DOI: 10.22059/ijbse.2019.266158.665096 مهندسی بیوسیستم ایران، دوره ۵۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸ (ص ۳۹۸-۳۸۹)

Analysis and Comparison of *Sardasht Black Grape* Seed Oil Extracted by Hexane as Solvent with and without the Ultrasound

ALI EBRAHIMI MALATI[1], KARAMATOLLAH REZAI[2*], AMIR POURFARZAD [3], ZAHRA PIRAVI VANAK [4], ROUHOLLAH KARIMI[5]

1. Ph.D. Student, Department of Food Science and Technology, Research Institute of Grapes and Raisins, University of Malayer, Malayer, Iran.
2. Professor, Department of Food Science, Engineering and Technology, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.
4. Associate Professor, Food Industries and Agriculture Research Center, Standard Research Institute of Iran, Karaj, Iran.
5. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Research Institute of Raisins and Grapes, University of Malayer, Malayer, Iran.

(Received: Dec. 15, 2018- Revised: Feb. 14, 2019- Accepted: March. 5, 2019)

ABSTRACT

In the present study, two methods were used to extract oil from seeds of *Sardasht black grape* with normal-hexane as solvent (with and without the use of ultrasonic waves). The results indicate that the optimum conditions to extract the oil when applying hexane as solvent without ultrasound were 30 °C, 60 min extraction time, 15:1 (ml/g) solvent to sample ratio, and mesh of 40 for sample size and 45 °C as the temperature, 20 min extraction time, 10:1 (ml/g) solvent to sample ratio and sample size at mesh 40 when sonication is applied. The extraction yield in the absence of ultrasound was 17%. Similarly, the optimum state of the extracted oil by applying hexane in the presence of ultrasound included 30 °C as the extraction temperature, 15 min extraction time, 15:1 as the ratio of solvent to the sample (ml/g) and 40 as the mesh size. The extraction yield in this case was 25%.

Keywords: Grape seed oil, Extraction, Ultrasonic, Fatty acid composition.

* Corresponding Author's Email: krezaee@ut.ac.ir

بررسی و مقایسه روغن هسته انگور سیاه سردشت استخراج شده به وسیله حلال هگزان، با و بدون کمک امواج فراصوت

علی ابراهیمی ملاطی[۱]، کرامت اله رضایی[۲]*، امیر پورفرزاد[۳] ، زهرا پیراوی ونک[۴] ، روح الله کریمی[۵]

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، پژوهشکده انگور و کشمش، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

۲. استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۳. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

۴. دانشیار، پژوهشکده غذایی و کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران.

۵. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، پژوهشکده کشمش و انگور، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

(تاریخ دریافت: ۲۴/ ۹/ ۱۳۹۷- تاریخ بازنگری: ۲۵/ ۱۱/ ۱۳۹۷- تاریخ تصویب: ۱۴/ ۱۲/ ۱۳۹۷)

چکیده

در این مطالعه از دو روش استخراج به وسیله حلال هگزان نرمال با کمک امواج فراصوت و بدون کمک امواج فراصوت برای استحصال روغن از هسته انگور سیاه سردشت استفاده شد. نتایج نشان داد که حالت بهینه استخراج به وسیله حلال هگزان بدون کمک امواج فراصوت (دمای ۳۰ درجه سلسیوس، زمان استخراج ۶۰ دقیقه، نسبت حلال به نمونه ۱۵ به ۱ میلی لیتر به گرم، اندازه نمونه الک شده با مش ۴۰) و (دمای ۴۵ درجه سلسیوس، زمان ۲۰ دقیقه، نسبت حلال به نمونه ۱۰ به ۱ میلی لیتر به گرم، اندازه نمونه الک شده با مش۴۰) با بازده استخراج ۱۷٪ و حالت بهینه استخراج به وسیله حلال هگزان با کمک امواج فراصوت (دمای ۳۰ درجه سلسیوس، زمان استخراج ۱۵دقیقه، نسبت حلال به نمونه ۱۵ به ۱ میلی لیتر به گرم و اندازه ذره الک شده با مش ۴۰) با بازده استخراج ۲۵٪ می باشند.

واژه‌های کلیدی: روغن هسته انگور، استخراج، فراصوت، ترکیب اسید چرب.

مقدمه

طبق آمار سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO) در سال ۲۰۱۴ میوه انگور (*Vitis vinifera*) جزء بیشترین محصولات میوه ای دنیا با تولید جهانی حدود ۷۵ میلیون تن در سال به حساب می آید. هسته ها نسبت قابل ملاحظه ای از تفاله انگور (۵۲ – ۳۵ درصد ماده خشک) را تشکیل می دهند. روغن هسته انگور از نظر اسیدهای چرب غیر اشباع و به طور خاص لینولئیک اسید غنی می باشد. همچنین این روغن محصول بسیار مهمی در ایتالیا، فرانسه و اسپانیا بوده و میزان تقاضا برای آن در دیگر نقاط اروپا نیز در حال افزایش است. روغن هسته انگور نه تنها منبع غنی از اسیدهای چرب با ارزش بوده، بلکه به خاطر داشتن ترکیبات فنلی مانند گالیک اسید، کاتچین[۱]، اپی کاتچین[۲] و گستره ی وسیعی از پروسیانیدین ها مورد توجه می باشد (Izadi *et al.*, 2008; Hashemi, 1985). روغن زیتون مقادیر فراوان اسیدهای چرب غیر اشباع با یک باند دو گانه دارد. مصرف روغن زیتون موجب کاهش کلسترول بد [۳](LDL) بدون تاثیر بر کلسترول خوب [۴](HDL) می گردد، درحالیکه مطابق بررسی های به عمل آمده مشخص گردید که مصرف روغن هسته انگور نه تنها موجب کاهش میزان LDL می شود بلکه سبب افزایش میزان HDL نیز می گردد. از لحاظ شیمیایی می توان به وجود میزان چشمگیری اسیدهای چرب ضروری و ویتامین های محلول در چربی در این روغن اشاره داشت (Movahed & Ghavami, 2007).

از روش های مختلفی جهت استخراج روغن از هسته انگور استفاده می شود که مهمترین آن ها استخراج با استفاده از حلال های سرد و گرم، استخراج با استفاده از پرس سرد و گرم، استفاده از امواج فراصوت، استفاده از امواج مایکروویو و استفاده از دی اکسید کربن فوق بحرانی می باشد (Malek, 2000).

