



بهینه‌سازی فرایند استخراج عصاره میوه شاه‌بلوط هندی (*Aesculus hippocastanum*) به روش سطح پاسخ و بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی آن بر پایداری روغن سویا طی مدت‌زمان ماندگاری

احمد پدرام نیا^{۱*}، مریم ثابت قدم^۲، مهدی جلالی^۱

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۲۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۰۵

کلمات کلیدی:

ترکیبات فنولی،

شاه‌بلوط،

سطح پاسخ،

قدرت رادیکال گیرندگی.

DOI: 10.52547/fsct.18.120.30

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.18.0

* مسئول مکاتبات:

ahmadpedram@yahoo.com

رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن و اثرات آن‌ها بر دستگاه‌های بیولوژیک، در سال‌های اخیر مشکلات زیادی را ایجاد کرده‌اند. آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند دستگاه‌های بیولوژیک را در برابر این عوامل محافظت نمایند و نقش مؤثری بر سلامتی انسان ایفا کنند. هدف از این تحقیق بهینه‌سازی استخراج عصاره ترکیبات فنولی و میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد توسط امواج فراصوت بود. در نهایت نمونه بهینه از عصاره شاه‌بلوط انتخاب و این نمونه همراه با نمونه استخراج ماسوراسیون و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) به روغن سویا افزوده و با نمونه شاهد مورد بررسی قرار گرفت. در این پژوهش فرایند استخراج توسط فناوری اولتراسوند با ۳ فاکتور در ۳ سطح که شامل زمان (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه)، شدت صوت (۶۰، ۱۰۰ کیلو هرتز) و غلظت (۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ ppm) بود که توسط روش سطح پاسخ بهینه‌سازی بررسی شد. نتایج حاصل از آنالیز آماری جهت تعیین حالت بهینه برای استخراج زمان ۳۰ دقیقه، شدت صوت ۶۹/۳۲ کیلو هرتز و غلظت ۶۰۰ ppm عصاره میوه شاه‌بلوط تعیین گردید. در این شرایط قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد ۶۵/۲۳ درصد و میزان ترکیبات فنولی ۴۳/۱۵۱۸ میلی‌گرم تعیین شد. نتایج حاصل از پایداری اکسایشی روغن در نمونه شاهد و نمونه استخراج ماسوراسیون و نمونه بهینه و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) نشان داد نمونه بهینه در کاهش اندیس پراکسید و تیوباربیتوریک اسید نسبت به نمونه شاهد و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) تأثیر بیشتری داشته است.

۱- مقدمه

فرایند اکسیداسیون و تخریب اکسیداتیو که منجر به ایجاد بدطعمی و کاهش کیفیت و افت ارزش تغذیه‌ای روغن‌ها و چربی‌ها می‌شود یکی از اساسی‌ترین مشکلات صنعت روغن محسوب می‌شود [۱]. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که گسترش بدطعمی و رنسیدیت را با توسعه زمان پایداری به تأخیر می‌اندازند [۱]. آنتی‌اکسیدان‌های شیمیایی که بیش‌ترین استفاده را در صنعت غذا دارند، پروپیل گالات بوده که سرطان‌زایی و اثرات منفی این ترکیب‌ها بر سلامتی انسان در تحقیقات متعدد نشان داده شده است [۲ و ۳]. در سال‌های اخیر تلاش برای یافتن منابع جدید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به دلیل مشکلات و اثرات سوء ناشی از مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی گسترش یافته است. بنابراین، امروزه استفاده از گروه وسیعی از گیاهان دارویی و ترکیب‌های آروماتیک آن‌ها به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت ضد اکسیداسیونی هستند، مورد توجه محققین قرار گرفته است [۴].

شاه‌بلوط هندی (*Aesculus hippocastanum*) سرده‌ای از شاه بلوط و تیره ناترکیان می‌باشد. درخت شاه‌بلوط هندی دارای برگ‌های متقابل و مرکب از ۷-۵ برگچه نامساوی است [۵]. این درخت در کشورهای آلمان و یونان می‌روید و در ایران در کردستان در غرب پاوه به‌طور پراکنده دیده می‌شود [۶]. در دانه گیاه شاه‌بلوط هندی علاوه بر روغن (عمدتاً حاوی اسید اولیک)، پروتئین، کربوهیدرات، کومارین و تانن وجود دارد [۷]. محققین خواص درمانی شامل، کاهش نفوذپذیری دیواره مویرگی، فعالیت ضدالتهاب، کم کردن علائم نارسایی مزمن وریدی مثل احساس سنگینی و درد پاها، التهاب و ورم پا، التهاب عضلات صاف متعاقب جراحی و صدمات، رگ به رگ شدن، کوفتگی و درد را در پی مصرف دانه این گیاه مشاهده کرده‌اند [۴].

یکی از مطمئن‌ترین و کارآمدترین روش‌ها برای استخراج ترکیبات موجود در بافت‌های گیاهی استخراج به کمک امواج فراصوت است که از روش‌های سریع و مؤثر به شمار می‌رود [۸]. این روش دارای مزایای زیادی نسبت به روش‌های مرسوم استخراج است؛ که می‌توان به دمای پایین‌تر، حلال مصرفی بسیار کمتر و راندمان استخراج بالاتر اشاره نمود. در اثر این امواج، افزایش نفوذپذیری حلال به داخل سلول‌های گیاهی رخ داده، که خود می‌تواند باعث افزایش انتقال جرم و به دنبال آن افزایش بازدهی استخراج در دماهای پایین‌تر گردد [۹].

