

مقایسه خواص فیزیکوشیمیایی و پروفایل اسیدهای چرب روغن هسته گیاه دارویی *Citrus aurantium L.* در روش‌های مختلف استخراج

معصومه صادقی نیک^۱، صمد نژاد ابراهیمی^{۲*}

^۱ دانشجوی دکتری، گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران
^۲ دانشیار، گروه فیتوشیمی، پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۰۰/۱۰/۰۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۱۲/۱۷

چکیده

هسته میوه نارنج *Citrus aurantium L.* محصول فرعی حاصل از صنایع آب میوه گیری می‌باشد. در این تحقیق اسیدهای چرب و فیتواسترول‌های اصلی در روغن هسته نارنج با هدف ارزش گذاری تغذیه‌ای و بررسی خواص زیستی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن هسته استخراج شده به دو روش پرس سرد و استفاده از حلال هگزان و شناسایی ترکیب اسیدهای چرب انجام شد. ترکیب اسیدهای چرب موجود در روغن هسته نارنج با استفاده از تکنیک کروماتوگرافی گازی متصل به اسپکترومتری جرمی (GC-MS) و رزونانس مغناطیس هسته (¹HNMR و ¹³CNMR) بررسی شد. همچنین اثر بخشی امواج مافوق صوت و فشار هوا در استخراج روغن از تفاله هسته نارنج حاصل از استخراج پرس سرد، با استفاده از حلال هگزان مورد مطالعه قرار گرفت. یافته‌ها نشان داد که بیشترین بازده روغن استخراج شده با استفاده از دستگاه پراب مافوق صوت (۲۵ درصد) می‌باشد، و به‌طور قابل توجهی در مقایسه با روش‌های دیگر بالاتر بود. محتوای روغن اسیدهای چرب ۹-اولئیک اسید (۳۳/۳ درصد)، لینولئیک اسید (۳۱/۵ درصد)، پالمیتیک اسید (۲۲/۳ درصد)، استئاریک اسید (۶/۶ درصد) و ۱۰-اولئیک اسید (۱/۱ درصد)، و بتاسیتوسترول (۷۹/۷ درصد) و کامپسترول (۱۴/۶ درصد) بیشترین فیتواسترول‌های تشکیل دهنده روغن هسته نارنج مورد مطالعه بودند. با توجه به نتایج بدست آمده روغن هسته نارنج می‌تواند به‌عنوان یک منبع غذایی جدید در نظر گرفته شود.

واژه‌های کلیدی: اسید چرب، روش‌های استخراج، روغن هسته، نارنج

مقدمه

مرکبات از جمله نارنج از نظر اقتصادی جزء مهم‌ترین محصولات زراعی درختی کشور می‌باشند. نارنج با نام علمی (*Citrus aurantium* L.) که تحت عنوان پرتغال تلخ^۱ هم شناخته شده است، از خانواده روتاسه^۲ (خانواده گیاهان گلدار) بوده که حدود ۱۵۴ جنس و بیش از ۱۶۰۰ گونه را در بر می‌گیرد (Liaquat et al., 2018)، درختی تا ارتفاع حدود ۴ متر با گل‌های سفید معطر که از قرن دهم میلادی از چین وارد خاورمیانه و سپس ایران شده است. پس از آن ایران سرزمین بومی درخت نارنج شد، به گونه‌ای که هم در مناطق ساحلی و هم کوهستانی قابل رویش می‌باشد. آب میوه رسیده نارنج در ایران مصرف غذایی زیادی دارد و در مکزیک میوه آن مصرف خوراکی در تهیه سس چیلی دارد. از قسمت‌های مختلف گیاه مانند پوست، گل، برگ، میوه و دانه‌ها به‌طور سنتی در مصارف غذایی، اختلالات گوارشی و عوارض عصبی استفاده می‌شود، همچنین به عنوان یک گیاه دارویی مهم در طب سنتی ایرانی معرفی شده است. پزشکان اولیه طب ایرانی از میوه‌ها و دانه‌های *L. Citrus aurantium* به‌عنوان ضدتحریک، ضد درد، ضد تهوع و همچنین پادزهر سموم به‌صورت خوراکی یا موضعی استفاده می‌کردند (Hamedi et al., 2019). در فرایند آبگیری از نارنج، بخش‌های غیر خوراکی شامل پوست و هسته بخش عظیمی از ضایعات جامد میوه را تشکیل می‌دهند که مورد بهره‌برداری قرار نمی‌گیرند. این ضایعات که عموماً به عنوان زباله در محیط دور ریخته می‌شوند که این مواد خام نامتعارف گیاهی که می‌توانند به عنوان منابع غذایی بالقوه مورد بهره‌برداری قرارگیرند. روغن‌های به دست آمده از چنین مواد خامی غنی از ترکیبات طبیعی مانند

توکوفرول‌ها، فیتوسترول‌ها و ترکیبات فنولی می‌باشند که نه صنایع تهیه مواد غذایی، بلکه در صنایع دارویی و آرایشی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند (Luzia and Jorge, 2013). روغن‌های پایه گیاهی معمولاً به روش پرس سرد از منابع مختلف استحصال می‌گردند. همچنین برای تهیه روغن‌های مخلوط با روغن‌هایی که معمولاً در صنایع غذایی مانند روغن کانولا یا آفتابگردان تولید می‌شوند از این روش پرس سرد استفاده می‌کنند (Siger et al., 2016). با توجه به هزینه پایین و در دسترس بودن ضایعات کشاورزی و صنایع آبمیوه گیری استفاده از این بقایا غنی از مواد فعال زیستی می‌تواند یک بستری کارآمد، ارزان و سازگار با محیط زیست برای تولید مواد مغذی جدید یا برای بهبود محصولات موجود در سبد غذایی را فراهم کند که هسته *Citrus aurantium* L. جمله این ضایعات می‌باشد (Abou Baker et al., 2020). استفاده از اجزای ارزشمندی مانند پلی‌فنول‌ها و روغن‌های اشباع می‌تواند در جلوگیری از بیماری‌های مختلف نظیر سرطان مفید باشد (Abou Baker & Rady, 2020). روغن‌های غیر اشباع نظیر لینولنیک اسید که جزو خانواده اسیدهای چرب امگا ۳ هست منبع خوبی برای حفظ سلامت بدن می‌باشد (Tian et al., 2013).

فیتواسترول‌ها دسته‌ای از مواد غذایی ارزشمندی هستند که در سال‌های اخیر به دلیل توانایی در کاهش سطح کلسترول خون توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند (Yang et al., 2022). مصرف فیتواسترول‌ها اثرات مثبتی را در درمان هیپرکلسترولمی نشان داده که با کاهش قابل توجه کلسترول (۸ تا ۱۰ درصد) همراه بوده (Cabral & Klein, 2017). به‌طور معمول، روغن گیری از دانه‌های گیاهی غنی از روغن در مقیاس صنعتی توسط پرس‌های مکانیکی یا با استفاده از حلال‌های آلی مانند هگزان یا پترولیوم اتر انجام

1. Bitter orange
2. Rutaceae

بررسی بررسی تاثیر فشار هوا بر استخراج روغن، می باشد.

مواد و روش ها

مواد اولیه و میوه *Citrus aurantium* L. از رقم بومی منطقه شمال ایران استان مازندران شهرستان قائم شهر تهیه شد. هسته های نارنج پس از برش و آبیگری از میوه ها، به صورت دستی از بافت میوه جدا و پس از شستشو با آب، در دمای اتاق به مدت ۱۵ روز خشک گردید. کلیه حلال ها، معرف ها و مواد شیمیایی گرد تجزیه ای (Analytical) از شرکت Merck کشور آلمان، و حلال کلروفرم دوتره از شرکت Mesbah Energy کشور ایران خریداری گردید.