طبق بررسی های انجام شده بر روی استخراج روغن با استفاده از حلال هگزان مشخص گردید که این حلال بازده خوبی نسبت به دیگر حلال ها دارد. اما به دلیل میزان مصرف بالا و

* نویسنده مسئول: krezaee@ut.ac.ir

1. Catechin
2. Epicatechin
7. Low Density Lipoprotein
4. High Density Lipoprotein

باقیماندن در محصول، محدودیت هایی در کاربرد آن بخصوص در مواد خوراکی به وجود آورده است. به همین دلیل بهره گیری از روش های نوین مثل مایکروویو، میدان های الکتریکی پالسی و امواج فراصوت غالبا باعث افزایش سرعت و راندمان استخراج روغن می شود (Vilkhu, 2008).

استخراج به کمک امواج فراصوت یکی از مهم ترین روش های استحصال ترکیبات ارزشمند از منابع گیاهی است (Mason, 1998). به نظر می رسد در مقایسه با سایر روش های استخراج، از جمله استخراج بر پایه مایکروویو، استفاده از امواج فراصوت ارزان تر بوده و کاربرد آن ساده تر است. مکانیسم اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده کاویتاسیون مربوط می شود که طی آن حباب های بسیار ریزی در توده مایع تشکیل شده و به سرعت تا یک اندازه بحرانی رشد می کنند و سپس منفجر می گردند (Chen & Ding., 2008).

در مطالعه ای که درخصوص اثر استفاده از امواج فراصوت بر استخراج روغن از دانه های آسیاب شده زیتون انجام پذیرفت، مشخص شد دیواره سلول ها و بافت های گیاهی در حضور این امواج تخریب شده، ترکیبات آنتی اکسیدانی (پلی فنل ها و توکوفرول ها) و رنگدانه های کلروفیل و کاروتنوئید بیشتری به داخل روغن راه می یابند (Jimenez & Beltran., 2007).

در بیشتر موارد به دلیل اثرات مکانیکی امواج فراصوت، غالبا از آنها به عنوان عامل کمکی در فرایند استخراج استفاده می شود (Mason *et al*., 1996). معمولا، برای استخراج روغن های با ارزش اقتصادی بالا، از جمله هسته انگور که از نظر تغذیه ای نیز بسیار با اهمیت است، شرایط باید به گونه ای فراهم شود که ضمن دستیابی به حداکثر راندمان استحصال، فرایند نیز در کوتاهترین زمان ممکن انجام شود تا کمترین آسیب به روغن وارد گردد (Zhang *et al*, 2008; Ying *et al*, 2005).

Rodriguez *et al.* (2005) استخراج اسیدهای چرب روغن هسته انگور با استفاده از هگزان فوق گرم را در مقایسه با روش سوکسله و هگزان گرم مورد بررسی قرار دادند. متغیرهای موثر بر فرآیند استخراج عبارت بود از زمان استخراج، دما، فشار و اندازه ذره. نتایج به دست آمده شرایط بهینه برای استخراج روغن هسته انگور با استفاده از حلال هگزان فوق گرم را زمان استخراج ۱۰ دقیقه، دما۸۰ درجه سلسیوس، فشار۴۰ بار، اندازه ذره نمونه (d <۰/۴۲mm) نشان داد. Freitas *et al*, (2008) استخراج روغن هسته انگور با استفاده از دو روش دی اکسید کربن و پروپان فشرده، با تعیین بازده استخراج و ترکیبات گلیسرول آزاد را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آزمایشات نشان داد که پروپان نسبت به دی اکسید کربن به دلیل راندمان استخراج بالاتر و مدت استخراج کوتاهتر، حلال مناسب تری برای استخراج روغن هسته انگور می باشد.

Mir Hosseini *et al.* (2013) استخراج روغن هسته پاپایا را با کمک امواج فراصوت مورد ارزیابی قرار داده و با روش های متداول استخراج مانند سوکسله مقایسه نمودند. راندمان استخراج در هر دو روش استخراج به کمک امواج فراصوت و سوکسله تقریبا مشابه بود. همچنین نشان داده شد که امواج فراصوت تاثیر قابل ملاحظه ای بر ترکیب تری آسیل گلیسرول های روغن هسته پاپایا دارد، اما اختلاف معنی داری در ترکیب اسیدهای چرب روغن هسته پاپایا به دست آمده از روش های مختلف استخراج در این مطالعه مشاهده نشد.

Movahed & Ghavami (2007) سه نمونه روغن هسته انگور ایرانی را با روش سوکسله استخراج و با دو نمونه روغن هسته انگور وارداتی از نظر ترکیب اسیدهای چرب و ویژگی های کیفی مورد مقایسه قرار دادند. نتایج نشان داد که ترکیب اسیدهای چرب غالب در نمونه بهینه روغن های داخلی شامل پالمیتیک اسید (۹/۹۴ درصد)، استئاریک اسید (۵/۲۹ درصد)، اولئیک اسید (۱۹/۵۵ درصد) و لینولئیک اسید (۶۲/۵۵ درصد) می باشد. با توجه به ترکیب اسیدهای چرب، عددپراکسید، زمان مقاومت روغن به اکسیداسیون و درصد اسید چرب آزاد مشخص شد که ضمن وجود تفاوت ها و شباهت هایی در میان برخی واریته های روغن هسته انگور ایرانی با انواع وارداتی، روغن هسته انگور ایرانی می تواند به عنوان روغن مناسب پخت و پز معرفی گردد.

با بررسی مطالعات انجام شده مشخص گردید که بر روی استخراج روغن از هسته انگور سیاه سردشت با استفاده از حلال هگزان با و بدون کمک امواج فراصوت و مقایسه کمی و کیفی این دو روش، مطالعه ای به انجام نرسیده است. هدف از این پژوهش تعیین مقدار روغن قابل استخراج از هسته انگور سیاه سردشت به وسیله حلال هگزان با و بدون کمک امواج فراصوت می باشد. همچنین، به منظور بررسی کیفی نمونه روغن های حاصل از دو روش استخراج، پارامترهای عدد پراکسید، عدد اسیدی، عدد صابونی، فنل کل، قدرت آنتی اکسیدانی، عدد یدی و ترکیب اسیدهای چرب مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند.

