خود اختصاص می‌دهند. داشتن بیش از ۱۲ درصد اسیدهای چرب تک غیراشباع و بیش از ۷۴ درصد اسیدهای

استخراج ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد (۲۶). با افزایش نسبت حلال به دانه تا مقدار ۸ به ۱ (V/W)، استخراج ترکیبات فنلی افزایش یافته که احتمالاً به دلیل افزایش شیب غلظت و به دنبال آن افزایش سرعت شکستن غشای سلولی، حلال به راحتی به داخل سلول نفوذ کرده و سبب حلالیت و بهبود نفوذ ترکیبات فنلی به حلال می‌شود. در ادامه، افزایش بیشتر نسبت حلال به دانه به دلیل همزنی نامناسب حلال توسط فراصوت، تأثیر منفی بر روند استخراج دارد. به هر حال، با در نظر گرفتن روند تغییرات در میزان ترکیبات فنلی و حداکثر استخراج این ترکیبات در کنار مقادیر بهینه برای سایر پاسخ‌ها، نرم افزار نسبت حلال به دانه معادل ۸/۸۶ به ۱ را به عنوان نسبت بهینه مشخص کرد. نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های خدادوست و همکاران (۱۳۹۹) مطابقت دارد (۲۷).

حرارت از عوامل تأثیرگذار در تسریع اکسیداسیون می‌باشد. با افزایش دما سرعت اکسیداسیون روغن افزایش یافته و طول دوره القا کاهش می‌یابد. همچنین باعث افزایش میزان ترکیبات قطبی شده و با تولید رادیکال‌های آزاد طی تشکیل حباب‌ها در فراصوت عدد پراکسید افزایش می‌یابد (۲۸). مرجمتی و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی استخراج روغن کانولا به کمک امواج فراصوت گزارش کردند که افزایش دما از ۴۰ به ۵۰ درجه سانتی‌گراد سبب افزایش مقادیر مربوط به عدد پراکسید از ۱/۵ به ۱/۸ می‌شود (۲۹). با توجه به شکل ۴ در ابتدا عدد پرواکسید افزایش یافت که می‌تواند به دلیل جذب اکسیژن بیشتر توسط اسیدهای چرب غیراشباع در روغن باشد. با افزایش مدت زمان سرعت تشکیل هیدروپراکسیدها بیش از سرعت تجزیه آن‌هاست بنابراین عدد پراکسید افزایش می‌یابد. سپس به مقدار جزئی کاهش یافت که این کاهش می‌تواند مربوط به شکست هیدروپراکسیدها و تبدیل آن‌ها به ترکیبات ثانویه نظیر کتون‌ها و آلدئیدها باشد. نتایج بررسی پراکسید روغن سویا توسط حدادی و همکاران (۱۳۹۶) نیز نشان داد که با افزایش دما و زمان حرارت دهی عدد پراکسید افزایش می‌یابد (۳۰).

علت بالاتر بودن مقدار بازده روغن استخراج شده در روش فراصوت در زمان‌های کوتاه‌تر، پدیده حفره‌زایی یا کاویتاسیون است. با انفجار حباب‌ها در حلال و همچنین در مجاورت سطح نمونه، قابلیت نفوذ سلول‌ها افزایش یافته و به همین دلیل این فرایند عمل استخراج را در مدت زمان کوتاه‌تری به انجام می‌رساند (۲۵). همچنین امواج فراصوت باعث ایجاد جریان پر سرعت حلال به طرف نمونه شده که در اثر برخورد، بافت متلاشی شده و منافذ متعددی در آن بوجود می‌آید. بنابراین سرعت نفوذ حلال به داخل نمونه افزایش یافته و سرعت انتقال جرم تشدید می‌شود و روغن سریع‌تر استخراج می‌شود. با