جهت توزین نمونه گیاهی از ترازوی دیجیتال چهارم رقم اعشار و جهت تغلیظ عصاره در هر مرحله از دستگاه تبخیرکن دوار تحت خلا (روتاری) مدل Heidolph-WB eco ساخت کشور آلمان استفاده شد. طیف NMR توسط دستگاه رزونانس مغناطیسی هسته با شدت ۳۰۰ مگاهرتز مدل Bruker ساخت کشور سوئیس گرفته شد. تعیین خصوصیات کمی و آنالیز و شناسایی اسیدهای چرب از دستگاه GC-FID و GC-MS (طیف سنجی جرمی) Thermoquest-Finnigan مدل Trace ساخت کشور انگلیس مجهز به ستون DB-5 با مشخصات طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر، ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر مورد استفاده قرار گرفت. از گاز He با جریان ۱/۱ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. جهت بهینه سازی استخراج از دستگاه پراب فراصوت مدل U-1200 ساخت شرکت بهین تامین اهورا (اصفهان ایران) با قطر پروپ ۱/۹ سانتی متر، فرکانس ۱۵ الی ۲۵ کیلوهرتز و توان ۱۲۰۰ وات و حمام فراصوت مدل Elmasonic استفاده شد.

می شود. پرس های مکانیکی یا همان پرس سرد، فرآیندی مکانیکی سریع است که برای استخراج روغن ها استفاده می شود که متکی بر فشار می باشد. مزیت عمده پرس سرد نسبت به دیگر روش های استخراج این است که یک فرآیند دوستدار محیط زیست می باشد که نیازی به حلال های آلی ندارد و بنابراین هزینه حلال را کاهش می دهد و همچنین روغن باکیفیت ارائه می دهد. با این وجود در بیشتر موارد، این فرآیند سرعت استخراج پایینی دارد و مقادیر زیادی انرژی مصرف می کند (Liu et al., 2009). استخراج با حلال، روش اولیه استخراج روغن از مواد روغنی (Carrín & Crapiste, 2008)، می تواند عملاً مقادیر بالاتری از روغن موجود در بافت نمونه ها را خارج کند (Faborode et al., 2003) علیرغم بازده بالا، این روش منجر به بروز نگرانی های زیست محیطی جدی مربوط به استفاده صنعتی از حلال های آلی، دمای بالا، زمان استخراج طولانی تر می شود و امکان استفاده از روغن حاصله در مصارف خوراکی و دارویی را دچار چالش می کند (Chemat et al., 2017).

با وجود تولید و پراکندگی نسبتاً مناسب درخت نارنج، تحقیقات کمی در خصوص خواص فیزیکی و شیمیایی روغن هسته *Citrus aurantium* L. انجام شده است. هدف اصلی ما در این پژوهش، تعیین ویژگی های فیزیکی، شیمیایی و محتوای اسیدهای چرب و فیتوسترول های روغن هسته نارنج با استفاده از تکنیک کروماتوگرافی گازی متصل به اسپکترومتری جرمی (GC-MS) و رزونانس مغناطیسی هسته (¹HNMR و ¹³CNMR)، بهینه سازی و مقایسه روش های مختلف استخراج روغن موجود در تفاله حاصل از روغن گیری به روش پرس سرد با استفاده از حلال هگزان با کمک امواج فراصوت و همچنین

در پراب فراصوت با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد و توان ۵۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. سپس حلال با استفاده از کاغذ صافی از تفاله جدا و توسط روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد. خیساندن تحت فشار هوا، ۱۰ گرم از تفاله هسته نارنج پودر شده همراه با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال هگزان در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری درون دیگ فشار ۴ لیتری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تحت فشار ۲ bar همراه با همزن مغناطیسی با دور ثابت ۲۵۰ دور در دقیقه به مدت ۶ ساعت قرار گرفت. سپس حلال با استفاده از کاغذ صافی از تفاله جدا و توسط روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد.

بازده روغن حاصل از هر یک از روش‌ها از طریق معادله زیر محاسبه گردید.

$$Y = \frac{M_e}{M_t} \times 100$$

M_e : وزن روغن

M_t : وزن پودر تفاله هسته نارنج

اسیدیت به روش تیتراژ با استفاده از هیدروکسید پتاسیم، عدد پراکسید به روش یدومتری و عدد صابونی براساس میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم مورد نیاز برای صابونی کردن یک گرم چربی طبق روش پیشنهادی در AOAC در اندازه‌گیری ویژگی‌های کیفی و فیزیکی شیمیایی انجام شدند (Helrich, 1990).

متیله کردن اسیدهای چرب به منظور تهیه مشتقات متیل استر در تجزیه به روش کروماتوگرافی گازی، انجام شد (Metcalf et al., 1966). بر اساس این روش، ۰/۲۵ گرم روغن هسته نارنج تهیه شده به روش پرس سرد را در یک بالن همراه با ۲ میلی‌لیتر متانول قرار داده و ۰/۲۵ گرم هیدروکسید پتاسیم به آن اضافه شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر بور تری فلوراید به محتویات بالن اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شد. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب ۶۰ درجه سانتی‌گراد با همزن مغناطیسی قرار داده شد. پس از

روغن‌گیری به روش پرس سرد از دانه‌های نارنج کاملاً خشک شده با استفاده اعمال فشار از طریق دستگاه پرس سرد در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. به منظور مقایسه روش‌های مختلف استخراج روغن، ۵ روش استخراج به شرح زیر به مرحله اجرا در آمد. روش خیساندن سرد، ۱۰ گرم از تفاله پودر شده هسته نارنج با استفاده از آسیاب، پودر و با ترازوی حساس توزین شد. سپس در حلال هگزان به نسبت ۱۰:۱ (نمونه:حلال) مخلوط و در بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط همراه با همزن مغناطیسی با دور ثابت ۲۵۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس محلول با کاغذ صافی صاف و حلال با تبخیر کن دوار تحت خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد (Timilsena et al., 2017).

در روش خیساندن گرم، ۱۰ گرم از تفاله پودر شده هسته نارنج در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری همراه با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال هگزان به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد همراه با همزن مغناطیسی با دور ثابت ۲۵۰ دور در دقیقه قرار داده شد. حلال پس از جدا کردن از تفاله با استفاده از کاغذ صافی، توسط روتاری تبخیر شد. استخراج با استفاده از امواج مافوق صوت (حمام)، ۱۰ گرم از پودر تفاله هسته نارنج در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری همراه با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال هگزان در حمام فراصوت با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد با شدت فرکانس ۸۰ کیلوهرتز و توان ۱۰۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. حلال پس از صاف شدن توسط کاغذ صافی با استفاده از روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد تبخیر شد (Timilsena et al., 2017).

استخراج به کمک امواج مافوق صوت (پرآب)، ۱۰ گرم از تفاله هسته نارنج پودر شده در یک بشر ۲۵۰ میلی‌لیتری همراه با ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال هگزان

هیدروژن و هوا نیز به عنوان منبع سوخت در آشکار ساز استفاده شد. اجزای تشکیل دهنده روغن با مقایسه طیف های جرمی آنها با کتابخانه طیف های جرمی مرجع داخلی (Wiley7.0) ^{۱۷-۱۹} و مقایسه با ترکیبات شناخته شده مشخص شد. مقایسه شاخص های پایداری آنها با ترکیبات شناخته شده یا مواردی که در منابع علمی گزارش شده است (Adams, 2007). شناسایی و مورد تایید قرار گرفت. برای مقادیر کمی، درصد مساحت نسبی به دست آمده توسط FID بدون استفاده از فاکتورهای تصحیح استفاده شد.