مواد و روش ها

هسته انگور سیاه سردشت از کارخانه تولید آبمیوه تکدانه خریداری گردید. سپس هسته ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۵۰ درجه سلسیوس تا رسیدن به رطوبت ۷ درصد خشک شدند. در این رطوبت آنزیم ها و میکروارگانیسم ها قادر به ادامه حیات و تکثیر نمی باشند. سپس با استفاده از دستگاه آسیاب خانگی

نیولایف مدل SCG-23W-504، نمونه ها آسیاب و با استفاده از الک مجهز به شیکر با دور ۲۰۰rpm در اندازه های مختلف با مش ۱۰، ۲۰ و ۴۰ جداسازی شده و تا زمان انجام عملیات استخراج در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید. از دو روش استخراج بوسیله حلال با و بدون کمک امواج فراصوت برای استخراج روغن هسته انگور استفاده گردید. لازم به ذکر است کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

استخراج با استفاده از حلال هگزان بدون کمک امواج فراصوت: برای استخراج روغن هسته انگور از حلال *n*- هگزان استفاده شد. در این روش تاثیر متغیرهای دما (۳۰، ۴۵ و ۶۰ درجه سلسیوس)، زمان استخراج (۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه)، اندازه نمونه یا مش الک (۱۰، ۲۰ و ۴۰) و نسبت حلال به نمونه (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی لیتر به گرم) به روش طرح تاگوچی مطابق جدول ۱ مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، از دستگاه شیکر انکوباتور حرارتی شرکت نور صنعت فردوس مدل S.H.E.R با دامنه دمایی ۷۵-۵ درجه سلسیوس برای این آزمون استفاده گردید که قابلیت تنظیم دما و زمان را دارد. ابتدا، نمونه با استفاده از آسیاب، خرد شده و با استفاده از الک با مش های ۱۰، ۲۰ و ۴۰ جداسازی گردید. سپس با نسبت های در نظر گرفته شده حلال مخلوط و در زمان ها و دماهای در نظر گرفته شده مورد استخراج قرار گرفت. برای صاف نمودن محلول از تفاله، از صافی واتمن شماره ۱ و پمپ خلا و برای جداسازی کامل حلال از روغن، از دستگاه روتاری تحت خلا استفاده شد. در نهایت، جهت جداسازی کامل حلال باقیمانده، روغن به دست آمده را به مدت ۵ ساعت در آون تحت خلا با دمای ۶۵ درجه سلسیوس قرار داده و بعد از آن با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ روغن حاصله توزین گردید تا میزان دقیق روغن نمونه ها بدست آید. سپس نمونه بهینه از نظر میزان بازده استخراج مشخص و تا انجام آزمون های شیمیایی به یخچال منتقل و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

استخراج با استفاده از حلال هگزان با کمک امواج فراصوت: برای استخراج روغن هسته انگور از نمونه ها با کمک امواج فراصوت، از دستگاه فراصوت شرکت Elmasonic مدل DSA100-SK2 با فرکانس ۶۰KHz مجهز به تنظیم کننده دما-زمان و حلال *n*-هگزان استفاده شد. لازم به ذکر است در این قسمت تاثیر متغیر های دما (۳۰، ۴۵ و۶۰ درجه سلسیوس)، زمان استخراج (۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه)، اندازه نمونه یا مش (۱۰، ۲۰ و ۴۰) و نسبت حلال به نمونه (۵، ۱۰ و ۱۵ میلی لیتر به گرم) به روش طرح تاگوچی مطابق جدول ۲ مورد بررسی قرار گرفت. مراحل آماده سازی تیمارها مانند قسمت قبل انجام شد. نمونه بهینه از نظر بازده استخراج مشخص و تا زمان انجام آزمون های کیفی در دمای ۴ درجه سلسیوس (یخچال) نگهداری شد.

آنالیزهای شیمیایی روغن

عدد پراکسید مربوط به نمونه روغن هسته انگور با روش استاندارد (AOCS, 1997) شماره ۹۶۵/۳۳ اندازه گیری شد. برای اندازه گیری عدد اسیدی نمونه های روغن از روش استاندارد (AOAC, 2000) شماره ۹۴۰/۲۸ استفاده شد.

عدد صابونی بر مبنای روش استاندارد AOCS شماره Cd ۳-۲۵ و عدد یدی بر مبنای روش استاندارد AOCS شماره Cd ۱-۸۵ تعیین گردید (AOCS, 2006).

قدرت آنتی اکسیدانی و فنل کل

به منظور تعیین اثرات آنتی اکسیدانی روغن، آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH انجام شد و نتایج حاصله مورد بررسی قرارگرفت (Brand- Williams *et al*., 1995). برای تعیین فنل کل نمونه ها از روش مایر و همکاران استفاده شد (Maier *et al*., 2009).

ترکیب اسیدهای چرب

جهت تعیین ترکیب اسیدهای چرب روغن های هسته انگور استخراج شده از روش چودار مقدس و رضایی (Chodar Moghadas & Rezaei, 2017) استفاده شد. در این روش، ابتدا متیل استر اسیدهای چرب روغن تهیه و سپس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی (Perkin Elmer, CLARUS 500, USA) مجهز به آشکارساز یونش شعله ای (FID)، ستون موئین (CP-Sil 88) با ابعاد (100 m × 0.25 mm × 0.2 µm) و حجم تزریق ۰/۵ µL مورد شناسایی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل داده ها

طراحی آزمایش ها با استفاده از روش تاگوچی انجام و فاکتورهای مورد بررسی در هر دو روش استخراج با و بدون فراصوت و همچنین سطوح آن ها در جداول ۱ و ۳ نشان داده شده اند. لذا برای ۴ متغیر در ۳ سطح از ماتریس متعامد L9 با ۹ آزمایش استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده ها به روش تاگوچی و با نرم افزار Design Expert نسخه 10.0.6 انجام شد. بدین ترتیب، ضمن بررسی اثر هر متغیر بر پاسخ سیستم، شرایط بهینه موضعی در محدوده تغییر سطح متغیرها برای رسیدن به بهترین پاسخ توسط نرم افزار به دست آمد.

نتایج و بحث

نتایج استخراج با استفاده از حلال هگزان بدون کمک امواج فراصوت: داده ها و آنالیز واریانس بازده استخراج روغن هسته انگور سیاه سردشت با استفاده از حلال هگزان و بدون کمک امواج فراصوت با استفاده از طرح تاگوچی بررسی و در جداول شماره ۱ و ۲ آورده شده است. از میان متغیرهای مورد استفاده

در استخراج به روش حلال معمولی تنها تاثیر نسبت حلال به نمونه و اندازه ذره معنی دار بود. دما و زمان استخراج تاثیر معنی داری بر بازده استخراج روغن نداشتند (p >۰/۰۵). با توجه به مقایسه مجموع مربعات مشخص می گردد که اندازه ذره دارای بیشترین تاثیر بر بازده استخراج بوده است. هیچ کدام از اثرات متقابل متغیرهای آزمون تاثیر معنی داری بر بازده استخراج ندارند (p > ۰/۰۵).