خصوصیات روغن استخراج شده با روش متداول سوکسله مقایسه شد. با توجه به شکل ۱a ابتدا با افزایش دما، بازده استخراج روغن اندکی کاهش و سپس با افزایش دما میزان بازده به طور قابل توجهی افزایش نشان داد. با افزایش دما، یکپارچگی دیواره سلولی دانه‌ها ضعیف شده و سطح تماس بیشتری بین حلال و روغن ایجاد می‌شود در نتیجه، روغن بیشتری در حلال استخراج می‌شود (۲۱). نتایج تحقیق حاضر در راستای یافته‌های دجانی و همکاران (۲۰۱۹) می‌باشد که روغن سبوس برنج را با حلال هگزان و به کمک امواج فراصوت استخراج کردند (۲۲). در تحقیق حاضر، حداکثر دمای مورد استفاده برای استخراج به کمک امواج فراصوت، ۵۵ درجه سانتی‌گراد (کمتر از نقطه جوش حلال مصرفی) بوده است و تا بالاترین دمای مورد بررسی نیز روند افزایشی در استخراج روغن مشاهده می‌شود. ولیکن در برخی از تحقیقات پیشین گزارش شده است که افزایش دما به دلیل کاهش ویسکوزیته سینماتیک روغن و افزایش تحرک بیوپلیمرهای دیواره سلولی موجب افزایش درصد استخراج روغن شده اما کاهش راندمان استخراج در دماهای بالاتر ممکن است مشاهده شود (۲۳). اثر مثبت زمان استخراج بر میزان بازده استخراج روغن می‌تواند به دلیل پارگی کامل سلول‌های دانه به دلیل اثرات حفره‌ای صوتی در مراحل استخراج باشد که منجر به نفوذ بهتر حلال به داخل سلول‌ها و تسهیل آزاد سازی روغن می‌شود. Zou و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که با افزایش زمان اعمال فراصوت به دلیل افزایش تعداد میکروحباب‌های حفره‌ای ایجاد شده توسط امواج فراصوت، میزان استخراج روغن افزایش می‌یابد (۲۴). نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های جلیلی و همکاران (۱۳۹۵)، که به بهینه سازی استخراج روغن کانولا به کمک امواج فراصوت به روش سطح پاسخ پرداختند، مشابهت دارد (۲۵). در نسبت‌های بالای حلال به علت افزایش نیروی محرکه و بالا بودن گرادیان غلظت بین سلول‌های داخلی و حلال بیرونی، انتقال جرم شدت گرفته و بازده استخراج روغن بالا می‌رود. نتایج به دست آمده با یافته‌های فائیزنور و همکاران (۲۰۱۶) بر روی استخراج روغن بذر گیاه *Inophyllum Calophyllum* به روش فراصوت همخوانی دارد (۱۰).

افزایش زمان، مدت انتقال جرم را افزایش می‌دهد، بنابراین باعث افزایش استخراج ترکیبات فنلی می‌شود. احتمالاً به دلیل وقوع اکسیداسیون و به مدت طولانی در معرض امواج فراصوت قرارگرفتن، میزان فنل کل کاهش می‌یابد. دهقان تنها و همکاران (۱۳۹۶) به بهینه سازی استخراج ترکیبات فنولی فلفل قرمز با استفاده از امواج فراصوت به روش سطح پاسخ پرداختند. آن‌ها گزارش کردند که با افزایش زمان و شدت فراصوت

نسبت داد که امکان خروج بیش‌تر ترکیبات رنگی از جمله کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و ... را میسر می‌سازد (۲۴).

نمونه روغن سوکسله مقادیر بالاتری از ترکیبات فنلی کل را نشان داد با این حال، قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد کم‌تر و پراکسید بالاتری داشت. بنابراین، احتمالاً نوع ترکیبات فنلی استخراج شده در این دو روش، در فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن تأثیرگذار بوده است به طوری که در تحقیقات نیز گزارش شده است که امواج فراصوت می‌توانند در استخراج ترکیبات فنلی باند شده تأثیر قابل توجهی داشته باشند (۳۷). همچنین افزایش قدرت آنتی‌اکسیدانی با اعمال امواج فراصوت می‌تواند به دلیل نیروی برشی ایجاد شده توسط این امواج و تأثیر آن‌ها در شکستن دیواره سلولی و بهبود انتقال جرم باشد. Teng و همکاران (۲۰۱۶) با بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن دانه تمشک گزارش کردند که قدرت ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در روش فراصوت بیشتر از روش سوکسله است (۳۸).

با توجه به نتایج شکل ۴ می‌توان پی برد که امواج فراصوت اثر تخریبی و اکسایشی بر ترکیب اسیدهای چرب روغن نداشته است. ایدریس و همکاران (۲۰۲۰) خواص فیزیکوشیمیایی و ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه ریحان را با استفاده از روش سوکسله مورد بررسی قرار دادند و مقدار اسیدهای لینولئیک و آلفالینولئیک موجود در دانه ریحان را به ترتیب ۳۲/۱۸ و ۴۳/۹۲ درصد گزارش کردند (۴).