جهت تعیین عدد اسیدی، ۱ گرم نمونه در یک ارلن قرار داده شد و در ۵ میلی لیتر اتانول حل شد. محلول فنل فتالین به عنوان یک شاخص مورد استفاده قرار گرفت و با محلول هیدروکسید پتاسیم ۰٫۰۱ مولار تیترا شد تا زمانی که رنگ محلول به ارغوانی تغییر کند و به مدت ۳۰ ثانیه باقی بماند. مقدار اسید به صورت میلی گرم هیدروکسید پتاسیم مورد نیاز برای خنثی کردن اسیدهای چرب آزاد موجود در ۱ گرم نمونه روغن، مطابق شکل زیر بیان شد.

$$m = \frac{56.1 \times A \times f}{\text{KOH/گرم میلی گرم عدد اسیدی}}$$

که در آن:

$$m = \text{جرم نمونه روغن بر حسب گرم}$$

$$A = \text{حجم هیدروکسید پتاسیم مصرفی بر حسب میلی لیتر}$$

$$f = \text{غلظت هیدروکسید پتاسیم مصرفی بر حسب ملاریته}$$

اندازه گیری مقدار پراکسید اولیه بر اساس روش پیشنهادی در AOAC انجام شد (Helrich, 1990). مقدار ۲ گرم از روغن نمونه در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری وزن کرده، ۳۰ میلی لیتر مخلوط اسید استیک و کلروفرم با نسبت ۲:۳ به آن افزوده و تا حل

مدت ۱ ساعت و سرد شدن کامل نمونه ابتدا ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر و پس از آن ۲۵ میلی لیتر حلال هگزان به بالن اضافه شد. نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفوژ با دور ۴۰۰۰ rpm قرار داده و از فاز بالایی که حاوی هگزان و متیل استرهای اسیدهای چرب بود، به تیوپ جهت تزریق به دستگاه انتقال داده شد. به منظور شناسایی اسیدهای چرب روغن هسته نارنج، مقدار ۱ میکرو لیتر متیل استر اسیدهای چرب آماده شده توسط سرنگ میکرو لیتری به دستگاه کروماتوگرافی (GC-MS) گازی متصل به طیف سنجی جرمی تزریق شد.

طیف سنج جرمی مورد استفاده -Thermoquest Finnigan مدل trace ساخت کشور آمریکا مجهز به ستون DB-5 با مشخصات طول ۳۰ متر، قطر داخلی و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرو متر می باشد. از گاز He با سرعت ۲۲ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. دمای محفظه تزریق و آشکارساز در ۲۵۰ درجه سانتی گراد و اسپلیت ۴ محفظه تزریق در ۲۰:۱ تنظیم شد. دمای آون در ابتدا به مدت ۵ دقیقه بر روی دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و سپس با سرعت ۴ °C/min به دمای ۲۳۸ درجه سانتی گراد رسید و به مدت ۲۰ دقیقه در این دما ثابت باقی ماند. طیف سنج جرمی (GC) مجهز به منبع یونیزاسیون یونش الکترونی، تجزیه گر جرمی چهار قطبی و آشکار ساز می باشد. دمای منبع یونیزاسیون بر روی ۲۰۰ °C تنظیم شد. همچنین به منظور تعیین درصد اسیدهای چرب در روغن هسته نارنج، مقدار ۱ میکرو لیتر از نمونه متیل استر آماده شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) Thermoquest مجهز به آشکار ساز شعله (FID) مدل Trace و ستون موئینه DB-5 استفاده شد. از گاز نیتروژن که دمای آن بر روی ۲۵۰ درجه سانتی گراد تنظیم شد بود با سرعت ۱٫۱ میلی لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل و از گاز

به مدت ۶۰ دقیقه رفلاکس شد. پس از خنک شدن مخلوط، چند قطره فنل فتالین اضافه و در حضور هیدروکلریک اسید ۰/۵ مولار تا بی رنگ شدن نمونه تیترا شد. مقدار عدد صابونی از طریق فرمول زیر محاسبه شد

$$= (V_1 - V_2) \times 0.5 \times 56.1 \text{ عدد صابونی}$$

طیف ¹H NMR اسیدهای چرب، برخی از سیگنال‌های مشخصه مربوط به گروه‌های عاملی مختلف در مولکول‌ها را نشان می‌دهد که می‌تواند برای تعیین کمیت زنجیره‌های اشباع و غیراشباع در نمونه استفاده شود. برای این منظور، مقادیر تقریبی ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه روغن هسته نارنج مستقیماً به لوله‌های ۵ میلی‌متری NMR منتقل و با CDCl₃ به حجم به ۶۰۰ میکرولیتر رسانده شد.

نتایج

در این پژوهش چند روش استخراج روغن از هسته *Citrus aurantium* L. با استفاده از حلال هگزان مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، روش‌های مختلف استخراج، کارایی متفاوتی در استخراج روغن از تفاله هسته *Citrus aurantium* L. داشتند. بازده روغن استخراج شده در روش‌های خیساندن سرد و گرم اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند و کمترین کارایی استخراج را نشان دادند. بالاترین بازده استخراج مربوط به دستگاه پراب اولتراسونیک بود. همچنین در این بررسی این نتیجه به دست آمد که اعمال فشار هوا در مدت زمان ۶ ساعت بر روی تفاله هسته نارنج در حلال هگزان تاثیر نسبتاً خوبی در استخراج روغن داشته است.

شدن روغن هم زده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر محلول اشباع پتاسیم یدید به آن افزوده و به مدت ۳۰ ثانیه هم زده شد. درب ظرف بسته و ۵ دقیقه در مکان تاریک قرار گرفت تا واکنش کامل شود (رنگ محلول زرد پررنگ می‌شود). در این مرحله به مخلوط ۷۵ میلی‌لیتر آب دی‌آونیزه اضافه و با سدیم تیوسولفات ۰/۰۱ مولار تیترا شد تا هنگامی که رنگ مخلوط زرد کم‌رنگ شود. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر شناساگر نشاسته ۱٪ تازه به افزوده می‌شود (رنگ محلول به آبی تیره تغییر می‌کند). تیتراسیون تا مخلوط واکنش آبی به محلول بی‌رنگ تبدیل شود ادامه پیدا کرد. طی تیتراسیون، محلول را بشدت تکان داده تا ید از لایه کلروفرم آزاد شود. مقدار عدد پراکسید روغن برحسب میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن از طریق فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$= (A - B) \times 0.01 / m \times 1000 \text{ (کیلوگرم / میلی اکی والان) عدد پراکسید}$$

A = حجم تیوسولفات مصرفی نمونه

B = حجم تیوسولفات مصرفی بلانک

m = جرم نمونه روغن بر حسب گرم

عدد صابونی روغن هسته نارنج با استفاده از استاندارد AOAS به شماره 35-3-cd تعیین گردید و نتایج به صورت میلی‌گرم هیدروکسید پتاسیم (mg KOH/g oil) گزارش شد (AOCS, 1998). عدد صابونی شاخصی از وزن مولکولی نسبی تری‌گلیسیریدها تشکیل دهنده روغن است. اگرچه عدد صابونی فقط شاخصی از وزن مولکولی چربی یا روغن می‌باشد، ولی با محاسبه اکی والان عدد صابونی می‌توان مستقیماً میانگین وزن مولکولی چربی (تری‌گلیسیرید) را مشخص کرد. در تعیین عدد صابونی ۲ گرم از نمونه روغن با ۳۰ میلی‌لیتر هیدروکسید پتاسیم ۰/۵ مولار اتانولی مخلوط و تا حل شدن کامل نمونه

جدول ۱: مقایسه بازده روش‌های مختلف استخراج از تفاله هسته *Citrus aurantium* L. با استفاده از حلال هگزان

بازده استخراج (درصد وزنی)	خیساندن سرد	خیساندن گرم	حمام مافوق صوت	پرآب مافوق صوت	تحت فشار ۲ بار
۹	۱۰	۱۵	۲۵	۱۹	

ویژگی‌های کیفی روغن‌های استخراج شده از هسته *Citrus aurantium* L. به روش پرس سرد در جدول (۲) نشان داده شده است. مقدار عدد اسیدی در نمونه مورد آزمون، ۲ به دست آمد که با محدوده تعیین شده در استاندارد ملی ۱۳۳۹۲ (کمتر از ۴) مطابقت داشت. همچنین مقدار پراکسید (برحسب میلی اکسی‌والان گرم اکسیژن در کیلوگرم روغن) با حد مجاز تعیین شده در استاندارد ملی ۱۳۳۹۲ (۱۵) مطابقت داشت.

