

مقاله پژوهشی

بهینه‌سازی فرآیند استخراج روغن از شاهدانه با پیش‌تیمار اهمیک

رضا اسماعیل‌زاده کناری^{۱*}، بهاره دهقان^۲

۱. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران

۲. دانش‌آموخته دکتری گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران

(تاریخ دریافت: ۹۹/۴/۸، تاریخ آخرین بازنگری: ۹۹/۴/۱۲، تاریخ پذیرش: ۹۹/۷/۶)

چکیده

شاهدانه از جمله گیاهان غنی از ترکیبات زیست فعال است. روغن شاهدانه به دلیل داشتن نسبت مناسبی از اسیدهای چرب غیراشباع امگا ۶ و امگا ۳ و نیز برخورداری از خواص مواد مغذی و دارویی بسیار، شناخته شده است. هدف از پژوهش حاضر، بهینه‌سازی پارامترهای استخراج روغن شاهدانه، جهت دستیابی به عملکرد بالاتر استخراج روغن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و کاهش شاخص رنگی و پراکسیدانی آن است. در این مطالعه، اثرات نسبت حلال هگزان به ایزوپروپانول ۷۰:۵۰ و ۱۰۰:۰، ولتاژ ۴۰، ۶۰ و ۸۰ V/cm، و زمان اهمیک ۵، ۱۰ و ۱۵ بر راندمان استخراج روغن، میزان فنول کل، درصد مهار رادیکال DPPH، پراکسید و شاخص رنگی روغن بررسی شد و بهینه‌یابی تیمارها با استفاده از روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن صورت گرفت. شرایط بهینه استخراج به صورت نسبت حلال هگزان به ایزوپروپانول تقریباً برابر با ۷۳ به ۲۷٪، زمان فرآیند ۸/۴۰ min و ولتاژ ۵۱/۶۱ V/cm به دست آمد. همچنین مقدار R² همه پاسخ‌ها بالای ۰/۹۶ بود که در نتیجه تأییدی بر مدل‌های مورد نظر بود.

کلیدواژه‌ها: شاهدانه، استخراج روغن، بهینه‌سازی، روش سطح پاسخ، اهمیک.

۱. مقدمه

یون‌ها بوده است و نمک سدیم کلرید، از متداول‌ترین منبع تأمین یون‌ها در این سیستم است. از مزایای فرآوری حرارت‌دهی اهمیت می‌توان به مواردی همچون راندمان و کارایی بیشتر در مقایسه با سایر روش‌های حرارت‌دهی مرسوم مانند مایکروویو، کاهش خطر رسوب، گرفتگی سطوح انتقال حرارت، سوختن ماده غذایی و بالاتر بودن یا برابر بودن سرعت گرم شدن در فاز جامد در مقایسه با فاز مایع، آسانی کنترل فرآیند از طریق روشن و خاموش کردن سریع سیستم، امکان حرارت‌دهی جریان پیوسته‌ای از مواد غذایی بدون نیاز به سطوح انتقال حرارت، هزینه تعمیرات و نگهداری پایین، به‌علت وجود نداشتن بخش‌های متحرک و مناسب برای فرآوری مواد غذایی با ویسکوزیته بالا و مواد حساس به برش اشاره کرد [۸].

در بررسی‌های انجام شده توسط لویی مایی و همکاران (۲۰۱۵) نتایج نشان داد، روغن استخراجی از سبوس برنج تحت پیش‌تیمار اهمیت، نسبت به پیش‌تیمار با بخار دارای بهترین کیفیت شیمیایی با کمترین مقدار اسیدچرب آزاد، بالاترین سطح گاما اوریزانول و در نتیجه بالاتر بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بود [۹]. کوماری و همکاران (۲۰۱۶) به‌منظور بهینه‌سازی فرآیند استخراج روغن از دانه‌های کنجد با فرآیند حرارت‌دهی اهمیت از سه فاکتور زمان (۵، ۱۰ و ۱۵ min)، قدرت میدان الکتریکی (۶۰۰ V/m، ۷۵۰ و ۹۰۰) و دما (۶۵°C، ۷۵ و ۸۵) استفاده کردند و نتایج نشان داد اثر حرارت‌دهی اهمیت باعث افزایش بازده استخراج روغن شد. همچنین میزان اسیدهای چرب آزاد و اندیس پراکسید روغن‌ها افزایش یافت؛ ولی شاخص روشنایی یا میزان (L) در نمونه‌ها کمی کاهش یافت [۱۰].

با توجه به اینکه تاکنون هیچ‌گونه پژوهشی در زمینه بهینه نمودن استخراج روغن از شاهدانه با پیش‌تیمار اهمیت صورت نگرفته است، پژوهش حاضر سعی دارد تأثیر اهمیت بر تعدادی از خصوصیات روغن استخراج شده از شاهدانه را بررسی کند.

شاهدانه^۱ از جمله گیاهانی غنی از ترکیبات زیست فعال است [۱] که با بیش از ۴۸۰ ترکیب، به طبقات مختلف فتوشیمیایی تقسیم می‌شود که در این میان کاناบินوئیدها اغلب طبقه مورد مطالعه هستند [۲]. شاهدانه و محصولات حاصل از آن، مانند روغن خوراکی، علاوه بر ارزش غذایی، اثرات مثبتی بر کلسترول خون، تری‌گلیسیریدها، فشار خون و مراقبت از درماتیت نشان داده‌اند. دانه شاهدانه به‌طور متوسط دارای ۲۵-۲۰٪ پروتئین، ۳۰-۳۵٪ روغن، ۱۵-۱۰٪ فیبر نامحلول و ۲۵٪ کربوهیدرات است [۳]. میزان ترکیبات غیرصابونی روغن شاهدانه ۱-۳٪ است که شامل استرول‌ها، ۴- متیل‌استرول‌ها، تری‌ترین‌الکل‌ها، توکوفرول‌ها و هیدروکربن‌ها است [۴]. در روغن شاهدانه دو اسید چرب ضروری، یعنی لینولئیک‌اسید، به میزان ۷۰-۵۰٪ و آلفالینولئیک‌اسید به میزان ۲۵-۱۵٪ وجود دارد که نسبت لینولئیک‌اسید به آلفالینولئیک‌اسید، تقریباً برابر با ۳ به ۱ است؛ به عبارتی بهترین نسبت از نظر تغذیه‌ای برای سلامت بدن محسوب می‌شود [۵].

در فناوری استخراج روغن، تیماردهی مناسب دانه قبل از استخراج یکی از مهم‌ترین و ضروری‌ترین مراحل برای تولید محصولی با کیفیت و راندمان بالاست [۶]؛ بنابراین اخیراً تکنیک استخراج با پیش‌تیمار روش‌های نوین در این زمینه مورد توجه قرار گرفته است. در این روش‌ها سعی شده تا فرآیند استخراج با سهولت و اثربخشی بیشتری انجام شود، به طوری که مصرف حلال، زمان و دمای استخراج کاهش و در عین حال بازدهی استخراج افزایش یابد و فرآیند از لحاظ هزینه مقرون به‌صرفه شود [۷].