در مطالعه مشابهی، تاثیر فاکتورهای درصد اتانول، دما، اندازه ذره و مدت زمان بر روی استخراج روغن هسته انگور شاهرودی با استفاده از حلال اتانول بررسی و نتایج نشان داد که راندمان استخراج با افزایش دما، زمان و غلظت اتانول رابطه مستقیم و با افزایش اندازه ذرات اثر معکوس دارد. در میان فاکتورهای مورد بررسی اندازه ذرات بیشترین تاثیر را بر بازده استخراج روغن نشان داد. همچنین، اثر متقابل متقابل درصد اتانول و اندازه ذره بر روی راندمان استخراج روغن معنی دار شد (Shahverdi *et al.*, 2009).

جدول ۱- آرایه متعامد L9 برای متغیرهای استخراج روغن هسته انگور سیاه سردشت به روش تاگوچی با استفاده از حلال هگزان و بدون کمک امواج فراصوت

ردیف	دما (درجه سلسیوس)	مدت استخراج (دقیقه)	نسبت حلال به نمونه (میلی لیتر به گرم)	اندازه نمونه (مش)	بازده استخراج روغن (گرم روغن در صد گرم نمونه)
۱	۳۰	۲۰	۵	۱۰	۳/۵
۲	۳۰	۴۰	۱۰	۲۰	۷/۰
۳	۳۰	۶۰	۱۵	۴۰	۱۷/۰
۴	۴۵	۲۰	۱۰	۴۰	۱۷/۰
۵	۴۵	۴۰	۱۵	۱۰	۹/۵
۶	۴۵	۶۰	۵	۲۰	۶/۵
۷	۶۰	۲۰	۱۵	۲۰	۹/۰
۸	۶۰	۴۰	۵	۴۰	۱۲/۰
۹	۶۰	۶۰	۱۰	۱۰	۸/۵

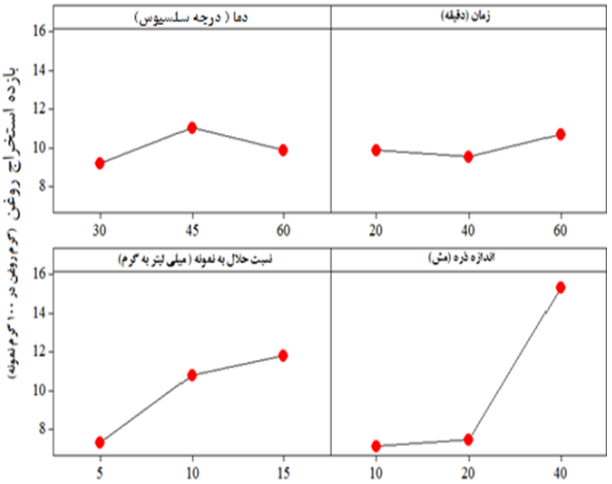
جدول ۲- آنالیز واریانس بازده استخراج روغن هسته انگور سیاه سردشت با استفاده از حلال هگزان و بدون کمک امواج فراصوت مطابق با طرح تاگوچی

منبع	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	مربع میانگین (MS)	آزمون F (F-Value)	معنی داری آماری (P-Value)
مدل	۱۶۹	۸	۲۱/۱۲۵	۲۲/۰۴۵	۰/۰۰۵
A (دما)	۵/۱۶۷	۲	۲/۵۸۳	۲/۳۸۰	۰/۲۹۶
B(زمان)	۲/۱۶۷	۲	۱/۰۸۳	۰	۱
C(نسبت حلال به ماده جامد)	۳۳/۵۰۰	۲	۱۶/۷۵۰	۹/۱۳۶	۰/۰۳۲
D(اندازه ذره)	۱۲۸/۱۶۸	۲	۶۴/۰۸۳	۳۴/۹۵۵	۰/۰۰۳
AB	.	.			Ns
AC	.	.			Ns
AD	.	.			Ns
BC	.	.			Ns
BD	.	.			Ns
CD	.	.			Ns
خطای خالص	۰	۰			
مجموع	۱۶۹	۸			

تعیین سطوح بهینه متغیرهای مستقل جهت حصول بیشترین بازده استخراج روغن به روش حلال بدون فراصوت انجام گردید. شرایط بهینه به دست آمده توسط نرم افزار Design Expert شامل دو حالت زیر بود:

۱: دمای ۳۰ درجه سلسیوس، زمان استخراج ۶۰ دقیقه، نسبت حلال به نمونه ۱۵ به ۱ (میلی لیتر به گرم)، اندازه نمونه الک شده با مش ۴۰

۲: دمای ۴۵ درجه سلسیوس، زمان استخراج ۲۰ دقیقه، نسبت حلال به نمونه ۱۰ به ۱ (میلی لیتر به گرم)، اندازه نمونه الک شده با مش ۴۰



شکل ۱- تاثیر شرایط مختلف آزمایش بر بازده استخراج روغن هسته انگور سیاه سردشت با استفاده از حلال هگزان و بدون کمک امواج فراصوت

الف) اثر دما: میزان استخراج روغن از دمای ۳۰ به ۴۵ درجه سلسیوس روند صعودی را نشان می دهد. در صورتیکه این میزان از دمای ۴۵ تا۶۰ درجه سلسیوس روند نزولی و کاهشی را از خود نشان می دهد. به عبارت بهتر دمای بهینه استخراج با توجه به این نمودار دمای ۴۵ درجه سلسیوس می باشد.

در مطالعه مشابهی طبق بررسی پارامترهای موثر بر راندمان استخراج روغن از دانه های انگور شاهرودی بوسیله حلال اتانول و با روش طراحی آزمایشات آماری نشان داده شد که با افزایش دما، میزان روغن استخراج شده افزایش می یابد. در این مطالعه از دماهای ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درجه سلسیوس استفاده گردید. دلیل این افزایش، کمک کردن دما به افزایش سرعت انحلال روغن در حلال است (Shahverdi *et al.*, 2009) .