جدول ۲: ویژگی‌های کیفی نمونه روغن هسته *Citrus aurantium* تهیه شده به روش پرس سرد

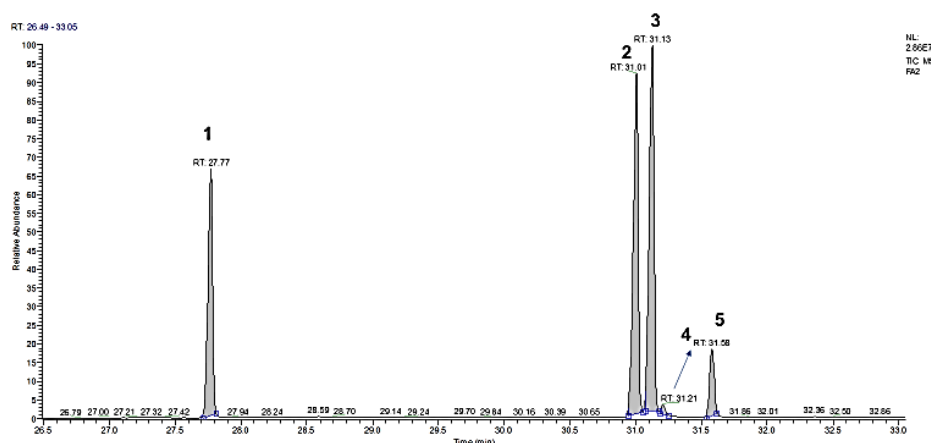
روش استخراج	عدد اسیدی (mg KOH/kg oil)	عدد پراکسید (MEq O ₂ /kg oil)	عدد صابونی (mg KOH/g)
پرس سرد	۱/۲	۵/۱	۳۰/۱

در این بررسی تعداد ۵ نوع اسید چرب شناسایی و تعیین مقدار شدند. پالمیتیک اسید (C16:0)، لینولئیک اسید (C18:2)، استئاریک اسید (C18:0)، ۹-اولئیک اسید (C18:1) و ۱۰-اولئیک اسید (C18:1) در جدول (۳) نشان داده شده اند. به طور کلی میزان ۹-اولئیک اسید فراوانترین اسید چرب (۳۳٪/۳) در روغن هسته نارنج یافت شد. همه نمونه‌ها از نظر مقدار اسید چرب با حدود تعیین شده در استاندارد ملی ۱۳۳۹۲ مطابقت داشتند.

جدول ۳: ترکیب اسیدهای چرب از C14:0 تا C18:0، موجود روغن هسته *Citrus aurantium* L. تهیه شده به روش پرس سرد

ردیف	ترکیب	زمان بازداری (min)	درصد (%)
۱	پالمیتیک اسید (C16:0)	۲۷/۷۷	۲۲/۳
۲	لینولئیک اسید (C18:2)	۳۱/۰۱	۳۱/۵
۳	۹-اولئیک اسید (C18:1)	۳۱/۱۳	۳۳/۳
۴	۱۰-اولئیک اسید (C18:1)	۳۱/۲۱	۱/۱
۵	استئاریک اسید (C18:0)	۳۱/۵۸	۶/۶

استرول‌های شناسایی شده در این پژوهش شامل ترکیبات استرولی (کلسترول، براسیکا استرول، کامپسترول، استیگما استرول، بتاسیتوسترول، دلتا ۵-اونااسترول، دلتا ۷-استیگما استادی انوال، دلتا ۷-اونا استرول) و استرول کل در نمونه روغن استخراج شده به روش پرس سرد اندازه گیری شدند (جدول ۴). مهم ترین استرول موجود در روغن هسته نارنج از نظر کمی، بتاسیتوسترول (۷۹/۷) بود. پس از آن، به ترتیب کامپسترول، استیگما استرول و دلتا ۵-اونا استرول استرولهای غالب بودند.



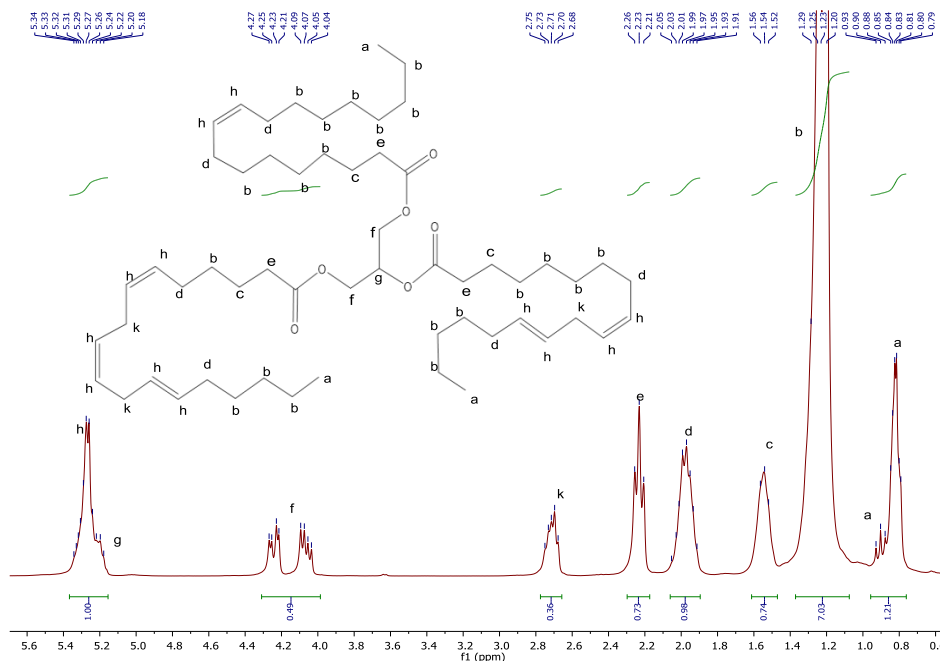
شکل ۱: طیف جرمی روغن هسته نارنج استخراج شده به روش پرس سرد

جدول ۴: ترکیبات استرولی (برحسب درصد وزنی از کل استرول) و استرول تام (برحسب میلی گرم در کیلوگرم)

کلاسترول %	براسیکا استرول %	کامپسترول %	استیگما استرول %	بتاسیتو ستروول %	دلتا ۵- اونااسترول %	دلتا ۷-استیگما استادی انوال %	دلتا ۷-اونا استرول %	سایر استرولها %
۰/۴	۰/۱	۱۴/۶	۳/۳	۷۹/۷	۱/۳	۰/۳۱	۰/۱	۰/۱

سیگنال‌های c و d قابل انتساب به پروتون‌های متیلن در موقعیت β و α نسبت به گروه‌های کربونیل هستند که به ترتیب در نواحی بین ۱/۵ تا ۱/۷ و بین ۲/۲ و ۲/۳ ظاهر می‌شوند. سیگنال d در ناحیه ۲/۳ ppm، به پروتون‌های متیلن در موقعیت α در مجاورت پیوند دوگانه نسبت داده می‌شود. سیگنال k مربوط به پروتون‌های متیلن در مجاورت دو پیوند دوگانه (پروتون‌های بیس-آلیلیک) می‌شود که در ناحیه بین ۲/۷ و ۲/۸ ظاهر می‌شوند. این سیگنال به همپوشانی پیکهای گروه‌های لینولیک و لینولینیک آسیل مربوط می‌شود. سیگنال f در محدوده ۴/۱ و ۴/۳ ppm مربوط به پروتون‌های موجود بر روی اتم‌های کربن ۱ و ۳ گروه گلیسیریل و سیگنال g مربوط به پروتون کربن شماره ۲ گروه مشابه گلیسیریل می‌باشد. سیگنال h، در ناحیه ۵/۳ تا ۵/۴ مربوط به پروتون‌های اولفینی شده گروه‌های آسیل مختلف به صورت همپوشانی شده ظاهر شده است.