اساس فرآیند حرارت‌دهی اهمیت بر مبنای عبور جریان متناوب الکتریکی از مواد غذایی و در پی آن تولید حرارت در مواد غذایی است که در پی مقاومت ذرات غذا در برابر عبور جریان الکتریکی رخ می‌دهد. در واقع می‌توان گفت در حرارت‌دهی اهمیت، مواد غذایی بخشی از یک مدار الکتریکی را تشکیل می‌دهند. اساس کار در طول فرآیند اهمیت، بر مبنای انتقال جریان الکتریکی به‌واسطه حضور

1. Cannabis sativa L.

۲. مواد و روش‌ها**۲.۱. تهیه و آماده‌سازی نمونه**

شاهدانه صنعتی فاقد تتراهیدروکانابینول (THC-Δ9) (واریتته خراسان، با ۳۴/۱٪ روغن و محتوای رطوبتی ۷/۵٪) که به ترتیب به روش سوکسله و آون‌گذاری به‌دست آمد) از مغازه عطاری شهرستان آمل فراهم شد. آماده‌سازی آن شامل تمیزکردن و الک کردن دانه‌ها بود [۱۱].

۲.۲. اعمال پیش‌تیمار اهمیتیک

یک سیستم گرمایش اهمی مدل آزمایشگاهی برای انجام آزمایشات استفاده شد. مقدار رطوبت دانه شاهدانه تا ۳۵٪ با افزودن مقدار آب مورد نیاز، افزایش یافت. دانه شاهدانه در ظرف پیش گرم‌کن اهمیتیک قرار گرفت. سپس تحت‌تأثیر حرارت‌دهی اهمیتیک با سه ولتاژ ۴۰، ۶۰ و ۸۰ V/cm و سه زمان مختلف ۵، ۱۰ و ۱۵ min قرار گرفت [۱۰]. سپس برای استخراج روغن با حلال ابتدا دانه‌ها در سایه تا میزان رطوبت ۱۰-۱۲٪ خشک شدند.

۳.۲. استخراج روغن با حلال

دانه‌های پیش‌تیمار شده با اهمیتیک آسیاب‌شده، سپس ۵۰ g از شاهدانه آسیاب‌شده با ۱۵۰ ml حلال‌های مختلف، هم چون هگزان، ایزوپروپانول، مخلوط ۱:۱ هگزان- ایزوپروپانول، مخلوط و با دستگاه شیکر با سرعت ۱۵۰ rpm، به مدت ۱۲۰ min هم‌زده شد. در پایان مرحله استخراج، مایع استخراجی توسط پارچه صافی از بقایای جامد جداسازی شد. مواد جامد باقی‌مانده دو بار توسط حلال مربوطه شسته و محلول جمع‌آوری شده به مدت ۵ min، با دور ۴۰۰۰ rpm، سانتریفیوژ شد. این عمل باعث ته‌نشینی ذرات جامد باقی‌مانده در محلول شد. سپس با تبخیرکننده چرخان تحت خلاء (مدل IKA RV-10, German) در دمای ۳۷ °C تغلیظ شد. روغن به دست آمده پس از توزین، در شیشه‌های آزمایشگاهی و در فریزر ۱۸ °C-، برای انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد [۱۲].

۴.۲. راندمان روغن‌کشی

برای مشخص کردن راندمان استخراج روغن، ابتدا وزن دانه مصرف شده برای روغن‌کشی و وزن روغن حاصل از آن تعیین و سپس با استفاده از معادله زیر میزان آن به دست می‌آید: [۱۳]

$$(1) \quad \text{راندمان روغن‌کشی (\%)} = \frac{\text{وزن دانه‌های اولیه} / \text{وزن روغن حاصله (g)}}{100} \times 100$$

۵.۲. اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV)

اندازه‌گیری عدد پراکسید به روش یدومتری برای ارزیابی محصولات اولیه اکسیداسیون، مطابق با روش مقصودلو و همکاران (۲۰۱۷) انجام شد. ابتدا ۵ g روغن در داخل ارلن مایر توزین شد و سپس ۳۰ ml مخلوط اسیداستیک - کلروفرم (با نسبت ۲:۳) به آن افزوده، ۰/۵ ml یدور پتاسیم اشباع نیز اضافه شده و 1 min در تاریکی قرار داده شد. سپس ۳۰ ml آب مقطر و در نهایت ۰/۵ ml معرف چسب نشاسته اضافه شد. تیتراسیون نمونه با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تا بی‌رنگ شدن نمونه انجام شد. عدد پراکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۱۴]

$$(2) \quad PV =$$

$$\frac{\text{مقدار میلی لیتر مصرفی تیوسولفات سدیم} \times \text{نرمالیت تیوسولفات سدیم}}{\text{وزن نمونه بر حسب گرم}} \times 1000$$

۶.۲. ترکیبات فنلی کل

جهت اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنلی، ۲/۵ g نمونه روغن در ۲/۵ ml حلال هگزان حل و به مدت ۱ min ورتکس شد. استخراج ترکیبات فنلی با انجام سه بار افزودن ۲/۵ ml محلول متانول- آب، به نسبت ۸۰ به ۲۰ v/v، به روغن و به‌وسیله سانتریفیوژ با سرعت ۵۰۰۰ rpm دور در دقیقه به مدت ۵ min، انجام شد. سپس نمونه‌ها به بالن حجمی ۵۰ ml منتقل شده و به آن ۲/۵ ml محلول فولین سیوکالتیو و ۵ ml سدیم کربنات ۷/۵٪ افزوده شد. در نهایت با آب مقطر، به حجم ۵۰ ml رسانده شد. نمونه‌ها در طول شب نگهداری شدند و جذب نمونه‌ها با اسپکتروفتومتری، در محدوده ۷۶۵ nm خوانده شد [۱۵].



۷.۲. فعالیت مهار رادیکال‌های DPPH

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی با این روش، ۰/۱ ml نمونه روغن شاهدانه با ۲/۹ ml محلول متانولی تازه DPPH (۶۰ μM) مخلوط شد. مخلوط مورد نظر بعد از عمل شیکر در یک مکان تاریک و در دمای اتاق به مدت ۳۰ min قرار گرفتند. جذب نمونه‌ها با اسپکتروفتومتری در محدوده ۵۱۷ nm خوانده شد. درصد مهار رادیکال با فرمول زیر محاسبه شد [۱۶].

$$\% \text{Inh} = \left(1 - \frac{\text{Abs}_{\text{sample}}}{\text{Abs}_{\text{control}}}\right) \times 100 \quad (3)$$

که در آن % Inh درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH، Abs_{sample} میزان جذب نمونه و Abs_{control} میزان جذب کنترل می‌باشد.