کمالی و همکاران (۲۰۱۵) میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونویدی از سنجد زیتنی را به کمک فراصوت مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که با افزایش زمان، درصد مهار رادیکال

آزاد افزایش می‌یابد [۱۰]. مارتینو و همکاران (۲۰۰۶)، در بررسی بر روی گیاه شبدر زمان‌های مختلف (۱۰ تا ۱۸۰ دقیقه) را روی استخراج ترکیبات با استفاده از حمام فراصوت مورد بررسی قرار دادند که در مقایسه با روش سوکسله نتایج، بازدهی استخراج بالاتری را نشان داد [۱۱]. روستاگو و همکاران (۲۰۰۳) از روش‌های فراصوت و غرقابی برای استخراج ایزوفلاون‌ها از دانه سویا استفاده کردند. آن‌ها گزارش دادند راندمان استخراج در روش فراصوت بالاتر از روش غرقابی بوده است، گرچه این راندمان به غلظت حلال اولیه نیز بستگی دارد. تیمار فراصوت سیستیک و میزان محصول ورودی به حلال را تسهیل می‌کند که به دلیل افزایش در میزان انتشار حلال به درون بافت گیاهی و همچنین ایجاد خلل و فرج برای خروج آسان‌تر ملکول هاست [۱]. در این مطالعه ابتدا اثر نوع شدت و زمان‌های مختلف در روش استخراج به کمک فراصوت، بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های مختلف عصاره مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت نتیجه به دست آمده از نمونه بهینه از عصاره میوه شاه‌بلوط انتخاب و با عصاره میوه شاه‌بلوط به روش ماسوراسیون و آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) به روغن سویا افزوده شد و با نمونه شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

در این پژوهش میوه شاه‌بلوط کوهی از بازار محلی در تهران از یک نوع واریته تهیه گردید. به منظور کاهش فعالیت‌های تنفسی و بیولوژیکی تا زمان آزمایش در یخچال، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس توسط آسیاب برقی پودر و از الکی با مش ۴۰ عبور داده و برای آزمایش‌های بعدی در محلی تاریک، سرد و خشک نگهداری گردید.

۲-۲- استخراج با حلال (روش ماسوراسیون)

نمونه پودر شده با حلال به نسبت ۱ به ۸ باهم مخلوط شدند، حلال نیز (مخلوطی از اتانول ۷۰ و اسیدکلریدریک ۱/۵ نرمال) به نسبت ۱۵ به ۸۵ سی‌سی آماده گردید. مخلوط به مدت ۴۸ ساعت با همزن مغناطیسی در دمای محیط همزده شد و پس از آن تحت شرایط خلأ توسط قیف بوخنر با کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف و در ادامه به وسیله تبخیرکننده چرخان (مدل Laborata ۴۰۰) در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و در نهایت عصاره‌ها توسط خشک‌کن تخت خلأ در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک و تا زمان استفاده در ظرف سربسته و غیرقابل نفوذ به هوا در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

(DPPH) با استفاده از معادله (۱) محاسبه گردید. در این فرمول جذب نوری شاهد منفی را که فاقد عصاره است نشان داده و میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره را بیان کرده است [۱۴].

$$I\% = \frac{A_{Blank} - A_{sample}}{A_{Blank}} \times 100$$

رابطه (۱)

۲-۳-۴-اندازه‌گیری عدد پراکسید

عدد پراکسید به روش متداول اندازه‌گیری و با استفاده از محلول اسیداستیک کلروفرمی (نسبت کلروفرم به اسیداستیک ۲:۳) و تیتراسیون آن با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال و برحسب میلی‌اکی‌والان پراکسید در ۱۰۰ گرم روغن بیان گردید [۱۵].

رابطه (۲)

$$\text{حجم تیتراسیون مصرفی} \times \text{نرمالیت} \times ۱۰۰۰ = \text{عدد پراکسید}$$

حجم نمونه

۲-۴-۴-اندازه‌گیری شاخص تیوباریتوریک اسید (TBA)

یک گرم روغن در تتراکلرید کربن حل شده و به آن محلول اسید تیوباریتوریک اضافه گردید سپس سانتیفریژ شده و قسمت آبی آن جدا و در حمام آب جوش قرار گرفت و پس از آن میزان جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید [۱۶].

۲-۵-طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این مطالعه از طرح آماری روش سطح پاسخ (RSM) برای بهینه‌سازی مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (DPPH) و ترکیبات فنولی استفاده شده است. از مزایای این طرح می‌توان به کاهش تعداد آزمایش‌ها و به دست آوردن مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار در یک فرایند و برهم‌کنش‌های احتمالی بین آن‌ها اشاره کرد. از روش سطح پاسخ با به کارگیری نرم‌افزار (Design Expert) نسخه ۷ استفاده شده است. متغیرهای مستقل شامل که زمان (X_1) و شدت صوت (X_2) و غلظت (X_3) می‌باشند و متغیرهای وابسته مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (DPPH) و ترکیبات فنولی هستند که جدول (۱) نشان داده شده است. در این پژوهش از طرح باکس-بنکن شامل ۲۰ آزمایش با ۶ تکرار در نقاط مرکزی، استفاده شده است. تعداد تیمارهای طراحی شده توسط نرم‌افزار و همچنین پاسخ‌های به دست آمده در جدول (۲) نشان داده شده است.

تمامی مواد مورد استفاده در این تحقیق از شرکت‌های مرک و سیگما با درصد خلوص بالا تهیه شدند [۱۲].

۲-۳-استخراج با امواج فراصوت

عصاره مطابق روش استخراج به روش غرقابی تهیه شد. با این تفاوت که مخلوط نمونه و حلال در معرض امواج فراصوت در دمای محیط در سه زمان ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه و سه شدت صوت ۲۰، ۶۰ و ۱۰۰ کیلو هرتز قرار گرفت. فراصوت با استفاده از دستگاه اولتراسونیک (مدل UP400 S، شرکت Hielscher، آلمان) با قدرت ۴۰۰ وات و پروب H از جنس تیتانیوم با قطر ۷ میلی‌متر و طول ۱۰۰ میلی‌متر انجام شد [۱۲].

۲-۴-آزمون‌های شیمیایی

۲-۴-۱-اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی عصاره شاه بلوط

بررسی میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولینسیوکالتوانجام گرفت. جهت رسم منحنی استاندارد از اسیدگالیک استفاده گردید. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره برحسب اسیدگالیک و با استفاده از معادله به دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک در هر گرم عصاره بیان شد [۱۳].