امواج فراصوت موجب افزایش جزئی استخراج کمپسترول و استیگماسترول شده در حالی که در روش سوکسله مقدار بیش‌تری از بتا‌سیتواسترول استخراج شده است. روش و شرایط استخراج روغن می‌تواند به طور قابل توجهی بر عملکرد ماده لیپیدی و در نتیجه محتوای فیتواسترول تأثیر بگذارد. بتا‌سیتواسترول یکی از فیتواسترول‌های مهم است که به عنوان استرول اصلی موجود در دانه‌های روغنی شناخته می‌شود و باعث ترشح انسولین و تنظیم تولید آنتی‌بادی‌ها می‌شود (۳۹).

نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر بر اساس نتایج بهینه‌سازی استخراج روغن به روش سطح پاسخ، هر سه متغیر (دما، زمان و حلال) مورد بررسی در استخراج به کمک امواج فراصوت، تأثیر مثبت و افزایشی بر میزان بازده استخراج روغن داشتند. همچنین زمان و مقدار حلال بر میزان استخراج ترکیبات فنولی تأثیر معنی‌دار نشان دادند. دما به تنهایی تأثیر معنی‌داری بر میزان عدد پراکسید نداشت ولی با مقدار حلال دارای اثر متقابل معنی‌دار بود. میزان بازده استخراج روغن، فنل کل و عدد پراکسید در شرایط بهینه (نمونه بهینه) برای روش فراصوت با استفاده از حلال هگزان، به ترتیب ۱۹/۲۵ درصد، ۷/۹ میلی‌گرم در گرم و

استفاده از این روش می‌توان با کاهش زمان به راندمانی مشابه با استخراج با سوکسله دست یافته و صرفه جویی بسزایی در زمان و مصرف انرژی داشت (۳۱). Zhang Li و همکاران (۲۰۱۷) روغن دانه پریلا را به روش فراصوت استخراج کردند و دریافتند استخراج با روش فراصوت در مدت زمان کوتاه‌تری انجام شد (۳۲).

مقایسه خصوصیات روغن استخراج شده با فراصوت و سوکسله

عدد اسیدی، بیانگر میزان هیدرولیز اسیدهای چرب است که طی تجزیه یا هیدرولیز گلیسریدهای روغن ایجاد می‌شود. بالا بودن مقدار عدد اسیدی ناشی از افزایش هیدروپراکسیدها و همچنین اسیدهای چرب آزاد است که محصولات اولیه اکسیداسیون می‌باشند (۴). افزایش عدد اسیدی موجب کاهش پایداری اکسیداسیون و همچنین ترشیدگی روغن در طول مدت نگهداری می‌شود (۳۳). زمان طولانی و دمای بالا در روش سوکسله به دلیل شکستن اتصالات استری می‌تواند منجر به افزایش عدد اسیدی شود.

افزایش دما در روش سوکسله منجر به بهبود کارایی استخراج و تجزیه پلی‌فنل‌های سنگین وزن به انواع با وزن مولکولی کم‌تر می‌شود. همچنین با افزایش زمان استخراج در روش سوکسله، استخراج ترکیبات فنولی افزایش می‌یابد که البته احتمالاً با افزایش زمان، بخشی از ترکیبات ضد اکسایشی تخریب شوند (۳۴).

بالا بودن پراکسید در روش سوکسله را می‌توان به طولانی بودن فرایند استخراج و دمای بالا نسبت داد، که منجر به تسریع اکسیداسیون می‌شود و به طور کلی هر قدر درجه غیراشباعی روغن بیش‌تر باشد، میزان اکسیداسیون بیش‌تر می‌شود. روغنی که عدد پراکسید بالایی داشته باشد بیش‌تر مستعد رسیدن شدن است که بر کیفیت کلی روغن تأثیر می‌گذارد. نتایج به دست آمده برای مقایسه پراکسید نمونه‌ها، با نتایج گزارش شده توسط Shahi Chehragh و همکاران (۱۴۰۰) مغایرت داشت (۳۵).