۸.۲. تعیین شاخص رنگی

برای سنجش رنگ روغن که مخلوطی از رنگ‌هاست، از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. سپس از رابطه زیر برحسب رنگ زرد لایویناند، مقدار رنگ روغن اندازه‌گیری شد [۱۷]:

$$\text{شاخص رنگی} = \quad (4)$$

$$1.29 A_{460} + 69.7 A_{550} + 41.2 A_{620} - 56.4 A_{670}$$

که در آن، A₄₆₀، A₅₅₀، A₆₂₀، A₆₇₀ میزان جذب نور روغن را در طول موج‌های ۴۶۰، ۵۵۰، ۶۲۰ و ۶۷۰ nm می‌باشد.

۹.۲. آنالیز آماری

روش سطح پاسخ، جهت یافتن حالت بهینه برهم‌کنش فاکتورها و برآورد بهترین شرایط بهینه فرآیند با کمترین تعداد آزمایش، قابل اجرا است. نرم‌افزار RSM تأثیر متغیرهای مستقل را به تنهایی یا با هم بر روی فرآیندها تعریف می‌کند. در این پژوهش، اثر متغیرهای مستقل شامل نسبت حلال هگزان به ایزوپروپانول (A)، ولتاژ (B) و زمان (C) بر روی متغیرهای پاسخ از جمله راندمان استخراج (Y₁)، میزان فنل کل (Y₂)، درصد مهار رادیکال DPPH (Y₃)، پراکسید (Y₄) و شاخص رنگی (Y₅) روغن مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر گذشته و واقعی متغیرهای مستقل مورد استفاده در این فرآیند در جدول (۱) نشان داده شده است. برای تجزیه و تحلیل آماری، از طرح باکس بنکن، شامل ۱۵ آزمایش با ۳ تکرار، برای محاسبه تکرارپذیری فرآیند، به کار گرفته شد که تیمارهای اعمالی و متغیرهای پاسخ به دست آمده در جدول (۲) ارائه شده است. در نهایت متغیرهای پاسخ به دست آمده برازش شده و بهترین شرایط انتخاب شد. آنالیز آماری توسط نرم‌افزار Design Expert نسخه ۷ صورت گرفت. معنی‌داری ضرایب معادله با استفاده از R² و اصلاح شده و آزمون عدم برازش مورد بررسی قرار گرفت که نتایج معنی‌داری در جدول (۳) ارائه شده است.

جدول (۱) نمایش سطوح گذشته و واقعی متغیرهای مستقل

Table 1. Displays the coded and actual levels of the independent variables

سطوح Levels			واحد Unit	نماد Symbol	متغیرهای مستقل Independent variables
-1	0	+1			
0:100	50:50	100:0	v/v %	A	نسبت حلال (ایزوپروپانول:هگزان) Solvent ratio (hexane: isopropanol)
40	60	80	V/cm	B	ولتاژ Voltage
5	10	15	min	C	زمان Time

جدول (۲) متغیرهای مستقل و پاسخ‌های ارزیابی شده با استفاده از طرح باکس‌بنکن

Table 2. Independent variables and responses assessed using the Box Banking design

		پاسخ‌ها Responses			متغیرهای مستقل Independent variables			تیمار Run
بازده روغن Oil yield (%)	فنول کل Total phenol (mg GAE/g)	بازداری DPPH DPPH (%inhibition)	پراکسید Peroxide (meq/kg)	شاخص رنگی Color index	نسبت حلال Solvent ratio (v/v%)	ولتاژ Voltage (V/cm)	زمان Time (min)	
22.8	3.17	74	9.3	123.4	0	60	10	1
20.8	2.73	67.8	7.6	132.9	-1	80	10	2
21.1	2.42	65.6	6	112.5	0	40	15	3
20.2	2.65	63	5.1	35.2	0	40	5	4
22.4	3.1	73.1	8.7	113.9	0	60	10	5
23	2.14	54	10.2	4	1	60	15	6
21.3	2.07	56.7	5.9	-4	1	40	10	7
20	3.27	74.3	5.5	127.1	-1	40	10	8
23.5	1.95	51	11.7	1.1	1	80	10	9
22.5	3.2	73.5	8.5	121	0	60	10	10
20.6	2.9	70.1	6.3	131.4	-1	60	5	11
23.7	2.3	57.2	11.1	125	0	80	15	12
20.5	3	72.4	7.3	134.1	-1	60	15	13
22	2	52.9	6.8	-38	1	60	5	14
21.6	2.23	59.2	8.2	105.3	0	80	5	15

جدول (۳) نتایج آنالیز واریانس برای متغیرهای مستقل در استخراج روغن شاهدانه
Table 3. Results of ANOVA for Independent Variables in Cannabis Oil Extraction

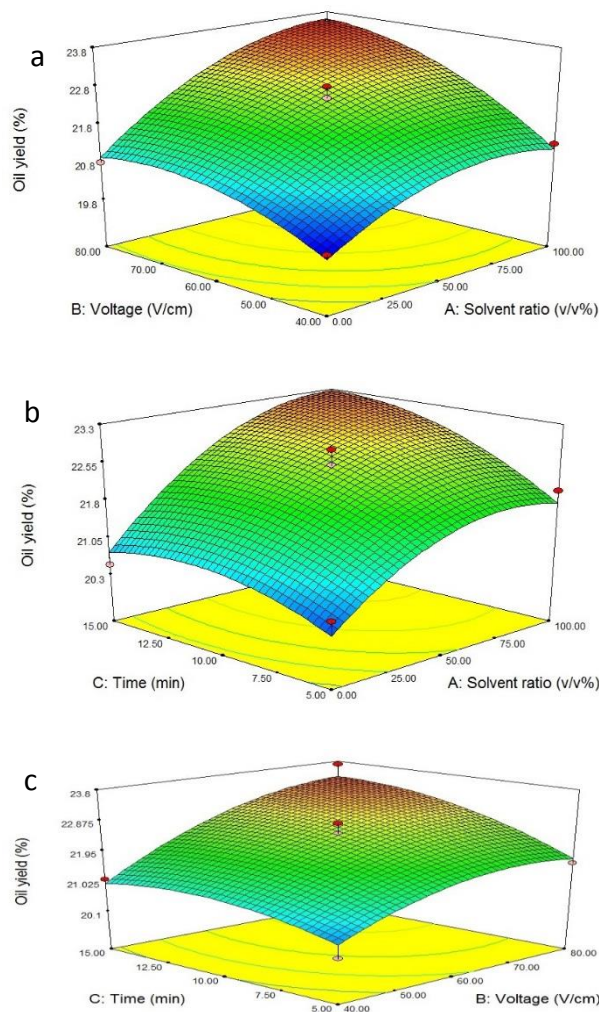
بازده روغن Yield extraction (%)		فنول کل Total Phenol (mg GAE/g)		بازداری DPPH (%DPPH inhibition)		پراکسید (meq/kg) Peroxide Value		شاخص رنگی Color index		منبع Source
مجموع مربعات Adj. SS	ضریب احتمال P-value	مجموع مربعات Adj. SS	ضریب احتمال P-value	مجموع مربعات Adj. SS	ضریب احتمال P-value	مجموع مربعات Adj. SS	ضریب احتمال P-value	مجموع مربعات Adj. SS	ضریب احتمال P-value	
19.71	0.0046	3.15	0.0002	1016.6	< 0.0001	57.89	0.0002	52766.8	0.0013	مدل
7.80	0.0008	1.75	< 0.0001	612.50	< 0.0001	7.80	0.0004	39536.7	< 0.0001	حلال (A) Solvent
6.12	0.0015	0.18	0.0034	74.42	< 0.0001	32.40	< 0.0001	1092.7	0.0861	ولتاژ (B) Voltage
1.90	0.0168	8.000E-04	0.7423	2.00	0.0528	8.41	0.0003	2509.8	0.0231	زمان (C) Time
0.49	0.1334	0.044	0.0494	0.16	0.5068	3.42	0.0026	0.12	0.9829	AB
0.30	0.2185	4.000E-04	0.8156	0.36	0.3328	1.44	0.0155	386.1	0.2606	AC
0.36	0.1854	0.022	0.1246	5.29	0.0093	1.00	0.0300	829.4	0.1222	BC
1.54	0.0247	0.27	0.0014	92.00	< 0.0001	1.13	0.0240	7776.1	0.0023	A ²
1.00	0.0506	0.54	0.0003	137.02	< 0.0001	1.35	0.0175	317.0	0.3025	B ²
0.58	0.1093	0.52	0.0003	141.55	< 0.0001	1.46	0.0150	906.2	0.1097	C ²
0.76		0.033		1.5		0.55		1200.7		باقی مانده (Residual)
0.68	0.1652	0.028	0.2288	1.16	0.3629	0.21	0.7709	1151.9	0.0603	عدم برازش (Lack of Fit)
0.087		5.267E-03		0.41		0.35		48.81		خطای کل (Pure Error)
20.47		3.19		1018.1		58.44		53967		کل (Core Total)
1.80		3.12		0.87		4.22		18.9		CV
0.9627		0.9896		0.9985		0.9905		0.9778		R ²
0.8950		0.9709		0.9957		0.9735		0.9377		R ² -adj