۲-۴-۲-اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره شاه‌بلوط

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی با بررسی فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH) اندازه‌گیری شد. ماده ۲ و ۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل یا (DPPH) یک ترکیب رادیکالی پایدار بارنگ بنفش است که با احیا شدن توسط عناصر دهنده الکترون یا هیدروژن (ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) به دی فنیل پیکریل هیدرازیل زرد رنگ تبدیل می‌شود. توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون توسط ترکیبات و عصاره‌های مختلف در این آزمون با میزان بی‌رنگ کردن یا کاهش میزان جذب نوری محلول بنفش (DPPH) در متانول مورد سنجش قرار می‌گیرد. در این روش به‌عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده (DPPH) به‌عنوان معرف استفاده می‌شود. بدین ترتیب که ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره در متانول به‌طور جداگانه هر کدام به ۲ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد (DPPH) اضافه گردید. بعد از ۹۰ دقیقه گرم‌خانه‌گذاری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد

Table 1 Coded values and levels of variables independent of the optimization process

Variables	Actual values		
	-1	0	+1
Time (minutes) (X_1)	10	20	30
Ultrasound intensity (khz) (X_2)	20	60	100
Concentration (X_3)	200	400	600

Table 2 Treatments used to optimize *Aesculus hippocastanum* fruit extraction

Row	Time	Ultrasound intensity	Concentration	Folin's reagent	Antioxidant compounds
1	20	100	600	39.065	52.6
2	20	60	400	38.133	56
3	30	100	400	38.920	55.5
4	20	60	400	35.393	57.65
5	20	20	600	37.080	50.80
6	20	20	200	31.150	39.50
7	30	60	200	32.780	47.74
8	20	60	400	36.957	50.44
9	20	60	400	35.806	55.5
10	20	60	400	35.610	55
11	20	100	200	29.610	44.5
12	10	100	400	32.922	50.5
13	30	60	600	42.800	67.5
14	10	20	400	30.760	44.4
15	10	60	200	29.600	44.1
16	20	60	400	36.456	56.66
17	20	60	400	36.457	57
18	30	20	400	35.217	46.05
19	20	60	400	30.600	55.1
20	10	60	600	35.265	51.5

برای بررسی صحت مدل و میزان تأثیرگذاری هرکدام از متغیرهای مستقل بر پاسخ‌ها از جدول آنالیز واریانس استفاده می‌دهد.

شده است. جداول (۳) و (۴) نتایج آنالیز واریانس را نشان

Table 3 Analysis of variance for the extraction of phenolic compounds

Source	Sum of squares	DF	Mean squares	F Value	Prob > F	
Model	197.39	9	21.93	5.7	0.0059<	Significant
Time (A)	56.02	1	56.02	14.57	0.0034	
Ultrasound intensity (B)	4.98	1	4.98	1.29	0.2818	
Concentration (C)	120.67	1	120.67	31.38	0.0002	
Residual	38.46	10	3.85			
Lack of Fit	3.69	3	1.23	0.25	0.8605	Not significant
R-Squared		0.8369				
Adj R-Squared		0.821				

Table 4 Analysis of variance for free radical scavenging activity

Source	Sum of squares	DF	Mean squares	F Value	Prob > F	
Model	698.14	9	77.55	10.68	0.0005<	Significant
Time (A)	86.4	1	86.4	11.9	0.0062	
Ultrasound intensity (B)	42.64	1	42.64	8.6	0.015	
Concentration (C)	270.98	1	270.98	37.32	0.0001	
Residual	72.62	10	7.26			
Lack of Fit	38.19	3	12.73	2.59	0.1354	Not significant
R-Squared		0.9058				
Adj R-Squared		0.821				

استخراج شده اما به کارگیری زمان‌های بیشتر از ۴۰ دقیقه منجر به ظهور روند کاهشی در فرایند استخراج گردید [۲۰]. شکل (۲) نمایش سه‌بعدی اثر زمان و غلظت عصاره بر میزان ترکیبات فنلی عصاره میوه شاه‌بلوط هندی را نشان می‌دهد. افزایش زمان و غلظت عصاره توانست، مقدار ترکیبات فنولی را به صورت معنی‌داری افزایش دهند. با افزایش زمان و غلظت عصاره از ۵ دقیقه تا ۱۵ دقیقه فعالیت آنتی‌اکسیدانی روندی صعودی را نشان داد. پژوهش‌های شوکلا و همکاران (۲۰۰۹) و سان و همکاران (۲۰۱۱) با نتایج فعلی همخوانی داشت. این محققین گزارش نمودند که مقدار ترکیبات فنولی عصاره‌های گیاهی وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت مقدار ترکیبات فنولی افزایش یافت [۲۱ و ۲۲]. معادله پیشگویی (۳) برای مقدار ترکیبات فنولی و با استفاده از جدول (۳) و برازش داده‌ها به دست آمد.

رابطه (۳)

$$\text{Phenolic compounds} = +35.68 + 2.65 A + 0.79 B + 3.88 C + 0.39 AB + 1.09 AC + 0.88 BC - 0.17 A^2 - 1.05 B^2 - 0.4 C^2$$

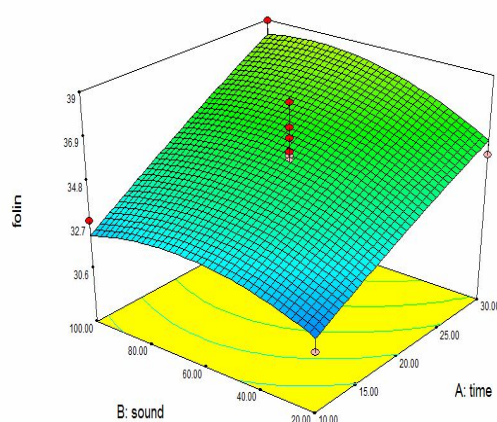


Fig 1 Simultaneous effect of ultrasound intensity and time on phenolic compounds

۳-نتایج و بحث

۳-۱-اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره میوه

شاه‌بلوط

شکل (۱) نمایش سه بعدی اثر زمان و شدت فراصوت بر مقدار استخراج ترکیبات فنلی را نشان می‌دهد. با افزایش زمان و شدت مقدار مقدار ترکیبات فنلی به صورت معنی‌دار افزایش یافته است. امواج فراصوت با بسامدی بالاتر از ۲۰ کیلوهرتز به درون ماده نفوذ می‌کند و سبب کشیدگی و جمع شدن پی‌درپی می‌گردد و در نتیجه حفره‌هایی داخل ماده گیاهی ایجاد می‌شود و این حفره‌ها به صورت نامتقارن به هم پیوسته و خروج سریع مواد از داخل سلول‌ها به خارج از آن‌ها می‌شود. همچنین این امواج می‌تواند سبب تخریب دیواره سلول‌های زیستی شود و سبب تسهیل خروج مواد گردد [۱۷]. در امواج فراصوت، افزایش شدت سبب افزایش تغییر مکان یا جابجایی ذرات می‌گردد بنابراین در نتیجه کاربرد امواج، فاصله مولکول‌ها بیشتر از فاصله بحرانی خواهد بود که برای نگه‌داشتن مولکول‌های مایع در کنار هم ضروری است. به این ترتیب زمانی خواهد رسید که فاصله مولکول‌های جابجایی در حدی است که باعث خروج یک مولکول از دایره ارتباطی مولکول مجاورش و ایجاد حباب می‌گردد به این پدیده در اصطلاح حفره‌زایی گفته می‌شود [۱۸]. جیمینزو همکاران (۲۰۰۷) تأثیر امواج فراصوتی با قدرت بالاتر استخراج روغن از دانه‌های آسیاب شده زیتون را مطالعه کرده و مشخص نمودند که، در حضور این امواج دیواره سلول‌ها و بافت گیاهی تخریب شده و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (توکوفرول و پلی‌فنول) و رنگ‌دانه‌ها (کلروفیل و کاروتنوئید) بیشتر به داخل روغن راه یافته و باعث افزایش ارزش تغذیه‌ای روغن شدند [۱۹]. هرا و لوکه دو کاسترو (۲۰۰۵) گزارش کردند افزایش زمان فراصوت تا ۲۰ دقیقه منجر به افزایش بازده