رنگ از جمله پارامترهای مهمی است که بر کیفیت روغن تأثیرگذار است و پذیرش مصرف کننده به میزان زیادی تحت تأثیر رنگ روغن قرار می‌گیرد. کاروتنوئیدها و کلروفیل‌ها از جمله رنگدانه‌های موجود در منابع روغنی هستند که در زمان استخراج وارد روغن می‌شوند. کاروتنوئیدها علاوه بر داشتن تأثیرات مثبت بیولوژیکی، می‌توانند نقش آنتی‌اکسیدان نیز داشته باشند (۳۶). بالا بودن مقدار زردی در روغن به دست آمده با روش سوکسله را می‌توان به مدت زمان زیاد استخراج

را داشت. ترکیب اسیدهای چرب روغن دانه ریحان تحت تأثیر روش استخراج قرار نگرفت. در بین ترکیبات فیتواسترولی، بتا سیتواسترول و کمپسترول بیشترین میزان استرولها در روغن دانه ریحان بودند. در نهایت، استخراج روغن دانه ریحان با امواج فراصوت یک روش مؤثر در تولید این روغن ارزشمند با کمترین تأثیر بر خواص فیزیکوشیمیایی و بدون تأثیر کمی و کیفی بر اسیدهای چرب آن است که می‌تواند به عنوان یک روش کارآمد در استخراج صنعتی روغن و ترکیبات گیاهی مد نظر قرار گیرد.

به دست آمد و اختلاف معنی‌داری بین نتایج پیش‌بینی شده توسط نرم افزار و نتایج واقعی در شرایط بهینه مشاهده نشد ($p > 0.05$). میزان بازده روغن استخراج شده در روش فراصوت با اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) کمی پایین‌تر از روش سوکسله به دست آمد اما استخراج مؤثر روغن با این روش در زمان و دمای کمتر نسبت به روش سوکسله باعث صرفه جویی در زمان و مصرف انرژی می‌شود. نمونه روغن استخراج شده به روش فراصوت، عدد اسیدی، پراکسید، شاخص زردی و ترکیبات فنلی کمتری را نسبت به نمونه سوکسله نشان داد در حالی که بیشترین درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH

References

- Omidbaigi R. Production and Processing of Medicinal Plants. Mashhad Astan'e Qods'e Razavi Publication. 5th ed. Vol 3. 2008.
- Hajmohammadi A; Pirouzifard M; Shahedi M, Alizadeh M. Enrichment of a fruit-based beverage in dietary fiber using basil seed: Effect of Carboxymethyl cellulose and Gum Tragacanth on stability. LWT. 2016; 74: 84–91.
- Naji-Tabasi S, Razavi SMA. Functional properties and applications of basil seed gum: An overview. Food Hydrocolloids. 2017; 73: 313–325.
- Naji-Tabasi S; Razavi S.M.A. New studies on basil (*Ocimum basilicum* L.) seed gum: Part II—Emulsifying and foaming characterization. Carbohydrate Polymer. 2016; 149: 140–150.
- Idris A, Nour A, Ali M, Erwa I, Omer Ishag O, Nour A. Physicochemical properties and fatty acid composition of *Ocimum basilicum* L. seed oil. Asian Journal of Chemistry. 2020; 8(1): 1-12.
- Kursat M, Sari A, Civelek S, Emre I, Yilmaz O. Seed fatty acid amounts of some *Salvia* L. Taxa in Elazig. Turkish Journal of Science and Technology. 2013; 8(2): 115- 119.
- Bravo HC, Cespedes NV, Bravo LZ, Munoz LA. Basil seeds as a novel food, source of nutrients and functional ingredients with beneficial properties: A review. Foods. 2021; 10: 1467.
- Vilkhu K, Mawson R, Simons L, Bates D. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry: A review. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 2008; 9(2): 161-169.
- Bhargava N, Mora RS, Kumarb K. Sharanagata VS. Advances in application of ultrasound in food processing: A review. Ultrasonics –Sonochemistry. 2021; 70: 1350-4177.
- Faiznur M, Mashitah M. Ultrasonic assisted extraction of oil from *Calophyllum Inophyllum* seeds: Optimization of process parameters. Jurnal Teknologi (sciences & engineering). 2016; 78(10): 199-206.
- Garcia-Hernandez VM, Hojjati M, Carbonell-Barrachina AA, Sánchez-Soriano J, Roche E, Garcia-Garcia E. Comparison of soxhlet and ultrasound methods for oil extraction from Spanish flaxseeds. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences. 2017; 7(3): 332-336.
- Pereira MG, Hamerski F, Andrade EF, Scheer ADP, Corazza ML. Assessment of subcritical propane, ultrasound-assisted and Soxhlet extraction of oil from sweet passion fruit (*Passiflora alata* Curtis) seeds. The Journal of Supercritical Fluids. 2017; 128: 338-348.
- AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Ed., AOAC International, Maryland. 2002.
- Cappanesi C, Palchetti I, Mascini M, Parenti A, Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. Food Chemistry. 2000; 71: 553–562.
- AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign, IL: American Oil Chemists' Society. 1993.
- Kyçyk O, Aguilera MP, Gaforio JJ, Jiménez A, Beltrán G. Sterol composition of virgin olive oil of forty three olive cultivars from the World Collection Olive Germplasm Bank of Cordoba. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2016; 96(12): 4143-4150.
- Yao X, Zhang D, Zu Y, Fu Y, Luo M, Gu C, et al. Free radical scavenging capability, antioxidant activity and chemical constituents of *Pyrola incarnata* Fisch. Leaves. Industrial Crops and Products. 2013; 49: 247–255.
- Jafari Z, Amiri Samani S, Jafari M. Insights into the bioactive compounds and physico-chemical characteristics of the extracted oils from *Urtica dioica* and *Urtica pilulifera*. SN Applied Sciences 2020; 2:416-423.
- Emad K, Sujitraj S, Wei W, Xingguo W. Effect of microwave heating on lipid composition, oxidative stability, color value, chemical properties, and antioxidant activity of gurma (*Citrullus lanatus* var. *Colocynthis*) seed oil. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2020; 23:101504.
- Straccia MC, Siano F, Coppola R, La Cara F, Volpe MG. Extraction and characterization of vegetable oils from cherry seed by different extraction processes. Chemical Engineering Transactions 2012; 27: 391-396.
- Feng SZ, Luo B, Tao C. Ultrasonic-assisted extraction and purification of phenolic compounds from Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) rinds. LWT - Food Science and Technology. 2015; 60(2): 970-976.
- Djaeni M, Listyadevi YL. The ultrasound-assisted extraction of rice bran oil with n-hexane as a solvent. The 3rd International Conference of Chemical and Materials