۳. نتایج و بحث

۱.۳. تأثیر اهمیک بر راندمان استخراج روغن

مطابق نتایج آنالیز واریانس در جدول (۳)، تمامی اثرات خطی (A, B, C)، عبارات درجه دوم (A^2, B^2) دارای اثر معنی‌داری ($p < 0.05$) بر میزان استخراج روغن بودند، در حالی که اثرات متقابل بین فاکتورها (AB, AC, BC) و اثر درجه دوم (C^2) اثر معنی‌داری نداشتند ($P > 0.05$). مطابق شکل (۱)، نوع حلال نیز در میزان استخراج روغن از شاهدانه مؤثر بوده است؛ به طوری که استخراج روغن با حلال هگزان بهتر از ایزوپروپانول بود. هرچند بازده استخراج روغن

شاهدانه با حلال ترکیبی هگزان - ایزوپروپانول بهتر از هگزان و ایزوپروپانول تنها بود. لی گزارش داد که تمایل بین ترکیبات چربی دوست و حلال، در صورت استفاده از حلال ترکیبی، بیشتر از حلال هگزان و ایزوپروپانول تنها است [۱۸]. با افزایش ولتاژ و زمان اهمیک، میزان راندمان استخراج روغن افزایش یافت. با طولانی‌تر شدن فرآیند، متعاقباً دیواره‌های سلولی بیشتری تخریب شده و سطح تماس بین دانه روغنی و حلال توسعه می‌یابد که خروج بیشتر روغن از ساختمان جامد و بالا رفتن میزان استخراج را به همراه دارد [۱۹].



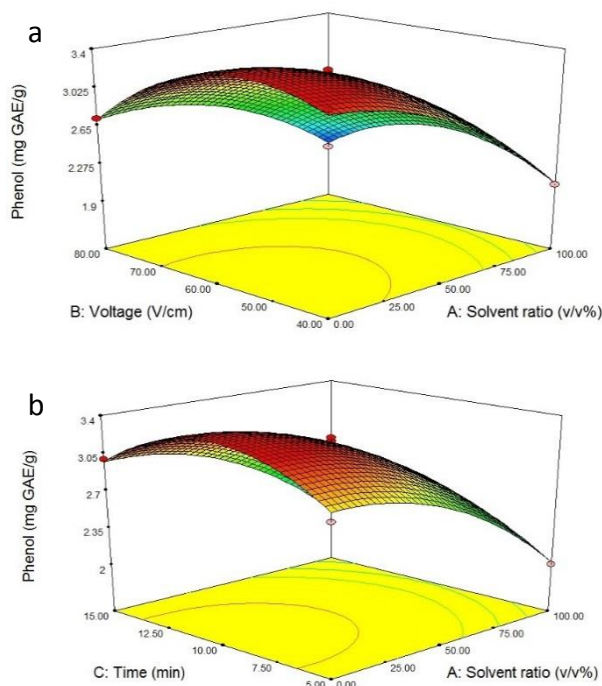
شکل (۱) نمودارهای سه‌بعدی تأثیر (الف) نسبت حلال و ولتاژ، (ب) نسبت حلال و زمان، (ج) زمان و ولتاژ بر بازده استخراج روغن

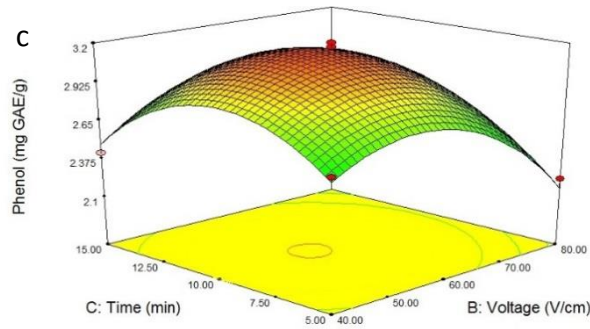
Fig 1. Response surface plots for the effect of (a) solvent ratio and voltage (b) solvent ratio and time and (c) time and voltage on the oil extraction yield (%).

۲.۳. تأثیر اهمیت بر فنول کل روغن

می‌توانند منجر به تفاوت‌هایی در پروفایل ترکیبات فنلی و در نهایت منجر به تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیب موردنظر شوند. حلال ایزوپروپانول (قطبی) برخلاف هگزان (غیرقطبی) توانایی بیشتری در استخراج بیشتر ترکیبات فنلی (قطبی) از خود نشان داد. در واقع بخش بیشتری از ترکیبات فنلی قطبی ممکن است مطابق با نظریه «شبيه، شبيه را در خود حل می‌کند»، استخراج شود [۱۶]. با افزایش ولتاژ و زمان فرآیند اهمیت، سطح تماس بین حلال و ماده جامد توسعه می‌یابد که خود باعث تخریب بیشتر دیواره‌های سلولی و در نتیجه انتقال بیشتر جرم می‌شود. این به معنای انتشار بیشتر ترکیبات فنلی به حلال است [۲۲]؛ ولی با شدت بیشتر این دو متغیر، میزان ترکیبات فنلی کاهش یافت که این امر، به علت اثر تخریبی شدت بالای ولتاژ و قرار گرفتن طولانی ترکیبات فنلی در معرض گرما است.

