



Comparison of the efficiency of combined Sono-Clevenger system and Clevenger system in extracting *Pimpinella anisum* essential oil

Mir Mohammad Mousavi¹, Mohammad Aboonajmi^{1✉}, Saeed Goodarzi², Akbar Arabhosseini¹

¹ Department of Agrotechnology, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran

² Medicinal Plants Research Center, Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

✉ Corresponding author: abonajmi@ut.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 2025-09-28

Revised: 2025-12-09

Accepted: 2026-02-08

Keywords:

Essential oil, Anise, Ultrasound, Sono-Clevenger, Clevenger, Extraction.

ABSTRACT

Background: Anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil is a valuable natural compound widely used in the food, cosmetic, and pharmaceutical industries. Conventional hydro-distillation using a Clevenger apparatus is time-consuming and energy-intensive, which may result in thermal degradation of volatile compounds. The application of ultrasound during hydro-distillation can enhance extraction efficiency and reduce energy consumption.

Aims: This study aimed to compare the extraction yield, energy consumption, and physicochemical properties of anise essential oil obtained by the combined ultrasound–Clevenger system and the conventional Clevenger method.

Methods: Essential oil was extracted from anise seeds by hydro-distillation using two systems: (1) conventional Clevenger apparatus and (2) ultrasound-assisted hydro-distillation (ultrasound–Clevenger). Experiments were conducted at three ultrasonic power levels (200, 350, and 500W), three sonication times (20, 40, and 60 min), and three pulse modes (continuous, 2s off–2s on, and 4s off–2s on) at a fixed frequency of 20 kHz. The conventional Clevenger extraction was performed for 180 min at boiling temperature as control.

Results: Optimization results indicated that the best extraction condition was achieved at 200W, 20min, and the pulse mode of 4s off–2s on, which minimized energy consumption and reduced extraction time by $\frac{1}{4}$ minutes compared to the conventional method. The ultrasound–Clevenger system significantly improved extraction efficiency and reduced energy use. GC–MS analysis showed that both methods produced similar qualitative profiles, but ultrasound treatment increased the relative contents of anethole, estragole, γ -himachalene (a sesquiterpene compound), and zingiberene (the main sesquiterpene of ginger essential oil).

Conclusion: The ultrasound–Clevenger system proved to be an efficient, rapid, and energy-saving method for anise essential oil extraction, providing higher yield and better retention of key aromatic compounds compared to the conventional Clevenger technique.



Extended Abstract

Introduction: Anise (*Pimpinella anisum* L.), commonly known as Roman anise or Badian, is an annual herbaceous plant belonging to the Apiaceae (Umbelliferae) family and has been recognized as one of the oldest medicinal plants. This plant grows to a height of 30–50 cm and produces small white flowers arranged in compound umbels, along with greenish-yellow fruits that are pointed at the apex with five prominent ridges. According to traditional Iranian medicine, anise seeds possess a warm and dry nature and have been used for the prevention and treatment of various diseases. The seeds, especially when fresh and unpeeled, are the primary part used for medicinal and aromatic purposes. Major essential oil constituents include anethole (~81%), methyl chavicol, linalool, himachalene, and alpha-terpineol. Anise essential oil is applied in pharmaceuticals and cosmetics to improve respiratory function, as an ingredient in perfumes and soaps, and topically to enhance drug penetration through the skin. Efficient extraction methods are crucial due to the high value of essential oils. Conventional techniques like hydro-distillation and solvent extraction often show limitations such as low yield, long extraction time, high energy consumption, loss of thermolabile compounds, and potential solvent residues. Consequently, green and sustainable extraction technologies have gained attention.

Modern extraction methods such as ultrasound-assisted extraction (UAE), microwave-assisted extraction (MAE), supercritical fluid extraction, rapid distillation, and subcritical water extraction offer advantages including shorter processing time, reduced solvent consumption, and lower environmental impact. UAE, in particular, has received significant interest due to cavitation effects that enhance solvent penetration, mass transfer, and extraction efficiency at lower temperatures, preserving heat-sensitive compounds like phenolics. Previous studies have shown that ultrasound significantly affects essential oil yield depending on power, duration, and mode. For example, Thakker et al. (2018) applied ultrasound-assisted hydro-tropic extraction (UAHE) to isolate geraniol from *Cymbopogon martini* leaves, optimizing amplitude, pulse cycles, and extraction parameters. Liu et al. (2019) optimized Sono-Clevenger conditions for *Iberis amara* seeds and demonstrated improved efficiency compared to conventional hydro- and steam-distillation. Hamza Alasalvar et al. (2021) showed

effective and sustainable extraction of phenolic antioxidants from *Lavandula angustifolia*, and Bahmani et al. (2015) observed that ultrasound pretreatment enhanced tarragon leaf essential oil yield, with sonication time having a significant effect.

Considering the wide applications of anise essential oil in food, pharmaceutical, and healthcare industries, this study aimed to investigate efficient extraction methods using conventional Clevenger hydro-distillation and a newly designed ultrasound–Clevenger system. The study compared extraction yield, energy consumption, and physicochemical properties of essential oils. The novelty of this work lies in the application of continuous and pulsed ultrasound at different powers and durations to reduce energy consumption while preserving essential oil quality.