- Engineering, IOP Conf. Series: Journal of Physics 2019; Conf. Series 1295-012027.
23. Panchal B, Deshmukh S, Sharma M. Optimization of oil extraction and characterization from tamarindus indica Linn seed oil. International Journal of Oil, Gas and Coal Engineering. 2014; 2(1): 1-6.
 24. Zou YC, Xie GF, Gu Z, Han Y. Optimization of ultrasound-assisted extraction of melanin from *Auricularia auricula* fruit bodies. Innovative Food Science & Emerging Technologies. 2010; 11(4): 611-615.
 25. Jalili F, Jafari SM, Emamjomeh Z, Kashaninejad M, Ganjeh M. Optimization of canola oil extraction by ultrasound waves and response surface methodology. Journal of Food Technology and Nutrition. 2017; 4 (56): 67-78[in Persian].
 26. Dehghan TR, Aminifard MH, Bayat H, Karajian HV. Effect of ultrasound on extraction of carotenoids of lycopene and beta-caroten from chili pepper fruit and response surface optimization of extraction conditions. Journal of Food Technology and Nutrition. 2018; 72: 177-185[in Persian].
 27. Khodadoust S, Ahmadvandi F, Zeraat Pisheh F. Optimization of phenol and flavonoid extraction compound of *Adiantum capillsveneris* L. using ultrasound assisted extraction. Journal of Medicinal Plants. 2020; 19(17): 312-326[in Persian].
 28. Shakarchizadeh H, Goli AH, Deghighi H. Recovery and consideration the remained oil in the bleached soil in refining the soybean oil. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 2013; 9(1): 101-104.
 29. Marhamati MI, Kheirati KZ, Rezaie M. Advance in ultrasound-assisted extraction of edible oils: A review. Journal of Nutrition Fasting and Health 2020; 8(4): 220-230.
 30. Hadadi M, GHarachorloo M, Ghiassi B. Comparative Study of the Effects of Ultrasound and Microwave Treatments on Soybean Oil Extraction. Journal of Food Technology and Nutrition 2019; 16(63): 37-44.
 31. Basiri SH, Shahidi F, Kadkhodae R, Farhosh R. An investigation on the effect of ultrasound waves and pretreatment methods on the extraction of oil from pomegranate seeds. Journal of food Science and Technology Iran. 2011; 8(32): 115-122[in Persian].
 32. Zhang Li H, Zhi HD, Xia Y, Liu Q, Li X. Ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction of oil from perilla seeds and determination of its physicochemical properties, fatty acid composition and antioxidant activity. Food Science and Technology. 2017; 37 (1): 71-77.
 33. Dong W, Chen Q, Wei C, Hu R, Long Y, Zong Y, et al. Comparison of the effect of extraction methods on the quality of green coffee oil from Arabica coffee beans: Lipid yield, fatty acid composition, bioactive components, and antioxidant activity. Ultrason Sonochemistry. 2021; 74: 105578.
 34. Barbero GF, Liaqid A, Palma M, Barroso CG. Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. Talanta. 2008; 75:1332-1337.
 35. Shahi Chehragh AA, Raftani Amiri Z, Esmaeizadeh Kenari R. The effect of ultrasound-assisted extraction of oil from safflower oilseed and physicochemical properties of oil and meal produced. Journal of Food Science and Technology Iran. 2021; 18(119): 331-348[in Persian].
 36. Zanqui AB, Barros TV, Barão CE., Silva C, Cardozo-Filho L. Production of blends of edible oil and carrot carotenoids using compressed propane: Enhancement of stability and nutritional characteristics. The Journal of Supercritical Fluids. 2021; 171: 105189.
 37. Sun S, Zhao Y, Wang L, Tan Y, Shi Y, Sedjoah Ri, CAA, Shao Y, Li L, Wang M, Wan J, Fan X, Guo R, Xin Z. Ultrasound-assisted extraction of bound phenolic compounds from the residue of Apocynum venetum tea and their antioxidant activities, Food Bioscience. 2022; 47: 101646.
 38. Teng H, Chen L, Huang Q, Wang J, Lin Q, Liu M, et al. Ultrasonic-assisted extraction of raspberry seed oil and evaluation of its physicochemical properties, fatty acid compositions and antioxidant activities. PloSONE. 2016; 11(4): 1-17.
 39. Martinez-Sanchez C. Ultrasound-assisted extraction and characterization of Mexican *Moringa oleifera* seed oil: Identification of tocopherols and phytosterols using UPLC-APCI+MS/MS". Acta Scientific Nutritional Health. 2020; 6(1): 28-38.