ترکیبات فنولی متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که به طور گسترده در سراسر گیاه پخش شده‌اند. این ترکیبات خواص ضداکسایشی خوبی داشته و غالباً در میوه‌ها و سبزی‌ها یافت می‌شوند. مهم‌ترین عملکرد این ترکیبات، از نظر اکسایش، غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد و تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی است [۲۰]. مطابق جدول (۳)، در مدل مربوط به فنول، برخی مؤلفه‌های خطی (A و B)، اثر متقابل (AB) و تمام مؤلفه‌های درجه دوم (A^2 , B^2 و C^2) معنی‌دار بود ($p < 0.05$)؛ اما اثر خطی زمان (C) و اثرات متقابل متغیرها (AC و BC) معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). مطابق شکل (۲)، مشاهده می‌شود که با افزایش نسبت هگزان به ایزوپروپانول، میزان فنول کل روغن شاهدانه کاهش یافته است. به عبارتی، قطبیت حلال می‌تواند ترکیبات فنلی استخراج‌شده را تحت تأثیر قرار دهد [۲۱]. حلال‌های مختلف

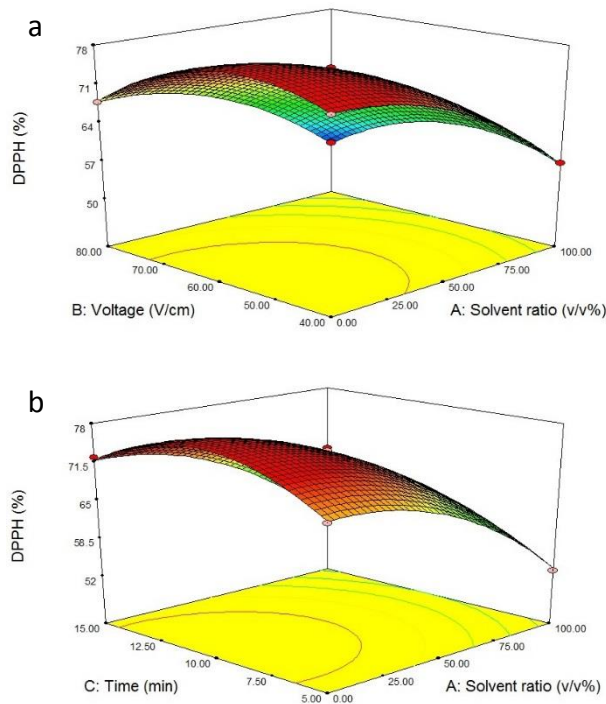


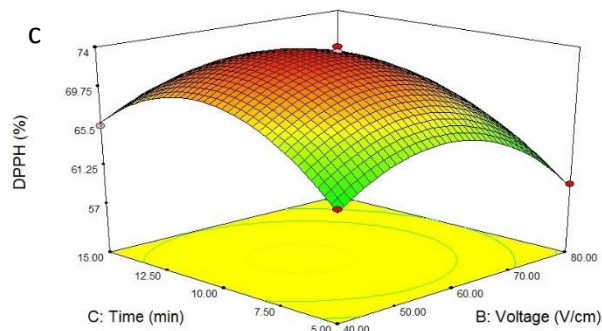


شکل (۲) نمودارهای سه‌بعدی تأثیر (الف) نسبت حلال و ولتاژ، (ب) نسبت حلال و زمان، (ج) زمان و ولتاژ بر میزان فنول کل روغن
Fig 2. Response surface plots for the effect of (a) solvent ratio and voltage (b) solvent ratio and time and (c) time and voltage on the total phenolic content (TPC).

۳.۳. تأثیر اهمیک بر توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH
 مطابق جدول (۳)، تمامی مؤلفه‌ها (بجز اثر خطی زمان و اثر متقابل AB, AC بر میزان مهار رادیکال DPPH معنی‌دار بود ($p < 0.05$). متغیر نوع حلال با داشتن بیشترین ضریب (۸/۷۵)، در نتیجه بیش‌ترین اثرگذاری را بر میزان DPPH داشت (جدول ۴). نتایج نشان داد که استفاده از حلال ایزوپروپانول (قطبی) نسبت به حلال هگزان (غیرقطبی) به دلیل استخراج بیشتر ترکیبات فنولی باعث افزایش میزان

DPPH روغن شد. مطابق شکل (۳)، با افزایش ولتاژ و زمان اهمیک فعالیت آنتی‌اکسیدانی افزایش یافت. علت افزایش فعالیت مهار رادیکال DPPH، در نتیجه افزایش ولتاژ و زمان اهمیک، منجر به افزایش انتشار فنل‌ها و همچنین ترکیبات اضافی با فعالیت زیستی به روغن می‌شود [۹]؛ اما در زمان‌های طولانی به دلیل اکسیداسیون ترکیبات حساس فنولیک و همچنین به علت افزایش استخراج ناخالصی‌ها، از فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاسته شد.



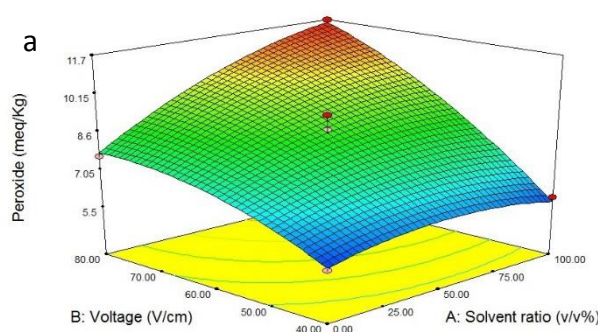


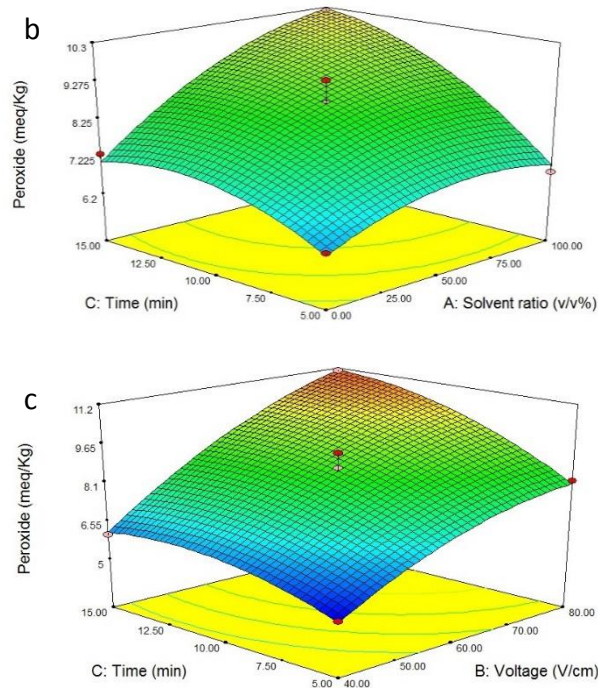
شکل (۳) نمودارهای سه بعدی تاثیر (الف) نسبت حلال و ولتاژ، (ب) نسبت حلال و زمان، (ج) زمان و ولتاژ بر مهار رادیکال آزاد DPPH
Fig 3. Response surface plots for the effect of (a) solvent ratio and voltage (b) solvent ratio and time and (c) time and voltage on the DPPH scavenging activity.