Materials and Methods

Sample Preparation

Anise seeds used in this study were obtained from Pakkan Seed Company, Isfahan, Iran. The seeds were ground using a mechanical grinder (Nosh Shekan, Khorasan, Iran). For each experiment, 25 g of ground seeds were used.

Essential Oil Extraction Using Clevenger Apparatus

For hydro-distillation using a conventional Clevenger apparatus, 25 g of ground anise seeds were transferred into a 1000 mL round-bottom flask and mixed with 500 mL of distilled water. The flask was placed on a heater and connected to a Clevenger apparatus, which was fixed on a metal stand using clamps. Distilled water was added to the graduated arm, and the inlet was sealed with cotton wool. The start time was recorded at the appearance of the first essential oil drop. After 180 min, the extracted oil was measured from the graduated arm, transferred into a vial, dried over anhydrous sodium sulfate, and the weight was recorded. Vials were sealed with foil and Parafilm and stored at 4°C until analysis.

Ultrasound–Clevenger System

The ultrasound–Clevenger system was designed to simultaneously apply ultrasonic waves and Clevenger distillation. The probe dimensions were measured and a preliminary design was created using SolidWorks 2016. The Teflon-coated ultrasonic probe was inserted into the flask to a depth of 2 cm to ensure proximity to the bottom.

Essential Oil Extraction Using Ultrasound–Clevenger

In this method, 25 g of ground sample was mixed with 500 mL of distilled water in the two-necked

flask. Extractions were performed at three ultrasonic power levels (200, 350, and 500 W), three sonication durations (20, 40, and 60 min), a fixed frequency of 20 kHz, and three pulse modes (continuous, 2s off–2s on, 4s off–2s on). The selection of variable levels was based on literature, preliminary experiments, and experimental design. Ultrasonication was applied simultaneously with Clevenger distillation using a Swiss-made ultrasonic generator (AMMMP, M.P. Interconsulting) and an on–off ultrasonic device manufactured by Mafoqot Fanavari Co.

Essential Oil Yield

For the conventional Clevenger method, the extraction was stopped after 180 min. For the ultrasound–Clevenger method, the extraction was stopped at the time indicated in the experimental design (Table 1) from the appearance of the first essential oil drop. The total collected oil was measured volumetrically and expressed in mg per 25 g of ground seeds.

Energy Consumption

Energy consumption during each experiment was measured using a power meter (UT230B-EU, UNI-T, China). The results from both methods were compared.

Chemical Composition

Quantitative and qualitative analyses of major essential oil components including anethole, estragole, zingiberene, and γ -himachalene were performed using GC–MS at the Medicinal Plants Research Center, Jahad University, Tehran. The analysis was conducted using an Agilent 6890 GC system with a BPX5 column (30 m $\times$ 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film thickness). One microliter of n-hexane-diluted sample was injected. The oven temperature program was as follows: 50 °C for 5 min, ramp at 3 °C/min to 240 °C, then 15 °C/min to 300 °C with a 3-min hold. Injector temperature was 290 °C, split ratio 1:35, helium carrier gas flow 0.5 mL/min. Mass spectra were recorded using an Agilent 5973 MS with electron ionization at 70 eV, ion source at 220 °C, scanning from 40–500 m/z. Data were processed using ChemStation software.

Statistical Analysis

Data were analyzed and optimized using response surface methodology (RSM) with a Box–Behnken design (BBD) in Design Expert 12. Independent variables included ultrasonic power, extraction time, and pulse mode, while dependent variables were essential oil yield and energy consumption. Optimization was performed at a 95% confidence level.

Results and discussion: The essential oil yield of anise seeds was compared between Sono-Clevenger and conventional Clevenger methods. Results indicated that the ultrasound-assisted method achieved comparable yields in a shorter time. ANOVA showed that extraction time significantly affected the yield ($P < 0.05$), while power and pulse mode had minor effects. The pulse mode (4 s off–2 s on) improved mass transfer by creating cyclic high-intensity peaks, facilitating better release of essential oil at lower powers (Aguiló-Aguayo et al., 2017). **Energy Consumption:** Energy use was significantly reduced with Sono-Clevenger. ANOVA confirmed extraction time as a significant factor, while ultrasonic power had no significant effect. The linear model showed good fit ($R^2 = 0.7362$), indicating reliable prediction of energy consumption.

Statistical Analysis and Optimization: The models were validated using RSM with Box–Behnken design. The optimal condition was 200 W, 20 min, and pulsed mode 4s off–2s on. Validation experiments confirmed the predicted essential oil yield (166.79 mg/25 g seeds) and energy consumption (0.896 kWh).

GC–MS Analysis: Chemical profiling showed anethole as the main component (92.89% in Sono-Clevenger vs. 89.9% in Clevenger). Other major compounds like estragole, γ -himachalene, and zingiberene were higher in the ultrasound-assisted extraction, indicating better preservation and release of key bioactive compounds.

In summary, the Sono-Clevenger system improved extraction efficiency, reduced energy consumption, and maintained essential oil quality compared to conventional hydro-distillation.