ب) اثر مدت استخراج: تفاوت قابل ملاحظه ای بین زمان های ۲۰ و ۴۰ دقیقه وجود ندارد ولی در زمان ۶۰ دقیقه شاهد افزایش میزان استخراج روغن بودیم. در واقع، با افزایش مدت استخراج، بازده استخراج افزایش می یابد که این موضوع در مطالعات گذشته نیز صادق است و با افزایش زمان، میزان روغن قابل استحصال به دلیل افزایش مدت مجاورت حلال با هسته ها افزایش یافته و در نتیجه روغن بیشتری از دانه خارج می شود. البته، موضوع قابل توجه این است که با افزایش زمان، میزان روغن موجود در حلال افزایش یافته و مقدار روغن موجود هسته نیز کاهش می یابد که این موضوع باعث کاهش نیروی محرکه می شود. بنابراین انتظار می رود که با طولانی تر شدن زمان عملیات، بازده استخراج تغییر نکند.

ج) اثر نسبت حلال به نمونه: با افزایش نسبت حلال به نمونه میزان استخراج از نظر کمی افزایش می یابد. بطوریکه، این مقدار در نسبت حلال به نمونه ۵ به ۱ به مراتب کمتر از نسبت حلال به نمونه ۱۵ به ۱ می باشد. در یک مطالعه مشابه، اثر درصد حلال اتانول بر استخراج روغن هسته انگور مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که با افزایش درصد اتانول، میزان تولید روغن افزایش می یابد. از آنجا که اتانول یک ترکیب دو خصلتی است بنابراین به عنوان پلی بین روغن و آب عمل کرده که این موضوع به خروج روغن از درون هسته ها کمک می کند. در نتیجه با افزایش درصد اتانول، استخراج روغن افزایش می یابد (Shahverdi *et al.*, 2009).

د) اثر اندازه نمونه (مش): با افزایش شماره مش الک، اندازه ذرات نمونه کاهش می یابد. هر چقدر اندازه ذرات کوچکتر باشد میزان سطح تماس نمونه با حلال افزایش یافته و در نتیجه میزان استخراج روغن افزایش خواهد یافت. در این مطالعه، میزان استخراج در نمونه های الک شده با مش ۴۰ بسیار بالاتر از این میزان در مش های ۱۰ و ۲۰ می باشد (شکل ۱). همچنین، تاثیر فاکتور اندازه ذره بر میزان استخراج روغن از هسته انگور بسیار بالاتر از سایر فاکتورهای مورد بررسی بود که این موضوع در مطالعات قبلی انجام شده نیز مشهود است.

نتایج استخراج با استفاده از حلال هگزان با کمک امواج فراصوت

داده ها و نتایج آنالیز واریانس بازده استخراج روغن هسته انگور سیاه سردشت با استفاده از حلال هگزان نرمال و با کمک امواج فراصوت با استفاده از طرح تاگوچی بررسی و در جداول شماره ۳ و ۴ آمده است. بررسی مجموع مربعات و نیز احتمال مربوط به معنی داری، از بین متغیرهای مورد بررسی در استخراج روغن تنها اندازه ذره معنی دار و دارای بیشترین تاثیر بر بازده استخراج بوده است. تعیین سطوح بهینه متغیرهای مستقل جهت حصول بیشترین بازده استخراج روغن به روش فراصوت انجام گردید. شرایط بهینه به دست آمده شامل دمای ۳۰ درجه سلسیوس، مدت استخراج ۱۵دقیقه، نسبت حلال به نمونه ۱۵ به ۱ و اندازه ذره با مش ۴۰ بود. میزان بازده استخراج در شرایط بهینه روش فراصوت از روش معمولی با حلال بالاتر و نیز مدت زمان فرآیند کوتاه تر بود که این موضوع را می توان به اثر تشدید کنندگی امواج فراصوت بر روی تسهیل عمل استخراج روغن نسبت داد. همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است تاثیر متغیر های مختلف بر میزان استخراج روغن هسته انگور با استفاده از حلال هگزان و با کمک امواج فراصوت به شرح ذیل می باشد.

جدول ۳- آرایه متعامد L9 برای متغیرهای استخراج روغن هسته انگور سیاه سردشت به روش طرح تاگوچی با استفاده از حلال هگزان و با کمک امواج فراصوت

ردیف	دما (درجه سلسیوس)	مدت استخراج (دقیقه)	نسبت حلال به نمونه (میلی لیتر به گرم)	اندازه نمونه (مش)	بازده استخراج روغن (گرم روغن در صد گرم نمونه)
۱	۳۰	۵	۵	۱۰	۱۰/۰
۲	۳۰	۱۰	۱۰	۲۰	۱۶/۰
۳	۳۰	۱۵	۱۵	۴۰	۲۵/۰
۴	۴۵	۵	۱۰	۴۰	۱۸/۰
۵	۴۵	۱۰	۱۵	۱۰	۱۰/۰
۶	۴۵	۱۵	۵	۲۰	۱۰/۰
۷	۶۰	۵	۱۵	۲۰	۱۱/۰
۸	۶۰	۱۰	۵	۴۰	۱۸/۵
۹	۶۰	۱۵	۱۰	۱۰	۱۱/۰

جدول ۴- آنالیز واریانس بازده استخراج روغن هسته انگور سیاه سردشت با استفاده از حلال هگزان و با کمک امواج فراصوت مطابق با طرح تاگوچی

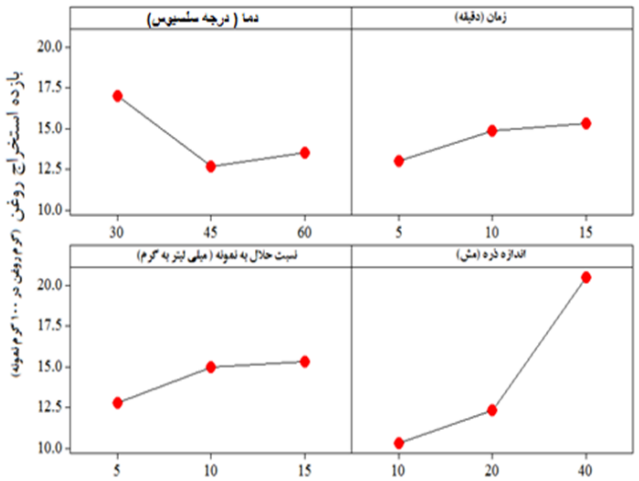
منبع	مجموع مربعات (SS)	درجه آزادی (df)	مربع میانگین (MS)	آزمون F (F-Value)	معنی داری آماری (P-Value)
مدل	۲۲۵/۸۸۹	۸	۲۸/۲۳۶	۱۰/۰۷	۰/۰۱۲۱
A (دما)	۳۱/۷۲۲	۲	۱۵/۸۶۱	۳/۱۵	۰/۱۵۰
B(زمان)	۹/۰۵۶	۲	۴/۵۲۸	۰	۱
C(نسبت حلال به ماده جامد)	۱۱/۰۵۶	۲	۵/۵۲۸	۱/۲۲	۰/۴۵۰
D(اندازه ذره)	۱۷۴/۰۵۶	۲	۸۷/۰۲۸	۱۰/۰۷	۰/۰۱۲۱
AB	۰	۰			ns
AC	۰	۰			ns
AD	۰	۰			ns
BC	۰	۰			ns
BD	۰	۰			ns
CD	۰	۰			ns
خطای خالص	۰	۰			
مجموع	۲۲۵/۸۹	۸			