۲). مطابق نتایج حاضر، Cisse و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که مقدار پراکسید روغن حاصل از حلال قطبی (استون)، کمتر از روغن حاصل از حلال غیرقطبی (هگزان) بود که علت آن را به حضور بیشتر آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی، مانند توکوفرول‌ها، استرول‌ها و ترکیبات فنولیک موجود در روغن، در نتیجه استفاده از حلال قطبی، نسبت دادند [۲۴]. مطابق شکل (۴)، با افزایش ولتاژ و زمان اهمیت، میزان پراکسید روغن افزایش یافت. این امر ممکن است به دلیل افزایش ولتاژ و در نتیجه، افزایش دما باشد که منجر به افزایش اکسیداسیون روغن می‌شود. در واقع افزایش پراکسید، در پی افزایش زمان و ولتاژ اهمیت می‌تواند به رادیکال‌های فعالی مربوط باشد که به علت در معرض قرارگرفتن روغن با امواج الکتریکی، تشکیل شده‌اند.

۴.۳. تأثیر اهمیت بر پراکسید روغن

با توجه به تجزیه واریانس (جدول ۳)، تمامی پارامترهای خطی، درجه دوم و اثرات متقابل پارامترها اثر معنی‌داری بر میزان پراکسید روغن داشت ($p < 0.05$). این اثرگذاری از نوع مثبت بود (جدول ۴)، به این صورت که با افزایش فاکتورهای موردنظر، میزان پراکسید روغن افزایش یافت. بیشینه مجاز پراکسید برای روغن‌ها و چربی‌های گیاهی تولید شده و برای انتهای مصرف یعنی پایان دوره نگهداری روغن‌ها و چربی‌های گیاهی ۵ meq O₂/Kg است [۲۳]. مطابق جدول (۲)، عدد پراکسید روغن‌های استخراجی بیشتر از ۵ بود. در صورت استفاده از حلال هگزان، میزان پراکسید روغن کمی افزایش داشت، ولی در صورت استفاده از ایزوپروپانول به صورت تنها و یا مخلوط با هگزان میزان پراکسید روغن کمتر بود (جدول



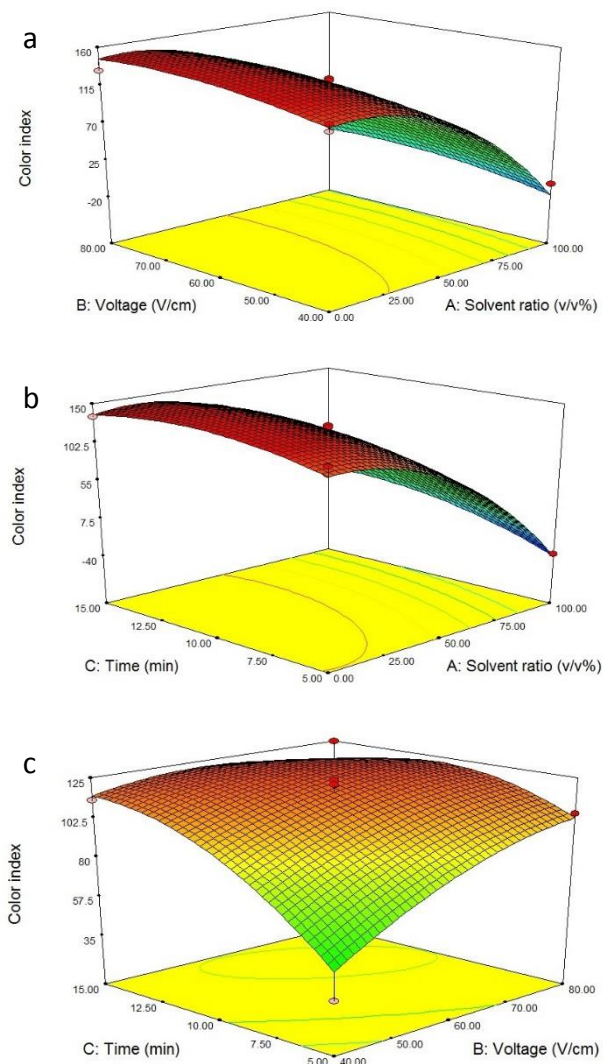


شکل (۴) نمودارهای سه‌بعدی تأثیر (الف) نسبت حلال و ولتاژ، (ب) نسبت حلال و زمان، (ج) زمان و ولتاژ بر میزان پراکسید روغن
Fig 4. Response surface plots for the effect of (a) solvent ratio and voltage (b) solvent ratio and time and (c) time and voltage on the peroxide value.

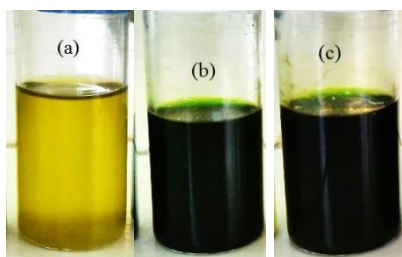
۵.۳. تأثیر اهمیتیک بر رنگ روغن

حلال ایزوپروپانول به صورت تنها و یا در ترکیب با هگزان، رنگ روغن به سبز تیره شاهدانه، ناشی از وجود رنگدانه‌های متعدد کلروفیل a و b در روغن است. همچنین کاروتنوئیدها نیز علاوه بر کلروفیل، در روغن شاهدانه وجود دارند؛ به عبارتی کلروفیل و کاروتنوئید، دو رنگدانه مهم موجود در روغن شاهدانه هستند. مطابق جدول (۳)، تنها اثر خطی نسبت حلال (A)، زمان (C) و اثر درجه دوم نوع حلال (A^2) بر شاخص رنگی روغن معنی‌دار بود ($p < 0.05$). مطابق شکل (۵)، با افزایش نسبت حلال هگزان به ایزوپروپانول، میزان شاخصی رنگی روغن با شیب زیادی کاهش یافت؛ یعنی در یک زمان (۱۵ min) و ولتاژ (۶۰ V/cm) یکسان، میزان شاخص رنگی روغن حاصل از حلال ایزوپروپانول (۱۳۴/۱) بیشتر از هگزان (۴) بود (جدول ۲). مطابق شکل (۶)، روغن استخراجی با حلال هگزان به رنگ زرد است، اما با استفاده از