همانطور که در شکل (۲) نشان داده شده، طیف ¹HNMR روغن هسته *Citrus aurantium* L. سیگنال‌های مشخص مربوط به گروه‌های عاملی اسیدهای چرب را نشان می‌دهد که شامل ۱۰ سیگنال می‌باشد. با مشاهده طیف ¹HNMR به سادگی می‌توان اطلاعات زیادی در خصوص نسبت‌های نسبی گروه‌های مختلف آسیل و ماهیت آنها بدست آورد. مساحت این سیگنال‌ها متناسب با تعداد هر نوع اتم هیدروژن موجود در نمونه است. پروتون‌های متیلیک گروه‌های آسیل اشباع (CH₃-پایانی)، اولئیک (n-9) و لینولئیک (n-6)، سیگنال a را بین ۰/۸ و ۰/۹ ppm نشان می‌دهند. سیگنال a یک پیک تریپلت که به پروتون‌های متیلیک گروه‌های n-3 آسیل نسبت داده می‌شود و بین ۰/۹۴ تا ۱/۰۰ ppm ظاهر می‌شود. سیگنال‌های b که در نواحی ۱/۲ و ۱/۳ ظاهر شده‌اند نشان دهنده همپوشانی گروه‌های متیلن در موقعیت β و γ یا متیلن‌های درگیر با پیوند دوگانه هستند.

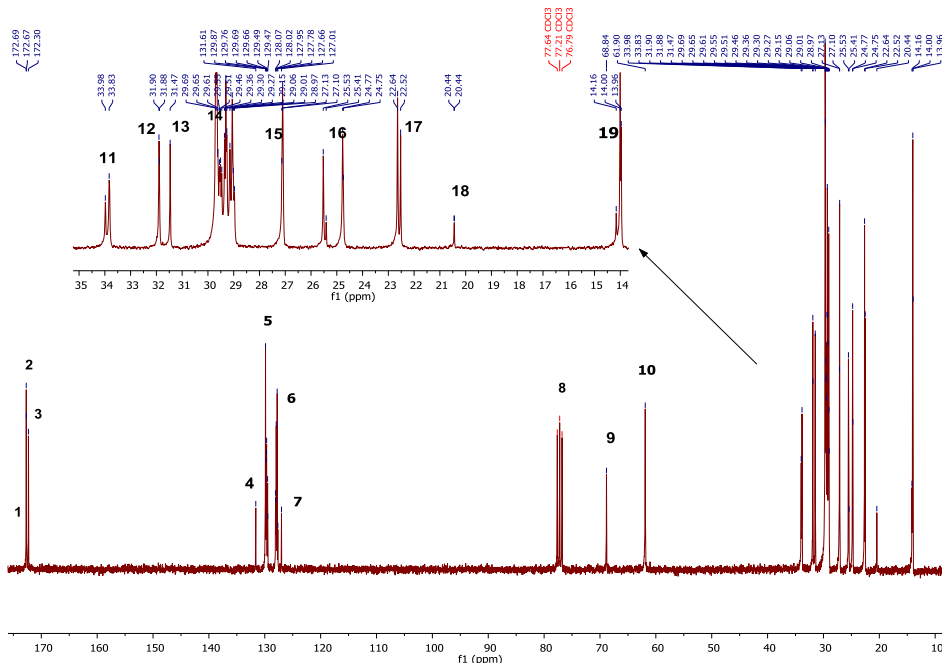
شکل ۲: طیف $^1\text{H NMR}$ روغن هسته نارنج تهیه شده به روش پرس سردجدول ۵: جابجایی‌های شیمیایی در $^1\text{H NMR}$ در روغن هسته نارنج

سیگنال	^1H	ترکیب	جابجایی شیمیایی
a	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	همه اسیدها به جز لینولیل	۰/۸۱
a	$-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	زنجره لینولیل	۰/۹۰
b	$-(\text{CH}_2)_n-$	همه زنجره‌های آسیل	۱/۱۹ - ۱/۲۴
c	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$	همه زنجره‌های آسیل	۱/۵۴
d	$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$	همه زنجره‌های آسیل غیر اشباع	۱/۹۵ - ۱/۹۹
e	$-\text{CH}_2-\text{COOH}$	همه زنجره‌های آسیل	۲/۲۳
k	$-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$	زنجره‌های لینولیل و لینولیل	۲/۷۱
f	$-\text{CH}_2-\text{O}-\text{COR}$	تری گلیسیریدها	۴/۲۶ - ۴
g	$-\text{CH}-\text{O}-\text{COR}$	تری گلیسیریدها	۵/۱۹
h	$-\text{CH}=\text{CH}-$	همه اسیدهای چرب غیر اشباع	۲/۲۷

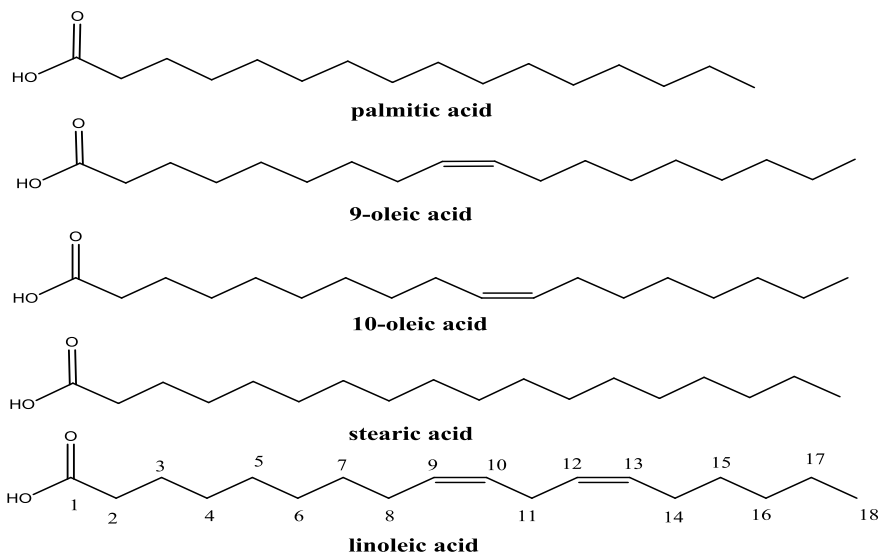
خاص و اسیدهای چرب آزاد است. پیک‌های ۱ تا ۳ در ناحیه کربونیل به ترتیب مربوط به C_1 اسیدهای چرب آزاد و sn-2 تری آسیل گلیسرولها در $172/30$ ppm و $172/67$ ppm و C_1 در موقعیت sn-1,3 تری آسیل گلیسرولها در $172/69$ ppm می‌باشند (شکل ۲). ناحیه بین $129/49$ تا $129/87$ ppm موقعیت غیر اشباع در اسیدهای چرب می‌باشد، سیگنال مربوط به کربن‌های آلکن در این

طیف $^{13}\text{C-NMR}$ روغن هسته *Citrus aurantium L.* در حلال CDCl_3 گرفته شد و تجزیه تحیل سیگنال‌های بدست آمده در محدوده $96/13$ تا $172/69$ به صورت دستی و با استفاده از نرم‌افزار Mestrelab Research Mnova انجام شد که در جدول (۶) به صورت خلاصه آمده است. تکنیک $^{13}\text{C-NMR}$ به‌ویژه در تمایز بین مونو، دی و تری گلیسیرید کاربرد دارد که مناسب تشخیص اجزای

ناحیه ظاهر می‌شوند. کربن‌های C1 و C3 در ناحیه ۶۱/۸۹ ppm ظاهر شده‌اند در حالی که کربن C2 در ناحیه ۶۸/۸۳ دیده شده است. ناحیه بین ppm ۱۴ تا ۳۳/۹۷ مربوط به کربن‌های آلیفاتیک شکل (۴) و ناحیه ۱۷۲ مربوط به کربن‌های کربوکسیل می‌باشد.