الف) اثر دما: میزان استخراج روغن با استفاده از امواج فراصوت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس دارای بیشینه مقدار می باشد. سپس به ترتیب دماهای ۴۵ و ۶۰ درجه سلسیوس قرار دارند.

ب) اثر مدت زمان استخراج: با افزایش زمان از ۵ دقیقه تا ۱۵ دقیقه، میزان بازده استخراج روغن به مقدار کمی افزایش می یابد. در واقع با افزایش مدت استخراج میزان استخراج افزایش می یابد که این موضوع در مطالعات گذشته نیز گزارش شده است.

ج) اثر نسبت حلال به نمونه: با افزایش نسبت حلال به نمونه میزان استخراج افزایش یافت به طوریکه این مقدار در نسبت حلال به نمونه ۱۵ به ۱ به مراتب بیشتر از نسبت حلال به نمونه ۵ به ۱ تعیین گردید که این موضوع با مطالعات قبلی انجام شده مطابقت دارد.

د) اثر اندازه نمونه (مش): اندازه نمونه تاثیر بسیار بالایی بر افزایش میزان استخراج دارد و با کاهش اندازه نمونه (مش بیشتر) میزان استخراج افزایش می یابد.



شکل ۲- تاثیر شرایط مختلف آزمایش بر بازده استخراج روغن هسته انگور سیاه سردشت با استفاده از حلال هگزان و با کمک امواج فراصوت

ارزیابی خصوصیات شیمیایی نمونه های استخراج شده:
نتایج حاصل از آزمون های کیفی بر روی روغن هسته انگور سیاه سردشت با استفاده از روش های استخراج با حلال هگزان و در دو حالت بدون کمک امواج فراصوت و با کمک امواج فراصوت در جدول ۵ نمایش داده شده است. با توجه به اینکه استاندارد ملی معینی برای روغن هسته انگور خام وجود ندارد، با استفاده از استاندارد کدکس (CX-STAN210, 1999) برخی از خصوصیات کیفی روغن خام هسته انگور مورد مقایسه قرار گرفت. در این استاندارد عدد پراکسید حداکثر باید ۱۵ اکی والان گرم اکسیژن بر ۱ کیلوگرم روغن باشد که در نمونه روغن به دست آمده از روش های استخراج با حلال بدون کمک امواج فراصوت ۱/۹۷ میلی اکی والان گرم اکسیژن به کیلوگرم روغن و با کمک امواج فراصوت ۱/۸۵ میلی اکی والان گرم اکسیژن به کیلوگرم روغن می باشد. عدد اسیدی نیز در استاندارد کدکس حداکثر ۴ mg KOH/g در نظر گرفته شده است که این پارامتر نیز در هر دو روش استخراج در دامنه مناسبی قرار دارد. علت پایین تر بودن عدد اسیدی نمونه روغن حاصل از تیمار فراصوت در مقایسه با روغن بدون تیمار فراصوت را می توان به نحوه استخراج آن ها نسبت داد (Alirezaloo *et al*., 2011).

همانطور که نتایج نشان می دهد، در هر دو روش استخراج، عدد پراکسید و عدد اسیدی در دامنه مطلوبی بر اساس استاندارد کدکس قرار دارند. این موضوع بدلیل وجود ترکیبات فنلی بالا با قدرت آنتی اکسیدانی مطلوب در روغن هسته انگور می باشد (Ghasemzadeh *et al*., 2016). نمونه های استخراج شده با روش بدون امواج فراصوت دارای اسیدیته و پراکسید بالاتری نسبت به نمونه های استخراج شده توسط امواج فراصوت بودند که علت آن را می توان به زمان کوتاهتر استخراج در روش فراصوت نسبت داد. در واقع، با افزایش زمان مجاورت روغن با حلال در دمای بالا امکان تشکیل هیدروپراکسیدها که محصولات اولیه اکسیداسیون می باشند و همچنین اسیدهای چرب آزاد افزایش می یابد و این موضوع باعث افزایش عدد اسیدی و عدد پراکسید می شود. شـــرایط و نوع عملیاتی که بر روی هسته های انگور انجام می گیرد نیز می تواند در تغییر عدد پراکســـید موثر باشـــد. مثلا روغن اســـتخراج شده با پرس سرد، عدد پراکسید پایین تری نسبت به روغن استخراج شده با استفاده از حلال دارد (Emmons *et al*., 1999).

علت پایین بودن نسبی عدد صابونی روغن های استخراج شده در هر دو روش نسبت به استاندارد کدکس می تواند به بالا بودن احتمالی وزن مولکولی اسید های چرب تشکیل دهنده روغن و در نتیجه افزایش وزن مولکولی تری گلیسیرید های آن مرتبط باشد. همچنین، اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در تری گلیسیرید های روغن باعث شکستن مولکول و تشکیل گروه های کربوکسیل می شود که هر یک از گروه های کربوکسیل تشکیل شده در واکنش صابونی شدن با هیدروکسید پتاسیم ترکیب شده و موجب افزایش عدد صابونی می شوند (Hoseini., 2003). در واقع، به دلیل مدت مجاورت بیشتر حلال با نمونه در دمای بالا در روش استخراج با حلال بدون کمک امواج فراصوت، امکان اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع و تشکیل اسیدهای چرب آزاد نسبت به روش فراصوت بیشتر بوده و در نتیجه عدد صابونی این روغن ها نسبتا بیشتر خواهد بود. همچنین فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های روش بدون امواج فراصوت بالاتر از مقادیر این کمیت ها در روش فراصوت بود. این موضوع را می توان به علت تفاوت در زمان استخراج دانست. زیرا، احتمالا با گذشت زمان ترکیبات فنلی بیشتری وارد حلال شده و ناچارا فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش می یابد.