حلال ایزوپروپانول به صورت تنها و یا در ترکیب با هگزان، رنگ روغن به سبز تیره شاهدانه، ناشی از وجود رنگدانه‌های متعدد کلروفیل a و b در روغن است. همچنین کاروتنوئیدها نیز علاوه بر کلروفیل، در روغن شاهدانه وجود دارند؛ به عبارتی کلروفیل و کاروتنوئید، دو رنگدانه مهم موجود در روغن شاهدانه هستند. مطابق جدول (۳)، تنها اثر خطی نسبت حلال (A)، زمان (C) و اثر درجه دوم نوع حلال (A^2) بر شاخص رنگی روغن معنی‌دار بود ($p < 0.05$). مطابق شکل (۵)، با افزایش نسبت حلال هگزان به ایزوپروپانول، میزان شاخصی رنگی روغن با شیب زیادی کاهش یافت؛ یعنی در یک زمان (۱۵ min) و ولتاژ (۶۰ V/cm) یکسان، میزان شاخص رنگی روغن حاصل از حلال ایزوپروپانول (۱۳۴/۱) بیشتر از هگزان (۴) بود (جدول ۲). مطابق شکل (۶)، روغن استخراجی با حلال هگزان به رنگ زرد است، اما با استفاده از



شکل (۵) نمودارهای سه‌بعدی تأثیر (الف) نسبت حلال و ولتاژ، (ب) نسبت حلال و زمان، (ج) زمان و ولتاژ بر شاخص رنگی روغن
Fig 5. Response surface plots for the effect of (a) solvent ratio and voltage (b) solvent ratio and time and (c) time and voltage on the color index.



شکل (۶) روغن شاهدانه استخراج شده با حلال (الف) هگزان، (ب) مخلوط هگزان-پروپانول، (ج) پروپانول
Fig 6. The extracted hemp seed oil with hexane (a), mixture of hexane and propanol (b), and propanol (c).

۶.۳. شرایط بهینه متغیرهای استخراج

ایزوپروپانول به صورت تقریبی برابر با ۷۳ به v/v ۲۷ باشد (جدول ۵). تحت شرایط مذکور، مطلوبیت ۰/۶ حاصل شد. مقادیر ضریب تبیین (R^2) نشانگر این است که مدل به دست آمده برای هر پاسخ چند درصد از تغییرات را می‌تواند تشریح کند که هر چه این مقدار به ۱ نزدیک‌تر باشد، مدل بهتر پاسخ را پیش‌بینی می‌کند و بالا بودن R^2 نشان‌دهنده صحت مدل است. مقدار R^2 همه پاسخ‌ها بالای ۰/۹۶ بود که در نتیجه تأییدی بر مدل‌های مورد نظر بود. همچنین ضریب تغییرات (CV) نشان‌دهنده قابلیت پراکندگی داده‌هاست که مقادیر کم آن نشان از قابلیت اعتماد به آزمایش‌ها و کارهای عملی است (جدول ۳).

بهینه سازی استخراج روغن از شاهدانه با پیش‌تیمار اهمیت، به منظور حصول حداکثر بازده استخراج روغن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و حداقل میزان پراکسید و شاخص رنگی، در سه سطح مختلف ولتاژ ۴۰ V/cm تا ۸۰، زمان min ۵ تا ۱۵ و حلال‌های مختلف مانند هگزان، ایزوپروپانول و مخلوطی برابر از هگزان-ایزوپروپانول انجام شد. مدل پیشنهاد شده برای پاسخ‌های مورد نظر در جدول (۴) نمایش داده شده است. نتایج نشان داد که به منظور رسیدن به اهداف ذکر شده، بایستی زمان فرآیند اهمیت ۸/۴۰ min دقیقه، ولتاژ ۵۱/۶۱ V/cm و نسبت حلال هگزان به

جدول (۴) مدل پیشنهاد شده برای پاسخ‌های مورد نظر

Table 4. Proposed model for desired responses

معادلات Equation	پاسخ‌ها Responses
$Y = 22.57 + 0.99A + 0.87B + 0.49C + 0.35AB + 0.28AC + 0.3BC - 0.65A^2 - 0.52B^2 - 0.40C^2$	بازده روغن Oil yield
$Y = 3.16 - 0.47A - 0.15B + 0.01C + 0.1AB + 0.01AC + 0.075BC - 0.27A^2 - 0.38B^2 - 0.38C^2$	فنل Phenol
$Y = 73.53 - 8.75A - 3.05B + 0.5C + 0.2AB - 0.3AC - 1.15BC - 4.99A^2 - 6.09B^2 - 6.19C^2$	DPPH
$Y = 8.83 + 0.99A + 2.01B + 1.03C + 0.93AB + 0.6AC + 0.5BC - 0.55A^2 - 0.6B^2 - 0.63C^2$	پراکسید Peroxide
$Y = 119.43 - 70.3A + 11.69B + 17.71C - 0.17AB + 9.83AC - 14.4BC - 45.89A^2 - 9.27B^2 - 15.67C^2$	شاخص رنگی Color index

جدول (۵) بهینه‌سازی استخراج در شرایط متفاوت عملیاتی فرآیند

Table 5. Optimization of extraction in different conditions of the process

مطلوبیت Disability	شاخص رنگی Color index	پراکسید Peroxide (meq/kg)	بازداری DPPH Inhibition (%)	فنل Phenol (mg GAE/g)	بازده روغن Oil yield (%)	زمان Time (min)	ولتاژ Voltage (V/cm)	نسبت حلال (هگزان): ایزوپروپانول) Solvent ratio (hexane: propanol) (v/v%)
0.59	60.42	7.62	67.73	2.82	22.16	8.40	51.61	72.92: 27.08

۴. نتیجه‌گیری

مراحل تولید محصولی با کیفیت، با راندمان بالا محسوب می‌شود، از این رو تحقیق حاضر درصدد است اثر فرآیند اهمیت بر خصوصیات روغن شاهدانه استخراجی را مورد

با توجه به اینکه در فرآیند استخراج روغن، تیماردهی مناسب دانه قبل از استخراج، یکی از مهم‌ترین و ضروری‌ترین

ولی با افزایش بیش از حد آن، در ادامه رو به کاهش گذاشت. نوع حلال تأثیر معنی‌داری بر تمام پاسخ‌ها بجز پراکسید داشت. راندمان استخراج روغن، میزان فنول کل و درصد مهار رادیکال DPPH، در صورت استفاده از حلال ترکیبی بیشتر از حلال هگزان و ایزوپروپانول تنها بود، ولی میزان شاخص رنگی روغن حاصل از ایزوپروپانول (حلال قطبی)، بیشتر از هگزان (حلال غیرقطبی) و یا حلال ترکیبی بود.

بررسی قرار داد. نتایج نشان داد کاربرد روش سطح پاسخ برای نیل به شرایط بهینه استخراج روغن از شاهدانه، بسیار مؤثر و قابل اعتماد است. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش فاکتور زمان و ولتاژ اهمیک، میزان راندمان استخراج روغن، پراکسید و شاخص رنگی روغن نیز افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش این فاکتورها تا حد خاصی میزان ترکیبات فنولی و درصد مهار رادیکال DPPH افزایش داشت.