کمالی و همکاران (۲۰۱۵) در تحقیقی بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از میوه سنجید زینتی (*umbellate*) (*Elaeagnus*) با دو روش حمام و پرآب فراصوت استفاده نموده و دریافتند در هر دو روش با افزایش زمان درصد مهار رادیکال آزاد افزایش یافت [۱۰]. ملکوت طبری و همکاران (۲۰۱۳) اثرات آنتی‌اکسیدانی و فیتوشیمیایی قارچ *gibbosaTrametes* را به دو روش مهار رادیکال آزاد و قدرت احیاء و تعیین میزان فنل و فلاونوئید را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت عصاره است و بالاترین میزان جاروب کنندگی رادیکال آزاد را در غلظت $750 \mu\text{g/ml}$ مشاهده نمودند [۲۵]. قادری قهفرخی و همکاران (۲۰۱۱) نیز چنین نتیجه‌گیری کردند که با افزایش غلظت عصاره میزان جذب درون عصاره به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت‌های پایین‌تر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری از خود نشان داده و میزان مهار رادیکال آزاد کمتری را خواهند داشت [۲۶]. معادله پیشگویی (۴) برای مقدار مهار رادیکال آزاد و با استفاده از جدول (۴) و برازش داده‌ها به دست آمد.

رابطه (۳)

$$\begin{aligned} \text{Antioxidant compounds} = & +55.42 - 3.29 A + 2.79 \\ & B + 5.82 C + 0.84 AB + 3.09 AC - 0.80 BC - 0.22 \\ & A^2 - 0.68 B^2 - 2.49 C^2 \end{aligned}$$

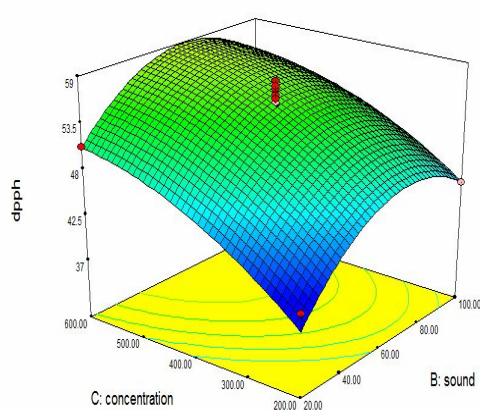


Fig 3 Simultaneous effect of ultrasound intensity and concentration on the activity of free radical scavenging

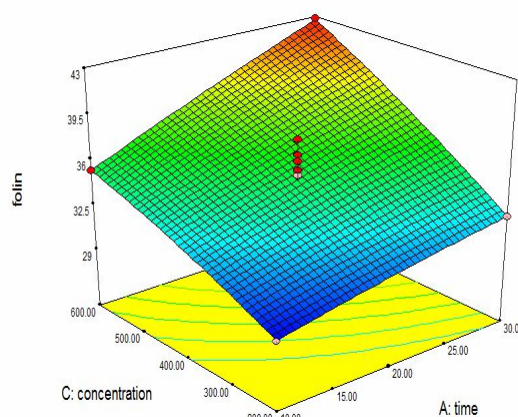


Fig 2 Simultaneous effect of concentration and time on phenolic compounds

۲-۳- اندازه‌گیری فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره میوه شاه‌بلوط

تأثیر متغیرهای مستقل بر میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد (DPPH) عصاره استخراجی میوه شاه‌بلوط به صورت شکل‌های سه بعدی سطح پاسخ در اشکال (۳) و (۴) نشان داده شده‌اند. در این اشکال تأثیر غلظت و شدت فراصوت (زمان ثابت) و غلظت و زمان (شدت فراصوت ثابت) بر تغییرات (DPPH) عصاره میوه نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس متغیرهای فرآیند بر میزان (DPPH) نشان داد که اثرات خطی غلظت و شدت فراصوت در مدل‌های بدست آمده پارامتر (DPPH) معنی‌دار بوده و روندی صعودی را حاصل نمودند.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها وابسته به غلظت بوده است و با افزایش غلظت این فعالیت افزایش می‌یابد، زیرا در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن فعالیت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد [۲۳]. شریفی و همکاران (۲۰۱۹) تأثیر زمان بر روی قدرت مهار رادیکال آزاد در روش فراصوت را معنی‌دار اعلام کردند و دریافتند قدرت مهارکنندگی با افزایش مدت زمان استخراج تا حد خاصی قدرت مهارکنندگی را افزایش می‌دهد [۲۴].

در این تحقیق هدف از بهینه‌سازی به حداکثر رساندن میزان استخراج آنتی اکسیدان بود. در جدول (۵) دامنه مقادیر به دست آمده برای فرآیند بهینه‌سازی و هدف آن مشخص گردیده است. در نهایت نتیجه به دست آمده از نمونه بهینه از عصاره میوه شاه‌بلوط انتخاب و با عصاره میوه شاه‌بلوط به روش ماسوراسیون با غلظت بهینه ۶۰۰ ppm مقایسه گردید. نتایج مقایسه میانگین تأثیر نوع استخراج بر روی پارامترها نشان داد که بین دو روش استخراج اختلاف آماری معنی‌داری ($P < 0.05$) وجود دارد و در نهایت این دو نمونه همراه با آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) به روغن سویا افزوده شد و با نمونه شاهد مورد بررسی قرار گرفت.