عدد یدی شاخصی از مقدار اسیدهای چرب غیر اشباع روغنها بوده و رابطه مستقیمی بین اکسیداسیون روغن ها و میزان عدد یدی آن ها وجود دارد. مطابق جدول ۶ ، میزان اسیدهای چرب غیر اشباع در روش بدون امواج در مقایسه با استخراج به کمک امواج فراصوت بالاتر است که این موضوع می تواند دلیل بالاتر بودن نسبی عدد یدی آن نیز باشد.

جدول ۵- خصوصیات شیمیایی روغن هسته انگور استخراج شده با حلال هگزان (با و بدون کمک امواج فراصوت) در مقایسه با استاندارد کدکس

روش استخراج	عدد پراکسید (روغن$meq\ O_2/kg$)	عدد اسیدی (بر حسب اسید اولئیک)	عدد اسیدی (بر حسب اسید لینو لئیک)	عدد صابونی (mg KOH / g)	فنل کل (معادل µl/ ml گالیک اسید)	قدرت آنتی اکسیدانی (درصد مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH)	عدد یدی ($g\ I_2$ / 100g)
حلال	۲/۰۰ ± ۰/۰۲ a	۰/۴۳۷ ±۰/۰۰۱ a	۰/۴۳۶ ±۰/۰۰۱ a	۱۷۷± ۱a	۱۳۴ ±۱ a	۲۵±۱ a	۱۲۵±۱ a
حلال و فراصوت	۱/۸۵ ± ۰/۰۲ b	۰/۳۸۳ ±۰/۰۰۲ b	۰/۳۷۵ ±۰/۰۰۲ b	۱۶۷ ±۱ b	۸۷ ± ۱b	۱۴±۰ b	۱۲۰±۱b
استاندارد کدکس	کمتر از ۱۵ (پرس سرد)	کمتر از ۴ (پرس سرد)		۱۸۸-۱۹۴	-	-	-

اعداد مربوط به هر خصوصیت (ستونهای جدول) که حروف یکسان دارند فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

عدد صابونی نیز در این استاندارد ۱۸۸-۱۹۴ mg KOH/g در نظر گرفته شده است که این اندیس در نتایج به دست آمده از جدول ۵ در مقادیر کمتری وجود دارد (Codex Standard, 1999). در واقع، میانگین اندیس های صابونی برای نمونه روغن های حاصل از روش استخراج با حلال بدون کمک امواج فراصوت ۱۷۷ mg KOH/g و در روش حلال با کمک امواج فراصوت mg KOH/g ۱۶۷ می باشد و هر دو مقدار کمتر از دامنه قابل قبول در استاندارد کدکس می باشند که دلیل آن در قسمت قبل توضیح داده شد.

ارزیابی ترکیب اسیدهای چرب نمونه های استخراج شده

ترکیب اسیدهای چرب روغن های به دست آمده از دو روش استخراج در جدول ۶ نمایش داده شده است. نوع و ترکیب اسیدهای چرب یکی از عوامل مهم در بررسی کیفیت روغن هسته انگور می باشد که بسته به واریته انگور و فصل برداشت تغییر می کند. برای مثال، در روغن حاصل از واریته انگور قرمز درصد اسید لینولئیک بیشتر از مقادیر آن در سایر واریته های ایرانی است. با توجه به ترکیب اسیدهای چرب سه نمونه روغن هسته انگور ایرانی مشخص گردید که اسید لینولئیک با مقدار متوسط ۵۶/۸٪ و اسید اولئیک با مقدار متوسط ۱۷/۲٪ اسیدهای چرب غالب در این نمونه ها می باشند (Movahed & Ghavami, 2007). بررسی مقایسه آماری نمونه های استخراج شده با دو روش نشان می دهد که نمونه حاصل از روش فراصوت نسبت به نمونه حاصل از روش استخراج معمولی دارای استئاریک اسید و پالمیتیک اسید بیشتر اما اولئیک اسید و لینولئیک اسید کمتری بود. همچنین برای مقایسه میزان این اسیدهای چرب با استاندارد کدکس CX-STAN210-1999، در یک ستون در همین جدول مقادیر این اسیدهای چرب بر اساس استاندارد کدکس آورده شده است (Codex Standard, 1999). در هر دو روش استخراج، اسید لینولئیک با مقادیر ۶۶/۷ و ۶۴/۶ درصد و اسید اولئیک با مقادیر ۱۷/۷ و ۱۴/۴ درصد به ترتیب برای روش استخراج با حلال بدون کمک امواج فراصوت و با کمک امواج فراصوت تعیین گردیدند. مطابق با جداول فوق مشخص گردید که ترکیب اسیدهای چرب نمونه های روغن حاصل از روش حلال بدون استفاده از امواج فراصوت کاملا در محدوده میزان اسیدهای چرب استانداردکدکس قرار دارند. اما روغن های به دست آمده از روش فراصوت در دو مورد اسیدهای چرب پالمیتیک (C16:0) و استئاریک (C18:0) دارای مقادیر کمی بالاتر از استاندارد کدکس می باشند. در مطالعه مشابهی نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی در مورد روغن سویای تیمار شده با امواج فراصوت کاهش کمی در میزان اسیدهای چرب غیراشباع و همچنین افزایش کمی در اسیدهای چرب اشباع را نشان داد (Bakhshabadi *et al*., 2010).

جدول ۶- ترکیب درصد اسیدهای چرب نمونه های روغن استخراج شده بوسیله حلال هگزان، با و بدون کمک امواج فراصوت در مقایسه با استاندارد کدکس

اسید چرب	روش حلال بدون کمک امواج فراصوت	روش حلال با کمک امواج فراصوت	استاندارد کدکس CX-STAN210-1999
پالمیتیک اسید (C16:0)	۹/۸۰± ۰/۰۴ [b]	۱۳/۰۰± ۰/۰۵ [a]	۵/۵- ۱۱
پالمیتولئیک اسید(C16:1)	۰/۲۰±۰/۰۱ [a]	۰/۲۰± ۰/۰۸ [a]	۰-۱/۲
استئاریک اسید (C18:0)	۵/۳۰± ۰/۰۸ [b]	۷/۳۰± ۰/۶۰ [a]	۳/۰ - ۶/۵
اولئیک اسید (C18:1)	۱۷/۷۰± ۰/۲۰ [a]	۱۴/۴۰± ۰/۲۰ [b]	۱۲ - ۲۸
لینولئیک اسید (C18:2)	۶۶/۷۰± ۱/۲۰ [a]	۶۴/۶۰± ۱/۰۰ [b]	۵۸ - ۷۸
لینولنیک اسید (C18:3)	۰/۳۰± ۰/۰۲ [a]	۰/۵۰± ۰/۰۱ [a]	غیر قابل شناسایی

اعداد مربوط به هر اسید چرب که با حروف لاتین یکسان مشخص شده اند فاقد اختلاف آماری معنی دار در سطح ۵ درصد هستند.