منابع

- [1] Palade, L. M., Habeanu, M., Marin, D. E., Chedea, V. S., Pistol, G. C., Grosu, I. A., ... & Taranu, I. (2019). Effect of Dietary Hemp Seed on Oxidative Status in Sows during Late Gestation and Lactation and Their Offspring. *Anim.*, 9(4), 194.
- [2] Drinić, Z., Vidović, S., Vladić, J., Koren, A., Kiprovski, B., & Sikora, V. (2018). Effect of extraction solvent on total polyphenols content and antioxidant activity of *Cannabis sativa L.* *Lekovite Sirovine.*, (38), 17-21.
- [3] Wang, X. S., Tang, C. H., Yang, X. Q., & Gao, W. R. (2008). Characterization, amino acid composition and in vitro digestibility of hemp (*Cannabis sativa L.*) proteins. *Food Chem.*, 107(1), 11-18.
- [4] Oomah, B. D., Busson, M., Godfrey, D. V., & Drover, J. C. (2002). Characteristics of hemp (*Cannabis sativa L.*) seed oil. *Food Chem.*, 76(1), 33-43.
- [5] Yan, X., Tang, J., dos Santos Passos, C., Nurisso, A., Simoes-Pires, C. A., Ji, M., ... & Fan, P. (2015). Characterization of lignanamides from hemp (*Cannabis sativa L.*) seed and their antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities. *J. Agric. Food Chem.*, 63(49), 10611-10619.
- [6] Azadmard-Damirchi, S., Habibi-Nodeh, F., Hesari, J., Nemati, M., & Achachlouei, B. F. (2010). Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed. *Food Chem.*, 121(4), 1211-1215.
- [7] Li, H., Pordesimo, L., & Weiss, J. (2004). High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food Res. Int.*, 37(7), 731-738.
- [8] Knirsch, M. C., Dos Santos, C. A., de Oliveira Soares, A. A. M., & Penna, T. C. V. (2010). Ohmic heating—a review. *Trends Food Sci Technol.*, 21(9), 436-441.
- [9] Loypimai, P., Moongngarm, A., & Chottanom, P. (2015). Impact of stabilization and extraction methods on chemical quality and bioactive compounds of rice bran oil. *Emir. j. food agric.*, 849-856.
- [10] Kumari, K., Mudgal, V. D., Viswasrao, G., & Srivastava, H. (2016). Studies on the effect of ohmic heating on oil recovery and quality of sesame seeds. *Int. J. Food Sci.*, 53(4), 2009-2016.
- [11] Hernández-Santos, B., Rodríguez-Miranda, J., Herman-Lara, E., Torruco-Uco, J. G., Carmona-García, R., Juárez-Barrientos, J. M., ... & Martínez-Sánchez, C. E. (2016). Effect of oil extraction assisted by ultrasound on the physicochemical properties and fatty acid profile of pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo*). *Ultrason Sonochem.*, 31, 429-436.
- [12] Jalili, F., Jafari, S. M., Emam-Djomeh, Z., Malekjani, N., & Farzaneh, V. (2018). Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from canola seeds with the use of response surface methodology. *Food Anal.*, 11(2), 598-612.
- [13] Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P., Ghazali, H. M., Bordbar, S., & Serjouie, A. (2015). Optimisation of ultrasound-assisted

extraction of oil from papaya seed by response surface methodology: Oil recovery, radical scavenging antioxidant activity, and oxidation stability. *Food Chem.*, 172, 7-17.

[14] Maghsoudlou, E., Esmailzadeh Kenari, R., & Raftani Amiri, Z. (2017). Evaluation of Antioxidant Activity of Fig (*Ficus carica*) Pulp and Skin Extract and Its Application in Enhancing Oxidative Stability of Canola Oil. *J. Food Process Pres.*, 41(4), e13077.

[15] Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M., & Parenti, A. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chem.*, 71(4), 553-562.

[16] Li, H. Z., Zhang, Z. J., Xue, J., Cui, L. X., LI, X. J., & CHEN, T. (2016a). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants and rosmarinic acid from perilla leaves using response surface methodology. *Food Sci Technol Int.*, 36(4), 686-693.

[17] Moghimi, M., Farzaneh, V., & Bakhshabadi, H. (2018). The effect of ultrasound pretreatment on some selected physicochemical properties of black cumin (*Nigella Sativa*). *Nutrirt*, 43(1), 18.

[18] Li, T., Qu, X. Y., Zhang, Q. A., & Wang, Z. Z. (2012). Ultrasound-assisted extraction and profile characteristics of seed oil from *Isatis indigotica* Fort. *Ind Crops Prod.*, 35(1), 98-104.

[19] Luque-Garcia, J. L., & De Castro, M. L. (2004). Ultrasound-assisted soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment: application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. *J. Chromatogr. A.*, 1034(1-2), 237-242.

[20] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr.*, 79(5), 727-747.

[21] Tabaraki, R., & Nateghi, A. (2011). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology. *Ultrason Sonochem.*, 18(6), 1279-1286.

[22] Moongngarm, A., Loypimai, P., Fitriati, A., & Moontree, T. (2019). Ohmic heating assisted extraction improves the concentrations of phytochemicals in rice bran oil and unsaponifiable matter. *Int Food Res J.*, 26(4).

[23] Horwitz, W., Chichilo, P., & Reynolds, H. (1970). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists*.

[24] Cissé, M., Sow, A., Poucheret, P., Margout, D., Ayessou, N. C., Faye, P. G., ... & Diop, C. M. G. (2018). Impact of Extraction Method on Physicochemical Characteristics and Antioxidant Potential of *Adansonia digitata* Oil. *J. Food Nutr. Sci.*, 9(08), 937.

[25] Li, T., Xu, J., Wu, H., Wang, G., Dai, S., Fan, J., ... & Xiang, W. (2016b). A saponification method for chlorophyll removal from microalgae biomass as oil feedstock. *Mar. Drugs.*, 14(9), 162.

*Research Article***Optimization of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil extraction process by ohmic pre-treatment and response surface methodology****Reza Esmailzadeh Kenari^{1*}, Bahareh Dehghan²****1. Associated Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University****2. PhD student of food science and technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University****Abstract**

The hemp plant is as a rich resource of the bioactive compounds. Hempseed oil is well known for its good ratio of unsaturated omega-6 to omega-3 fatty acids and its unique nutrient and medicinal properties. Therefore, the aim of the present study was to optimize the extraction parameters of hempseed oil in order to achieve the maximum levels of oil extraction performance and antioxidant activity and the minimum peroxide value and color index. In the present study, the effects of solvent ratio of hexane to isopropanol (0:100, 50:50, and 100:0 v/v%), voltage (40, 60 and 80 V/cm) and time (5, 10 and 15 minutes) were investigated on oil extraction efficiency, total phenol content, DPPH radical scavenging, peroxide value and oil color index and extraction conditions were optimized by using the RSM and Box-Behnken Design (BBD) method. The optimal conditions for oil extraction were obtained as hexane to isopropanol ratio of approximately 73 to 27 (v/v%), process time of 8.40 min and voltage of 51.61 V/cm. The R^2 value of all responses was also above 0.96, which was a confirmation of these models.

Keywords: Hemp seed, Extraction oil, Optimization, Response surface methodology, Ohmic.

* Corresponding author: r.esmailzade@sanru.ac.ir