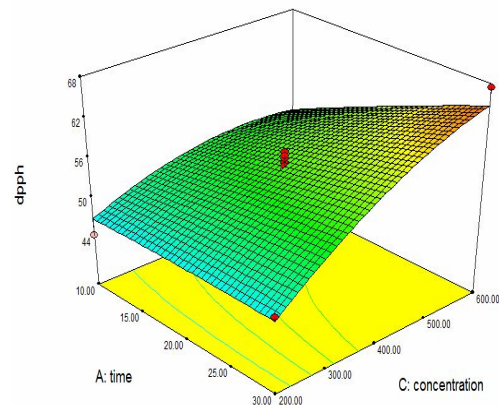


Fig 4 Simultaneous effect of concentration and time on free radical scavenging activity

۳-۳- بهینه‌سازی

باتوجه به تحلیل نمودارها و این نکته که شرایط بهینه‌ی یک پاسخ، ممکن است برای پاسخ دیگر نامساعد باشد، بنابراین باید الگوی ساختی را معرفی کرد که تا حد امکان تمامی پاسخ‌ها را به نحو رضایت بخشی بهینه نماید. برای این منظور کانتورپلات‌های مختلف بر روی هم قرار گرفت و منطقه‌ای که مشخصات تمامی پاسخ‌ها را برآورد کرد، به عنوان منطقه بهینه معرفی گردید. در شرایط بهینه، میزان زمان ۳۰ دقیقه، شدت صوت ۶۹/۳۲ khz و غلظت ۶۰۰ ppm عصاره میوه شاه‌بلوط تعیین گردید. در این شرایط قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد ۶۵/۲۳ درصد و میزان ترکیبات فنولی ۴۳/۱۵۱۸ میلی گرم تعیین شد.

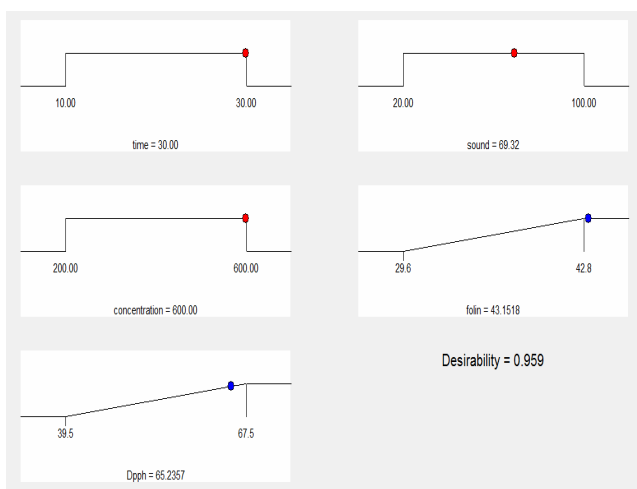


Fig 5 Optimization of Aesculus hippocastanum fruit extraction by ultrasound process

Table 5 Comparison of Aesculus hippocastanum fruit extraction by percolation method and optimal sample (time 30 minutes, ultrasound intensity 69.32 khz and concentration of 600 ppm).

Free radical scavenging power	Phenolic compounds	Extraction type
65.23 ^a	43.1518 ^a	Sample of Optimization
42.19 ^b	26.3296 ^b	Sample of Maceration

Similar words in each column don't have a significant difference statistically in $P < 0.05$ level.

عصاره بهینه و ماسوراسیون و نمونه شاهد و آنتی اکسیدان سنتزی (BHT) تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود. بالا رفتن سریع عدد پراکسید می‌تواند به علت عدم استفاده از آنتی اکسیدان در نمونه شاهد باشد. شکل (۶) نشان می‌دهد غنی‌سازی روغن سویا با آنتی اکسیدان به روش فراصوت نسبت به روش ماسوراسیون به طور معنی‌داری در کاهش میزان پیشرفت واکنش اکسیداسیون و تولید هیدروپراکسید مؤثر بوده است. بالاتر بودن ترکیبات میزان ترکیبات پلی فنولی استخراج

۳-۴- تعیین اندیس پراکسید

با توجه به اثر متقابل زمان و نوع تیمار بر اندیس پراکسید موجود در روغن سویا، بیشترین میزان پراکسید مربوط به نمونه شاهد با زمان ۷۲ ساعت با میزان ۷/۹ میلی اکسی والان گرم و کمترین پراکسید مربوط به نمونه بهینه با زمان ۲۴ ساعت با میزان ۱/۲ میلی اکسی والان گرم حاصل شدند، که نتایج حاصل در سطح ($P < 0.05$) معنی‌داری باشند (شکل ۶). با توجه به تأثیر نوع عصاره بر شاخص پراکسید، نتایج نشان داد بین

ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به روش فراصوت نسبت به روش غرقابی بیشتر است. بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در روش فراصوت و غرقابی به ترتیب $51/8$ و $41/37$ میلی‌مول یون فروس تولیدشده بر گرم نمونه خشک گزارش شد [۳۰]. در پژوهشی‌هایی مشابه هرومادکوا و همکاران (۲۰۰۰) و روستاگو و همکاران (۲۰۰۳) به ترتیب برای استخراج قند از گیاه مریم‌گلی و استخراج ایزوفلاون‌ها از دانه سویا انجام دادند، مشخص نمودند استفاده از تیمار فراصوت نه تنها استخراج مواد قندی را سرعت می‌بخشد بلکه ویژگی‌های ساختاری و ملکولی آن‌ها را نیز حفظ می‌کند. فراصوت به وسیله شکستن دیواره سلولی و گسستن اتصال بین لیگنین و پلی‌ساکاریدهای مورد نظر، قابلیت استخراج آن‌ها را افزایش می‌دهد. همچنین این محققین اعلام کردند، راندمان استخراج در روش فراصوت بالاتر از غرقابی بوده، گرچه این راندمان به غلظت حلال اولیه نیز بستگی دارد. فراصوت سیستمیک و میزان محصول ورودی به حلال را تسهیل کرده، که به دلیل افزایش در میزان انتشار حلال به درون بافت گیاهی و همچنین ایجاد خلل و فرج برای خروج آسان‌تر ملکول‌ها است [۳۱ و ۱].