شکل ۳: طیف ^{13}C NMR روغن هسته نارنج تهیه شده به روش پرس سرد



شکل ۴: ساختار اسیدهای چرب موجود در روغن هسته نارنج

جدول ۶: جابجایی‌های شیمیایی و تخصیص سیگنال‌ها در طیف ^{13}C NMR روغن هسته نارنج

سیگنال	جابجایی شیمیایی	^{13}C	ترکیب
19	۱۳/۹۶ - ۱۴/۱۶	C18(ω 1)	همه زنجیره‌های آسیل
18	۲۰/۴۴ - ۲۲/۶۴	C17(ω 2)	همه زنجیره‌های آسیل
17	۲۴/۷۵ - ۲۴/۷۷	C3	همه زنجیره‌های آسیل
16	۲۵/۲۵ - ۵۰/۴۱	C11	لینولیل و لینولیل
-		C14	لینولیل
15	۲۷/۲۷ - ۱۰/۱۳	C8	اولئیل و لینولیل
		C11	لینولیل
14	۲۸/۲۹ - ۹۷/۶۹	C4 - C7	همه زنجیره‌های آسیل
-		C12 - C15	اولئیل
-		C8 - C15	استرویل
-		C8 - C13	پالمیتویل
12,13	۳۱/۳۱ - ۴۷/۹۰	C16(ω 3)	لینولیل
11	۳۳/۳۳ - ۸۳/۹۸	C2, sn-2	همه زنجیره‌های آسیل
10	۶۱/۹۰	CH ₂ O-, sn-1,3	گلیسرول(تری آسیل گلیسرولها)
-		CH ₂ O-, sn-1	گلیسرول(۲-دی آسیل گلیسرولها)
9	۶۸/۸۴	CHO-, sn-2	گلیسرول(تری آسیل گلیسرولها)
8	۷۶/۷۷ - ۷۹/۶۴	CDCl ₃	حلال
5	۱۲۷/۰۱	C12	لینولیل
5	۱۲۷/۱۲۸ - ۶۶/۰۷	C10, C15	لینولیل
		C10	لینولیل
5		C12, C13	لینولیل
5	۱۲۹/۱۲۹ - ۴۹/۸۷	C9, C10	اولئیل، لینولیل و لینولیل
4	۱۳۱/۶۱	C13	لینولیل
3	۱۷۲/۳۰	C1, sn-2	تری آسیل گلیسرولها
1,2	۱۷۲/۱۷۲ - ۶۷/۶۹	C1, sn-1,3	تری آسیل گلیسرولها

بحث

می‌شود، بهترین و بدترین بازده استخراج به ترتیب مربوط به پراب مافوق صوت، همانطور که در برخی مقالات پیشنهاد شده است (Stevanato & da Silva, 2019) و خیساندن سرد می‌باشد. همچنین اعمال فشار هوا باعث تا حدود قابل قبولی باعث افزایش بازده استخراج شده که می‌تواند به دلیل نفوذ بیشتر حلال در تفاله هسته *Citrus aurantium* L. شده و در نتیجه

با توجه به نتایج به دست آمده در جدول (۱)، ضایعات به دست آمده از فرآیند پرس مکانیکی صنعتی همچنان دارای محتوای روغن قابل توجهی بود که امکان استفاده از حلال‌ها را برای بالابردن بازده استخراج روغن از تفاله هسته *Citrus aurantium* L. افزایش داد. همان طور که در جدول (۱) مشاهده

می تواند به عنوان منبع مهم فیتواسترول ها در نظر گرفته شود.

شکل (۱) و جدول (۳) محتوای اسیدهای چرب روغن هسته *Citrus aurantium* L. را که با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی (GC-MS) گازی متصل به طیف سنجی جرمی بدست آمده را نشان می دهد. در این تحقیق وجود اسیدهای چرب پالمیتیک، لینولئیک، ۹-اولئیک، ۱۰-اولئیک و استئاریک شناسایی شد. به جز ۱۰-اولئیک اسید که به میزان خیلی کم یافت شد، اسیدهای چرب ۹-اولئیک و لینولئیک با مقادیر به ترتیب ۳۳/۳ و ۳۱/۵ درصد، مهم ترین اسیدهای چرب روغن هسته *Citrus aurantium* L. در این پژوهش بدست آمدند، که در روغن هسته *Citrus aurantium* L. گونه پاکستان به ترتیب ۳۰/۸۷ و ۲۲/۰۳ درصد (Waheed et al., 2009) و در روغن هسته *Citrus aurantium* L. گونه ترکیه ۲۶/۵۰ و ۳۳/۰۵ (Aka et al., 2017) گزارش شده بود. تفاوت جزئی با نتایج ما را می توان به زیرگونه های مختلف، توزیع جغرافیایی، آب و هوا و شرایط رشد، زمان برداشت، شیوه های کشاورزی و روش کمی تجزیه و تحلیل نسبت داد. محتوای بالاتر اسید لینولئیک در روغن دانه نارنج می تواند برای استفاده این روغن در صنایع آرایشی و بهداشتی برای کم آبی بافت پوست و کاهش ضایعات پوست که فاقد اسیدهای چرب ضروری هستند مفید باشد. همچنین پالمیتیک اسید، یک اسید چرب ۱۶ کربنه، که در صنایع غذایی و آرایشی، بهداشتی به عنوان عامل ضدکف، فاکتور قوام دهنده در لوازم آرایشی نظیر کرمها، رژ لب و یا بهداشتی چون خمیر دندان و واکسها بکار رود (Garidel et al., 2010).

برخی از خصوصیات فیزیکوشیمیایی مهم روغن هسته *Citrus aurantium* L. مانند مقادیر اسید، پراکسید و صابونی در جدول (۲) ارائه شده است.

حلال قادر به استخراج بیشتر روغن می شود. در خصوص اعمال امواج فراصوت، به دلیل تخریب بافت سلولی گیاه توسط این امواج، میزان بیشتری روغن به دلیل افزایش تماس بین حلال و هسته وارد فاز حلال می گردد. این یافته ها (جدول ۱) نشان می دهد که پارامتر فشار توانایی بالاتری نسبت به روش های خیساندن و حمام اولتراسونیک در استخراج روغن از دانه های روغنی دارد.