نتیجه گیری کلی

با توجه به بررسی های انجام شده بر روی دو روش استخراج با حلال هگزان بدون کمک و با کمک امواج فراصوت مشخص گردید که روش استخراج با کمک امواج فراصوت در زمان کوتاهتری تکمیل شده که این مهم به تاثیر تشدیدکنندگی امواج فراصوت در خروج آسان تر روغن از هسته ها ارتباط داده می شود. همچنین، با توجه به بررسی های کیفی صورت گرفته بر روی نمونه های حاصل از هر دو روش استخراج و مقایسه با استاندارد کدکس مشخص گردید که هر دو نمونه روغن دارای کیفیت قابل قبولی برای مصرف می باشند. اسید لینولئیک با مقادیر بالاتر از ۶۴ درصد و سپس اسید اولئیک با مقادیر بالاتر از ۱۴ درصد اسیدهای چرب غالب برای روغن هسته انگور سیاه سردشت در هر دو روش استخراج می باشند. به نظر می رسدبخشی از این دو اسید چرب در روش استخراج به کمک امواج فراصوت از بین رفته باشد که این مهم نیاز به بررسی بیشتر در قالب یک مطالعه جداگانه دارد.

REFERENCES

Alirezaloo, K., Hesari, A., Alirezalou, A., Mohammadi, M & Fathi, B. (2011). Investigation of physicochemical characteristics and composition of fatty acid of marigold oil. *Journal of Food Industry Researches*, 21 (1), 28-32.

AOCS (1997). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. *Champaign IL*: Official method number: 965.33.

AOAC (2000). Official methods of analysis of the AOAC (17th ed.). Gaithersburg MD. (940.28).

AOCS (2006). Official Methods of Analysis, oven storage test for accelerated aging of oils, *AOCS Press*, Champion, IL.

Bakhshabadi, H., Farzaneh, V., Ghodsvali, A & Dostkouli, A (2010). Effect of different ultrasound treatments on the oil extraction yield from oil seeds. *Third International Meeting on Oilseeds and Edible Oils*, Tehran, Iran.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Journal of Food Science Technology*, 28, 25-30.

Chen, L. Jin, H. & Ding, L. (2008). Dynamic microwave-assisted extraction of flavonoids from Herba Epimedii. *Separation and Purification Technology*, 59(1):50-56.

Chodar Moghadas, H & Rezaei, K. (2017). Laboratory-scale optimization of roasting conditions followed by aqueous extraction of oil from wild almond. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94 (6), 867-876.

Codex standard for named vegetable oil (1999). CX – Stan 210-1999, volume 8, 2001.

Emmons, C. L., Peterson, D. M. & Paul., G. L. C. (1999). Antioxidant capacity of oat extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42 (12) 4894- 4898.

Freitas, L. D., Oliveira, J. V. D., Dariva, C., Jacques, R. A. & Caramao, E. B. (2008) Extraction of grapeseed oil using compressed carbon dioxide and propane: Extraction yields and characterization of free glycerol compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56, 2558–2564.

Ghasemzadeh, M. & Einafshar, S. (2016). Determination and comparison of physicochemical properties of extracted oil from grape seed by ultrasound and solvent method. *National Congress of Food Science and Technology*. (23) (In Farsi).

Hashemi, T. A. (1985) *Examination of Oils and Fats* (1st ed.). Iran: (In Farsi).

Hoseini, Z. (2003). *Common Methods of Food Decomposition* (4th ed.) (In Farsi)

Izadi, Z., Izadi, M. & Sohrabi, M. (2008). Study of some qualitative characteristics of grape seed oil and its effects on human health. *National Opera Food Conference*, 2, 207-213 (In Farsi).

Jimenez, A. & Beltran, G. (2007). High-power ultrasound in olive paste pretreatment. Effect on process yield and virgin olive oil characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(6): 725-731.

Maier, A., Shieber, D. R. & Kemmerer, R. C. (2009). Residues of grape (*Vitis vinifera*) seed oil production a valuable source of Phenolic antioxidants. *Journal of Food and Nutritional Science*, 112, 551-559.

Malek, F. (2000). *Fats and Edible Vegetable Oils* (1st ed.). Tehran, Iran (In Farsi).

Mason, T. J. (1998). Power ultrasound in food processing-the way forward. Ultrasound in Food Processing. *Blackie Academic & Professional, London.*103-126.

Mason, T. J. & Paniwnyk, L. (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3(3), 253-260.

Mir Hosseini, H., Samaram, S., Tan, C. P. & Ghazali. H. M. (2013). Ultrasound-Assisted extraction (UAE) and solvent extraction of grape seed oil: Yield, fatty acid composition and triacylglycerol profile. *Journal of Natural Products Chemistry*. 18 (10), 12474-12487.

Movahed, S. & Ghavami, M. (2007). Comparison and determination of the composition of Iranian and imported grape seed oil fatty acids. *Journal of Research and Construction in Natural Resources*, 75, 8-16 (In Farsi).

Rodriguez, J. M., Luque, M. D., Caster, D. & Perez, P. (2005). Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane. *Journal of National Institutes of Health*, 68(1), 126-130.

Shahverdi, G., Fatemi, Sh., Hariri, P., Safarali, A. & Salehi, Z. (2009). Investigation of parameters effect on oil extraction efficiency from grape cultures by design of statistical tests. *Journal of Chemical and Petroleum Engineering*. 43, 15-21 (in Farsi).

Vilkhu, K. and Mawson, R. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry – A review. *Innovative Food Science and Emerging Technoligies*, 9(2): 161-169.

Ying, Z. Zhen-yu, W. & Xiao-qiang, C. (2005). Ultrasound-associated extraction of seed oil of Korean pine. *Journal of Forestry Research*, 16(2):140-142.

Zhang, Z. Wang, L. Li, D. Jiao, S. Chen, X. D. & Mao, Z. 2008. Ultrasound-assisted extraction of oil seed. *Separation and Purification Technology*, 62:192-198.