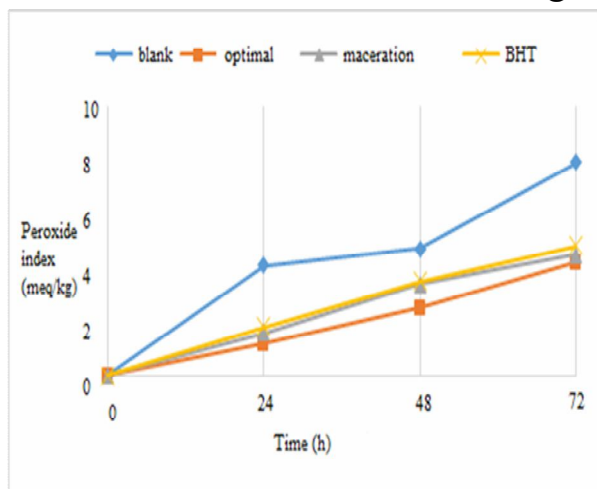


Fig 6 Changes in the Peroxide index of the studied oil samples during 3 days of storage at 65 °C

۳-۵- تعیین شاخص تیوباربتوریک اسید

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تغییرات شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA) روغن سویای نگهداری شده در آون با دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به طور معنی‌داری تحت تأثیر عصاره میوه شاه‌بلوط قرار گرفت ($P < 0/05$). نتایج مقایسه میانگین شاخص تیوباربتوریک اسید (TBA) حاصل از اثر نوع استخراج عصاره میوه شاه‌بلوط در شکل (۷) نشان داده

شده از شاه‌بلوط را می‌توان به روش فراصوت نسبت داد. ترکیبات پلی‌فنول به دلیل داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و دادن اتم هیدروژن به رادیکال آزاد تولید شده در حین فرایند از پیشرفت واکنش جلوگیری می‌کند.

در فرایند استخراج بافراصوت، کاویتاسیون^۱ ناشی از امواج فراصوت، نیروهایی ایجاد می‌کند که دیواره‌های سلول را به طور مکانیکی تجزیه می‌کند و انتقال مواد را بهبود می‌بخشد. به همین دلیل، راندمان عصاره‌گیری حاصل از روش پرکولاسیون طی ۴۸ ساعت تقریباً برابر با مدت زمان ۱۵ دقیقه در روش استخراج فراصوت است. تأثیر فرایند فراصوت در افزایش راندمان استخراج به تشدید و تقویت انتقال ماده نسبت داده می‌شود که از فروریختگی حباب‌های کاویتاسیون در نزدیک دیواره سلول ناشی می‌شود. همان‌طور که بیان شد، با شکستن دیواره سلولی، تماس بین حلال و ماده گیاهی افزایش می‌یابد. به علاوه وقتی حباب‌های کاویتاسیون فرو می‌ریزند، جت فراصوت مثل یک پمپ عمل می‌کند و حلال را به داخل سلول می‌فشارد. در نتیجه، دسترسی حلال به سلول گیاهی آسان‌تر می‌شود. بنابراین، روش فراصوت به دلیل کاهش قابل توجه زمان عصاره‌گیری و افزایش کارایی نسبت به روش پرکولاسیون، ارجح است [۲۷].

قربانی و همکاران (۲۰۱۵) و مارتینو و همکاران (۲۰۰۶) به ترتیب تأثیر شرایط عصاره‌گیری بر میزان استخراج ترکیبات فنولی از رازیانه و شبدر را مورد بررسی قرار دادند و اختلاف معنی‌داری بین روش‌های سوکسله و فراصوت مشاهده نمودند و نتیجه گرفتند روش فراصوت در مقایسه می‌تواند، در مدت زمان کوتاه‌تر با صرف انرژی کمتر و با بازده استخراج بالاتری استفاده شود [۲۸ و ۱۱]. حیدری مجد و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند با به کار بردن امواج فراصوت می‌توان ترکیبات فنولیک بیشتری را استخراج کرد که دلیل آنرا استرس برشی حاصل از امواج فراصوت بر روی ترکیبات فنولیک دانستند [۲۹]. در تحقیقی هوشمند و مهدیان (۲۰۱۴) بهینه‌سازی فرایند استخراج عصاره متانولی ۸۰ درصد خوشاریزه به دو روش غرقابی و فراصوت را با کمک ۲ پارامتر زمان (سطوح ۳/۷۹ و ۱۰ و ۲۵ و ۴۰ و ۴۶/۲۱ دقیقه) و دما (سطوح ۱/۷۲ و ۱۰ و ۵۰ و ۳۰ و ۵۸ درجه سانتی‌گراد) با استفاده از روش سطح پاسخ انجام داده و نتایج نشان داد که راندمان استخراج

1. Cavitation

روش غرقابی می‌گردد [۳۵].

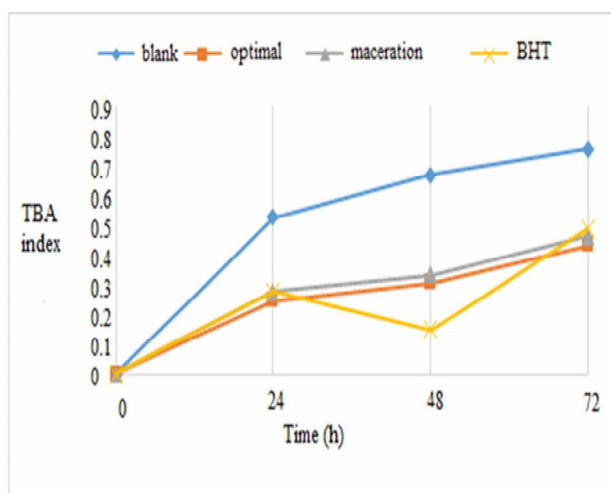


Fig 7 Changes in the Thiobarbituric acid (TBA) of the studied oil samples during 3 days of storage at 65 °C