تفاوت معنی داری در محتویات کامپسترو، استیگماسترول و بتاسیتوسترول در ارزیابی روغن هسته *Citrus aurantium* L. مشاهده شد (جدول ۴). بتاسیتوسترول، کامپستورل و استیگماسترول به ترتیب ۷۹/۷، ۱۴/۶ و ۳/۳ درصد و استرول تام ۳۵۷۶/۱ میلی گرم در کیلوگرم دانه بدست آمدند. بتا سیتوسترول مهمترین فیتوسترول روغن هسته نارنج در این مطالعه بدست آمد. در روغن های گیاهی همواره مورد بررسی قرار میگیرند زیرا از یک سو یک پارامتر بسیار مفیدی برای تشخیص تقلب و یا بررسی خلوص روغن به شمار میروند و از سوی دیگر اثرات مفیدی بر سلامت جسمی انسان دارند. به عنوان مثال، بتا-سیتوسترول که در این تحقیق میزان آن ۷۹/۶۸ بدست آمد، یک ماده گیاهی مشابه کلسترول است که با کاهش جذب کلسترول میزان آن را در بدن کاهش می دهد. همچنین می تواند به کاهش التهاب پروستات نیز کمک کند. فیتواسترول ها به دلیل پتانسیل آنها در کاهش سطح کلسترول سرم انسان برای سلامت بسیار مهم هستند، بنابراین منابع خوبی برای تولید غذاهای غنی شده با این استرول های گیاهی هستند (Chirinos et al., 2015) و روغن های تصفیه نشده منبع مهم این مواد در رژیم های غذایی هستند. تحقیقات نشان داده که به طور کلی آجیل ها، دانه ها و غلات منابع مهم فیتواسترول ها هستند (Ferrer et al., 2017). نتایج ما نشان می دهد که روغن دانه های نارنج

شاخص صابونی شدن پارامتری در تعیین تقلب می باشد که می تواند اطلاعاتی در خصوص اسید چرب بدهد. مقدار عدد اسیدی به طور مستقیم با مقدار صابونی شدن متناسب می باشد.

در شکل (۲) طیف $^1\text{H NMR}$ روغن هسته *Citrus aurantium L.* را نشان داده شده است که به صورت سیگنالهای طیف از a تا h علامت گذاری شده اند. اسیدهای چرب آزاد محصولات هیدرولیز تری گلیسرید در روغن های گیاهی هستند. غلظت اسیدهای چرب آزاد در روغن های گیاهی به عوامل متعددی از جمله کیفیت و تنوع مواد خام، شرایط جمع آوری، پردازش، ذخیره سازی آن بستگی دارد. $^1\text{H NMR}$ روغن های گیاهی قبلا در مقالات گزارش شده است (Di Pietro et al., 2020). از آنجایی که مساحت سیگنال ها در طیف $^1\text{H NMR}$ روغن هسته *Citrus aurantium L.*، شکل (۲)، با تعداد هیدروژن های هر نوع در نمونه متناسب است، ترکیب اسید چرب را می توان از طریق رابطه بین نواحی از سیگنال های مشخصه هر زنجیره اسید چرب و یکی از آنها تعیین کرد، آنهایی که از ستون فقرات گلیسرول در طیف $^1\text{H NMR}$ هستند. سیگنال h پروتون های الفینی و یک پروتون متین در گروه گلیسرل، سیگنالهای f پروتون های متیلن در گروه گلیسرل، سیگنال C پروتون های دی وینیل متیلن، سیگنالهای e، d و c به ترتیب مربوط به پروتون های آلفا-متیلن در مجاورت کربن کربنیل، پروتون های آیل متیلن و پروتون های بتا-متیلن از کربن کربنیل می باشند. سیگنال b پروتون های متیلن بر روی اتم های کربن اشباع را نشان می دهند و سیگنال های a بیانگر پروتون های متیل اسید چرب می باشند. به همین ترتیب، شکل (۲) و جدول (۶)، طیف و اطلاعات $^{13}\text{CNMR}$ مربوط به ترکیب اسیدهای چرب و گلیسرول را نشان می دهد. همان طور که در شکل (۲) مشاهده می شود، رزونانس ها در نواحی ۱۷۲/۳۰ تا

یک روش تعیین شده برای اندازه گیری میزان اسیدهای چرب آزاد، "عدد اسیدی" نامیده می شود که به عنوان مقدار هیدروکسید پتاسیم (میلی گرم KOH) مورد نیاز برای خنثی کردن کسر اسیدی در یک گرم نمونه است. عدد اسیدی یک پارامتر مهم برای ارزیابی کیفیت در تعیین اسیدهای چرب آزاد در روغن است که مستقیماً بر خواص آن تاثیر می گذارد (Di Pietro et al., 2020). عدد اسیدی، عدد پراکسید و عدد صابونی بدست آمده در این تحقیق به ترتیب ۱/۲ میلی گرم KOH بر کیلوگرم روغن، ۵/۱ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن می باشد. مقادیر پایین عدد اسیدی و عدد پراکسید نشان دهنده مقدار پایین اسیدهای چرب آزاد و محصولات جانبی اکسیداسیون از جمله هیدروپراکسیدها و آلدئیدها در روغن هستند. در واقع هر روغنی با عدد پراکسید بالاتر از ۱۵ میلی اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن (میلی گرم KOH / گرم روغن) برای مصرف انسان نامناسب در نظر گرفته می شود. عدد صابونی گزارش شده در این مطالعه (۳۰۱ میلی گرم KOH / گرم روغن) بالاتر از روغن های گیاهی خوراکی رایج از جمله روغن آفتابگردان (۱۹۴-۱۸۸ میلی گرم KOH / گرم روغن)، روغن سویا (۱۹۵-۱۸۹ میلی گرم KOH / گرم روغن) و روغن زیتون بکر (۱۹۶-۱۸۴ میلی گرم KOH / گرم روغن) می باشد (Timilsena et al., 2017). این عدد صابونی بالا نشان می دهد که روغن هسته *Citrus aurantium L.* حاوی نسبت بیشتری از اسیدهای چرب زنجیره کوتاه در مقایسه با روغن های گیاهی فوق الذکر است (Nollet and Toldrá). تغییر در پروفایل اسیدهای چرب می تواند دلیل مخلوط کردن یک روغن با سایر روغن ها باشد. در این پژوهش پروفایل اسید چرب در روغن هسته *Citrus aurantium L.* مطابق استاندارد بوده و از نظر ویژگی های کیفی (اسیدیته، پراکسید) و ویژگی های فیزیوشیمیایی (عدد صابونی) وضعیت مطلوبی دارد.

۱۷۲/۶۹ مربوط به کربن‌های کربوکسی اسیدهای چرب آزاد و کربن‌های گلیسرول می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

روغن هسته *Citrus aurantium* L. با چهار روش مختلف استخراج شد که بیشترین بازده مربوط به استخراج با کمک پراب مافوق صوت بدست آمد. در مجموع با توجه به نتایج بدست آمده، روغن بدست آمده از هسته *Citrus aurantium* L. حاوی اسیدهای چرب مفید از جمله لینولنیک اسید می‌باشد. علاوه بر این، مقادیر قابل توجه فیتواسترول‌ها (بتاستروسترول و استیگما استرول) در روغن مشاهده شد. پارامترهای فیزیکوشیمیایی استانداردهای قابل توجه کیفیت خوب روغن هسته نارنج را نشان دادند. ترکیب اسیدهای چرب توسط GC-MS نشان داد که اسیدهای چرب پالمیتیک، اولئیک و لینولنیک غالب بودند. با استفاده از داده‌های به دست آمده از $^1\text{H NMR}$ و $^{13}\text{C NMR}$ اسیدهای چرب موجود در روغن هسته *Citrus aurantium* L. بدون پیش نیاز به آماده سازی و تسویه شناسایی شدند. روغن هسته *Citrus aurantium* L. می‌تواند به عنوان منبع مهم حاوی امگا ۳ و سایر ترکیبات زیست فعال به عنوان افزودنی به روغن‌های گیاهی خوراکی و مکمل‌های خوراکی مورد توجه قرار بگیرد. در تحقیقات آتی

می‌توان مقادیر فنول تام و پروتئین روغن اندازه‌گیری شود و همچنین روش‌های مختلف استخراج مورد بررسی قرار بگیرد. نیاز به مطالعات بیشتری می‌باشد تا پروفایل کامل فیتوشیمیایی روغن هسته *Citrus aurantium* L. به همراه ترکیبات زیست فعال دیگری که در صنایع غذایی، دارویی و آرایشی مفید است مشخص گردد. بنابراین، داده‌های به دست آمده از مطالعه حاضر می‌تواند برای کمک به کاربرد بالقوه این روغن‌ها در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی، و صنایع دارویی، همچنین کاهش آلودگی زیست‌محیطی تولید شده توسط این ضایعات حاصل از میوه *Citrus aurantium* L. مورد استفاده قرار گیرد. استفاده از تفاله در صنایع غذایی می‌تواند فرصت‌هایی برای کاهش هزینه‌های تولید و ایجاد منبع غذایی جدید برای مصرف انسان ایجاد کند و در این خصوص نیاز مبرمی به توسعه تکنیک‌های استخراج جایگزین وجود دارد که استخراج مؤثرتری را ارائه کند.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید بهشتی کمال تشکر و قدردانی را دارند. این مقاله بخشی از رساله دکتری خانم معصومه صادقی نیک می‌باشد.