Optimization of Ultrasound-assisted Extraction of Basil Seed Oil and Comparing the Physicochemical Characteristics of the Oil Using Conventional Solvent Extraction Method

Jafari M^{*1,2}, Torabian Dehkordi M³, Ramazani A⁴

- 1- **Corresponding author: Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Sharekord Branch, Islamic Azad University, Sharekord, Iran. E-mail: jafari.iaushk@yahoo.com*
- 2- *Assistant Professor, Research Center of Nutrition and Organic Products, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran*
- 3- *M.Sc. Graduate, Department of Food Science and Technology, Sharekord Branch, Islamic Azad University, Sharekord, Iran*
- 4- *PhD student, Department of Food Science and Technology, Najafabad Branch, Islamic Azad University, Najafabad, Iran*

Received 4 Sep, 2024

Accepted 8 Jan, 2025

Background and Objectives: Basil (*Ocimum basilicum* L.) belongs to Lamiaceae. Basil seeds are rich sources of essential fatty acids (ω_6 , ω_9). Ultrasound technology is an important method for the extraction of valuable compounds from plant sources. This study aimed to optimize extraction of basil seed oil using ultrasound and compare physicochemical characteristics of the oil using conventional Soxhlet method.

Materials and Methods: Response surface methodology was used to optimize basil seed oil extraction factors, including temperature (35, 45 and 55 °C), time (30, 60 and 90 min) and solvent-to-seed ratio (1:6, 1:8 and 1:10) using hexane and ultrasound waves. Then, acid and peroxide values, color indices, free radical scavenging activity (DPPH), phytosterols and fatty acid profile of the extracted oil were compared with those of conventional method of Soxhlet.

Results: Oil extraction yield increased by increasing time of the ultrasound extraction as well as at higher temperatures and solvent-to-seed ratios. Significant interaction effect ($p < 0.05$) observed between temperature and solvent-to-seed ratio for peroxide value and phenolic compound extraction was significantly affected by time and solvent-to-seed ratios. Ultrasound-extracted oil showed lower peroxide value and higher DPPH than that Soxhlet-extracted oil did, while no significant difference was observed in fatty acid compositions and phytosterol compounds.

Conclusion: In this study, the optimum conditions for ultrasound-assisted extraction of high quality oil from basil seeds were estimated as 55 °C, 90 min and 8.86:1 solvent-to-solid ratio. Ultrasound-assisted extraction is an effective method for the extraction of basil seed oil with minimal effects on physicochemical characteristics and no quantitative and qualitative effects on fatty acid profiles.

Keywords: Extraction, Ultrasound, Soxhlet, Basil seed oil, Response surface methodology