۴- نتیجه‌گیری

در سال‌های اخیر، تمایل روزافزونی به استفاده از ترکیب‌های گیاهی به عنوان منابع جدید حاوی ضد اکساینده‌های طبیعی در صنایع غذایی به وجود آمده است. به همین دلیل نیز تحقیقات گسترده‌ای در زمینه دستیابی به ترکیب‌های گیاهی به عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی و تدوین دانش فنی کاربرد آن‌ها در مواد غذایی مختلف در سطح جهان انجام می‌گیرد. در این تحقیق، ابتدا متغیرهای مستقل شامل زمان ۳۰ دقیقه، شدت صوت ۶۹/۳۲ khz و غلظت ۶۰۰ ppm نمونه بهینه حاصل از فراصوت، عصاره شاه‌بلوط با روش سطح پاسخ حاصل شدند که در ادامه برای این نمونه بهینه قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد ۶۵/۲۳ درصد و میزان ترکیبات فنولی ۴۳/۱۵۱۸ میلی‌گرم تعیین گردید. نتایج حاصل از پایداری اکسایشی روغن سویا در نمونه شاهد، نمونه استخراج شده با روش ماسوراسیون، نمونه بهینه شده با روش فراصوت و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) نشان داد، نمونه بهینه شده با روش فراصوت در کاهش اندیس پراکسید و تیوباربیوتیک اسید نسبت به نمونه‌های دیگر ذکر شده تأثیر بیشتری داشته است. با توجه به نتایج این بررسی می‌توان گفت که غنی‌سازی روغن سویا با نمونه بهینه شده با روش استخراج با فراصوت به دلیل مقادیر باقیمانده بیشتر ترکیبات فنولی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به طور معنی‌داری در کاهش میزان پیشرفت واکنش اکسیداسیون و تولید هیدروپراکسید مؤثر واقع شود.

شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، اثر تیمارها نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار بوده است. بیشترین میزان عدد تیوباربیوتوریک اسید در تمامی روزها متعلق به نمونه شاهد بود، به دلیل عدم حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، مقدار هیدروپراکسیدها با سرعت بیشتری تشکیل شده و به بالاترین مقدار خود می‌رسند. با افزایش زمان نگهداری نمونه‌ها در شرایط اکسیداسیون، مقادیر اندیس تیوباربیوتوریک اسید نمونه‌ها افزایش یافت. همان‌طور که در شکل (۷) مشاهده می‌شود افزودن نمونه بهینه از عصاره میوه شاه‌بلوط به روغن سویا، تأثیر بسیار زیادی بر کاهش شاخص تیوباربیوتوریک اسید (TBA) نسبت به نمونه به روش ماسوراسیون و نمونه شاهد و آنتی‌اکسیدان سنتزی (BHT) طی مدت نگهداری روغن داشت. طبق نتایج باگذشت زمان نگهداری روغن در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد، میزان اندیس به طور معنی‌داری افزایش یافت. بنابراین نتایج نشان داد که استفاده از نمونه بهینه شده با روش استخراج با فراصوت در روغن توانست، میزان این اندیس را به علت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کاهش داده، در حالی که با افزایش زمان نگهداری روغن در آون به دلیل افزایش واکنش‌های اکسیداسیون و حضور ترکیبات ثانویه اکسیداسیون در نمونه میزان شاخص تیوباربیوتوریک اسید (TBA) در نهایت افزایش یافت.

اضافه کردن آنتی‌اکسیدان به مواد غذایی یکی از موثرترین شیوه‌های کاهش سرعت اکسیداسیون اکسایش چربی‌هاست. چون مرحله انتشار اکسیداسیون به تشکیل یکسری واکنش رادیکال آزاد منجر می‌شود. بنابراین استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها برای کاهش سرعت اکسیداسیون معمول است، که با روش‌های به کار رفته در این تحقیق به خصوص تأثیر استفاده از نمونه بهینه شده با روش استخراج با فراصوت مشابهت دارد [۳۲، ۱۲ و ۳۳]. یینگ و همکاران (۲۰۱۱) از سه روش خیساندن، میکروویو و فراصوت برای استخراج پلی‌ساکاریدها از برگ شاتوت استفاده کردند. آن‌ها گزارش کردند که از بین این روش‌ها، روش فراصوت بیشترین میزان قند را از برگ شاتوت استخراج نموده است و پس از بررسی ترکیبات موجود در عصاره دریافتند که عصاره حاصل از این روش دارای گروه‌های عملگرایی بیشتری است [۳۴]. ما و همکاران (۲۰۰۸) استخراج ترکیبات فنولیک از نارنگی را بررسی و بیان داشتند استفاده از فراصوت سبب افزایش ترکیبات فنولیک نسبت به

۵- منابع

- Chromatography A*, 1125(2): 147-151.
- [12] Farhoosh, R., and Moosavi, S.M.R. 2006. Determination of carbonyl value in rancid oils: a critical reconsideration. *Journal of Food Lipids*, 13(3): 298-305.
- [13] Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P., and Gargova, S. 2007. Antioxidant activity of ginger extract (*Zingiber officinale*). *Food Chemistry*, 102(3): 764-770.
- [14] Burits, M., and Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, 14(5): 323-328.
- [15] Horwitz, W., Chichilo, P., and Reynolds, H. 1970. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. 13th ed., Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- [16] Seabury, K.E. 2002. The effect of antioxidants in preventing further oxidation in TBA analysis. California State Science Fair, Project number, J0404.
- [17] Luque-Garcia, J.L., and Luque de Castro, M.D. 2003. Ultrasound: a powerful tool for leaching. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 22(1): 41-47.
- [18] Povey, M.J.W., and Mason, T.J. 1998. Ultrasound in Food Processing. Blackie Academic and Professional, London, p: 105-125.
- [19] Jiménez, A., Beltran, G., and Uceda, M. 2007. High-power ultrasound in olive paste pretreatment. Effect on process yield and virgin olive oil characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(6): 725-731.
- [20] Herrera, M.C., and Luque de Castro, M.D. 2005. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*, 1100(1): 1-7.
- [21] Shukla, S., Mehta, A., Bajpai, V.K., and Shukla, S. 2009. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bert. *Food and Chemical Toxicology*, 47(9): 2338-2343.
- [22] Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L., and Zhang, Y. 2011. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L.) leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 49(10): 2689-2696.
- [23] Sang, S., Lapsley, K., Jeong, W.S., [1] Rostagno, A., Palma, M., and Barroso, C. 2003. Ultrasound assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012(2): 119-128.
- [2] Adom, K.K., and Lio R.H. 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 50: 6182-6187.
- [3] Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J.P., and Mason, T.J. 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(3-4): 261-265.
- [4] Bielanski, T.E., and Piotrowski, Z.H. 1999. Horse-chestnut seed extract for chronic venous insufficiency. *The Journal of Family Practice*, 48(3): 171-172.
- [5] Zhang, X. 2002. WHO monographs on selected medicinal plants. Malta, world health organization, Geneva, 2: 137-148.
- [6] Amini, A. 1995. Medicinal Herbs Dictionary and their traditional applications in Kordestan. 1st ed., Kermanshah: Otagh Bostan Publication, p: 31.
- [7] Foster, S. 2002. The review of natural products. 2nd ed. USA; Facts and comparisons. p: 233-237.
- [8] Mallakian, Sh., and Jalali, M. 2016. The effect of microwave and ultrasonic methods in food oil consumption. 2nd International and 14th Iranain Nutrition Congress, Tehran, Iran.
- [9] Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L., and Mason, T.J. 2001. Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(2): 137-142.
- [10] Kamali, F., Sadeghi-Mahunak, A., and Nasiri-far, Z. 2015. The effect of ultrasound-assisted conditions on the extraction of phenolic compounds and flavonoids from autumn olive fruits (*Elaeagnus umbellata*). *Food Technology and Nutrition*, 12(2): 23-32. [In Persian]
- [11] Martino, E.I., Ramaiola, M., Urbano Bracco, F., and Collina, S. 2006. Microwave assisted extraction of coumarin and related compounds from *Melilotus officinalis* (L.) pallas alternative to soxhlet and ultrasound-assisted extraction. *Journal of*