References

1. Wiley 7.0 In "Wiley's Scientific, Technical, and Medical Databases". Wiley's Scientific, Technical, and Medical Databases, Wiley's Scientific, Technical, and Medical Databases.
2. Abou Baker, D.H., Ibrahim, B.M., Hassan, N.S., Yousuf, A., and El Gengaihi, S. 2020. Exploiting *Citrus aurantium* seeds and their secondary metabolites in the management of Alzheimer disease. *Toxicology Reports*, 7: 723-729.
3. Abou Baker, D.H., and Rady, H.M. 2020. Bioassay-guided approach employed to isolate and identify anticancer compounds from *Physalis peruviana* calyces. *Plant archives*, 20: 3285-3291.
4. Adams, R.P. 2007. "Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectrometry," Allured publishing corporation Carol Stream, IL.
5. Aka, C., KOCA ÇALIŞKAN, U., Baykara, F., and Şekeroğlu, N. 2017. Pharmacopoeia analysis of *Citrus aurantium* L. ssp *amara* engl. and its fixed oil content. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* 51.
6. AOCS, O. 1998. Methods and recommended practices of the American

- Oil Chemists' Society. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL, USA.
7. Cabral, C.E., and Klein, M.R.S.T. 2017. Phytosterols in the treatment of hypercholesterolemia and prevention of cardiovascular diseases. *Arquivos brasileiros de cardiologia*, 109: 475-482.
 8. Carrín, M. E., and Crapiste, G. H. 2008. Mathematical modeling of vegetable oil-solvent extraction in a multistage horizontal extractor. *Journal of Food Engineering*, 85: 418-425.
 9. Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., and Abert-Vian, M. 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34: 540-560.
 10. Chirinos, R., Pedreschi, R., Domínguez, G., and Campos, D. 2015. Comparison of the physico-chemical and phytochemical characteristics of the oil of two *Plukenetia* species. *Food Chemistry*, 173: 1203-1206.
 11. Di Pietro, M. E., Mannu, A., and Mele, A. 2020. NMR determination of free fatty acids in vegetable oils. *Processes*, 8: 410.
 12. Faborode, M.O., Owolarafe, O.K., Lasisi, A. A., Kasali, S., and Oguntuase, K.S. 2003. Assessment of seed-oil extraction technology in some selected states in Nigeria. *Technovation*, 23: 545-553.
 13. Ferrer, A., Altabella, T., Arró, M., and Boronat, A. 2017. Emerging roles for conjugated sterols in plants. *Progress in lipid research*, 67: 27-37.
 14. Garidel, P., Fölting, B., Schaller, I., and Kerth, A. 2010. The microstructure of the stratum corneum lipid barrier: mid-infrared spectroscopic studies of hydrated ceramide: palmitic acid: cholesterol model systems. *Biophysical chemistry*, 150: 144-156.
 15. Hamed, A., Zarshenas, M.M., Jamshidzadeh, A., Ahmadi, S., Heidari, R., and Pasdaran, A. 2019. *Citrus aurantium* (bitter orange) seeds oil: pharmacognostic, anti-inflammatory and anti-nociceptive properties. *Trends in Pharmaceutical Sciences*, 5: 153-164.
 16. Helrich, K. 1990. "Official methods of analysis of the association of official analytical Chemists," Association of official analytical chemists.
 17. Liaqat, I., Riaz, N., Saleem, Q.-u.-A., Tahir, H. M., Arshad, M., and Arshad, N. 2018. Toxicological evaluation of essential oils from some plants of Rutaceae family. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2018.
 18. Liu, W., Fu, Y.-J., Zu, Y.-G., Tong, M.-H., Wu, N., Liu, X.-L., and Zhang, S. 2009. Supercritical carbon dioxide extraction of seed oil from *Opuntia dillenii* Haw. and its antioxidant activity. *Food Chemistry*, 114: 334-339.
 19. Luzia, D.M., and Jorge, N. 2013. Bioactive substance contents and antioxidant capacity of the lipid fraction of *Annona crassiflora* Mart. seeds. *Industrial Crops and Products*, 42: 231-235.
 20. Metcalfe, L., Schmitz, A. A., and Pelka, J. 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Analytical chemistry*, 38: 514-515.
 21. Nollet, L.M., and Toldrá, F. 2015. *Handbook of Food Analysis*. pdf.
 22. Siger, A., Michalak, M., and Rudzińska, M. 2016. Canolol, tocopherols, plastoquinone-8, and phytosterols content in residual oil extracted from rapeseed expeller cake obtained from roasted seed. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 118: 1358-1367.
 23. Stevanato, N., and da Silva, C. 2019. Radish seed oil: Ultrasound-assisted extraction using ethanol as solvent and assessment of its potential for ester production. *Industrial Crops and Products*, 132: 283-291.
 24. Tian, Y., Xu, Z., Zheng, B., and Martin Lo, Y. 2013. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20: 202-208.
 25. Timilsena, Y.P., Vongsvivut, J., Adhikari, R., and Adhikari, B. 2017. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil. *Food chemistry*, 228: 394-402.
 26. Waheed, A., Mahmud, S., Saleem, M., and Ahmad, T. 2009. Fatty acid composition of neutral lipid: Classes of *Citrus* seed oil. *Journal of Saudi Chemical Society*, 13: 269-272.
 27. Yang, Y., Zhang, M., Li, J., Su, Y., Gu, L., Yang, Y., and Chang, C. 2022. Construction of egg white protein particle and rhamnolipid based emulsion gels with β -sitosterol as gelation factor: The application in cookie. *Food Hydrocolloids*, 107479.

Comparison of physicochemical properties and fatty acid profile of seed oil from *Citrus aurantium* L. extraction in different extraction methods

Sadeghi Nik, M.¹, Nejad Ebrahimi, S.^{2*}

¹PhD student, Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

²Associate Professor, Department of Phytochemistry, Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: 30-12-2021; Accepted: 8-3-2022

Abstract

Citrus aurantium L. seed is a by-product of fruit juice industries. In this research, the main fatty acids and phytosterols in *C. aurantium* seed oil were evaluated with the aim of nutritional evaluation and its biological properties. The *C. aurantium* oil extracted by two methods of cold pressing and using hexane solvent. The *C. aurantium* seed fatty acids composition was analyzed by GC-MS, ¹HNMR, and ¹³CNMR. In addition, the effects of ultrasonic waves and air pressure on the *C. aurantium* pulp obtained from cold press extraction by n-hexane was studied. The findings showed that the highest oil yields were obtained using ultrasound-assisted extraction (25%) compared to other methods. The five fatty acids including 9-oleic (18.07%), Linoleic (36.69%), palmitic (21.90%), stearic acid (6.6%) and 10-oleic acids (1.1%) were the most phytosterols in *C. aurantium* seed oil. According to the obtained results, *C. aurantium* oil can be considered as a new food source.

Keywords: *Citrus aurantium* L., extraction methods, Fatty acids, seed oil.

*Corresponding author; s_ebrahimi@sbu.ac.ir