- [29] Haydari-Majd, M., Mortazavi, S.A., Asili, J., Bolorian, S., Armin, M., and Abdolshahi, A. 2012. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Flomidoschema parviflora*. *Journal of Medicinal Herbs*, 3(1): 7-13. [In Persian]
- [30] Hooshmand, M., and Mehdi, A. 2014. Investigation on the antioxidant activity of the extract, blessed mote with ultrasound waves to the method of FRAP. The Second National Congress of agricultural and natural resources sustainable. Tehran, Institute of higher education, Mehr Arvand. The Group's advocacy of the environment and Society for the protection of nature in Iran. [In Persian]
- [31] Hromádková, Z., Ebringerová, A., and Valachovič, P. 1999. Comparison of polysaccharides from *Salvia officinalis* L. *Ultrasonics Sonochemistry*, 5(4): 163-168.
- [32] Elhami Rad, A.H., Ghavami, H., and HaddadKhodaparast, M.H. 2008. Use of bioactive antioxidants of plant origin (quercetin) to increase the oxidative stability of fatty systems. 18th National Congress of Food Science and Technology, Mashhad, Iran. [In Persian].
- [33] Gharekhani, M., Ghorbani, M., Ebrahim-Zadeh, M.A., Jafari, M., and Sadeghi Mahunk, A. 2009. Effect of nettle (*Urtica dioica*) leaves extract on the inhibition of soybean oil oxidation. *Electronic Journal of Food Processing and Preservation*, 1(2): 85-102. [In Persian].
- [34] Ying, Z., Han, X., and Li, J. 2011. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. *Food Chemistry*, 127(3): 1273-1279.
- [35] Ma, Y., Ye, X., Hao, Y., Xu, G., Xu, G., and Liu, D. 2008. Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (*Citrus reticulata*) peel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(3): 227-232.
- Lachance, P.A., Ho, C.T., and Rosen, R.T. 2002. Antioxidative phenolic compounds inolated from almond skins. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 50(8):2459-2463.
- [24] Sharifi, A., Basiri, A.R., Sharifi, M.R., and Ahmadzadeh-Ghavidel, R. 2019. Optimization of bioactive compounds extraction from black hawthorn fruit (*Crataegus elbursensis*) using response surface methodology. *Food Engineering Research*, 18(66): 115-130. [In Persian]
- [25] Malakootabari, S., Ghorbanali, M., Safaeian, S., and Moosazade, S.A. 2013. Comparison of antioxidant properties and of phytochemical compounds from *Trametes gibbosa*. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal*, 3(10): 73-78. [In Persian].
- [26] Ghaderi Ghahfarokhi, M., Sadeghi Mahoonak, A.R., Alami, M., Ghorbani, M., and Azizi, M.H. 2011. Determination of antiradical activity, reducing power and total antioxidant activity of phenolic extracts of Acorn fruit (*Q.branti ver persica*). *Journal of Food Research*, 21(1): 93-104. [In Persian]
- [27] Mohagheghi Samarin, A., Poor Azarang, H., Akhlaghi, H., Elhami Rad, A., and Hematyar, N. 2008. Antioxidant activity of potato (*Solanum tuberosum*, raja) peel extract. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 3(3): 23-32. [In Persian].
- [28] Ghorbani, M., Abonajmi, M., Ghorbani-Javid, M., and Arabhosseini, A. 2015. Effect of extraction conditions with ultrasonic method on phenolic compounds extracted of fennel (*Foeniculum vulgare*). 2nd Agriculture and Development Conference, Tehran, Iran. [In Persian].



Optimization of chestnut (*Aesculus hippocastanum*) fruit extract extraction process by response surface methodology and evaluation of its antioxidant effect on the stability of soybean oil during shelf life

Pedram Nia, A.^{1*}, Sabetghadam, M.², Jalali, M.¹

1. Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

2. Young Research and Elite Club, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received 2021/ 05/ 16 Accepted 2021/ 07/ 27 Keywords: Phenolic compounds, Chestnut (<i>Aesculus hippocastanum</i>), Response surface method, Free radical scavenging power. DOI: 10.52547/fsc.t.18.120.30 DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.18.0 *Corresponding Author E-Mail: ahmadpedram@yahoo.com	Free radicals and reactive oxygen species and their effects on biological systems have caused many problems in recent years. Antioxidants are able to protect biological systems against these factors and play an effective role in human health. The aim of this study was to optimize the extraction of phenolic compounds and the extent of free radical scavenging activity by ultrasound. Finally, the optimal sample of chestnut fruit extract was selected and this sample was added to soybean oil along with maceration extract and synthetic antioxidant (BHT) and examined with a control sample. In this study, the extraction process by ultrasound technology with 3 factors at 3 levels including time (10, 20 and 30 minutes), ultrasound intensity (20, 60 and 100 kHz) and concentration (200, 400 and 600 ppm), Which was investigated by the optimization response surface method. The results of statistical analysis to determine the optimal state for extracting 30 minutes, ultrasound intensity 69.32 kHz and concentration of 600 ppm chestnut fruit extract were determined. Under these conditions, free radical scavenging power was 65.23% and the amount of phenolic compounds was 43.1518 mg. The results of oxidative stability of oil in control sample and maceration extraction sample and optimal sample and synthetic antioxidant (BHT) showed that the optimal sample had a greater effect in reducing the peroxide index and thiobarbituric acid than the control sample and synthetic antioxidant (BHT).