Conclusion: The study demonstrated that the ultrasound-assisted Clevenger (Sono-Clevenger) method enhanced essential oil extraction from anise seeds compared to conventional hydro-distillation. Optimal conditions (200 W, 20 min, 4s off–2s on) provided higher yield, better preservation of bioactive compounds such as anethole, estragole, γ -himachalene, and zingiberene, and significantly reduced energy consumption. Statistical analysis validated the model and confirmed reliability of predictions. Sono-Clevenger offers a rapid, energy-efficient, and effective extraction technique, making it suitable for industrial applications in food, pharmaceutical, and cosmetic sectors.

مقایسه‌ی بازده سامانه توأم فراصوت- کلونجر و سامانه کلونجر در استخراج اسانس انیسون

میرمحمد موسوی مهماندوستی^۱، محمد ابونجمی^۱✉، سعید گودرزی^۲، اکبر عرب حسینی^۱

^۱ گروه فنی کشاورزی - پردیس ابوریحان - دانشگاه تهران - تهران - ایران

^۲ مرکز تحقیقات گیاهان دارویی- دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی تهران - تهران - ایران

✉ مسئول مکاتبه: abonajmi@ut.ac.ir

چکیده

مشخصات مقاله

نوع مقاله:

علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۴/۳/۵

بازنگری: ۱۴۰۴/۷/۶

پذیرش: ۱۴۰۴/۹/۱۸

کلید واژه:

اسانس، انیسون، فراصوت، سونو- کلونجر، کلونجر، استخراج

زمینه مطالعاتی: اسانس انیسون (*Pimpinella anisum L.*) یک ترکیب طبیعی ارزشمند است که به طور گسترده در صنایع غذایی، آرایشی و دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تقطیر آبی مرسوم با استفاده از دستگاه کلونجر زمان‌بر و انرژی‌بر است که ممکن است منجر به تخریب حرارتی ترکیبات فرار شود. استفاده از فراصوت در طول تقطیر آبی می‌تواند راندمان استخراج را افزایش داده و مصرف انرژی را کاهش دهد.

هدف: این مطالعه با هدف مقایسه راندمان استخراج، مصرف انرژی و خواص فیزیکوشیمیایی اسانس انیسون حاصل از سیستم ترکیبی فراصوت-کلونجر و روش مرسوم کلونجر انجام شد.

روش کار: روغن اسانسی از دانه‌های انیسون با روش تقطیر با آب و با استفاده از دو سیستم استخراج شد: (۱) دستگاه کلونجر معمولی و (۲) تقطیر با آب به کمک امواج فراصوت (فراصوت-کلونجر). آزمایش‌ها در سه سطح توان فراصوت (۲۰۰، ۳۵۰ و ۵۰۰ وات)، سه زمان فراصوت (۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه) و سه حالت پالس (پیوسته، ۲ ثانیه خاموش-۲ ثانیه روشن، و ۴ ثانیه خاموش-۲ ثانیه روشن) با فرکانس ثابت ۲۰ کیلوهرتز انجام شد. استخراج با کلونجر معمولی به مدت ۱۸۰ دقیقه در دمای جوش به عنوان کنترل انجام شد.

نتایج: نتایج بهینه‌سازی نشان داد که بهترین شرایط استخراج در توان ۲۰۰ وات، ۲۰ دقیقه و حالت پالسی ۴ ثانیه خاموش-۲ ثانیه روشن حاصل شد که مصرف انرژی را به حداقل رساند و زمان استخراج را در مقایسه با روش مرسوم $\frac{1}{4}$ دقیقه کاهش داد. سیستم فراصوت-کلونجر به طور قابل توجهی راندمان استخراج را بهبود بخشید و مصرف انرژی را کاهش داد. تجزیه و تحلیل GC-MS نشان داد که هر دو روش پروفایل‌های کیفی مشابهی تولید کردند، اما تیمار فراصوت محتوای نسبی آنتول، استراگول، گاما-هیمپالین (یک ترکیب سسکوئی‌ترپن) و زینجی‌برن (سسکوئی‌ترپن اصلی روغن اسانس زنجبیل) را افزایش داد.

نتیجه‌گیری کلی: سیستم فراصوت-کلونجر روشی کارآمد، سریع و با صرفه‌جویی در مصرف انرژی برای استخراج اسانس انیسون بوده که در مقایسه با تکنیک مرسوم کلونجر، بازده بالاتر و حفظ بهتر ترکیبات معطر کلیدی را فراهم می‌آورد.

مقدمه

انیسون یا بادیان رومی، متعلق به خانواده چتریان (*Umbelliferae*)، با نام علمی *Pimpinella anisum* یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی است. این گیاه علفی، یک‌ساله به ارتفاع ۵۰-۳۰ سانتی‌متر و دارای گل‌های سفید کوچک به صورت گل آذین چتر مرکب و میوه‌هایی به رنگ سبز مایل به زرد است که قسمت فوقانی آن نوک تیز است و پنج خط برجسته بر روی آن مشهود است. این گیاه در شرق نواحی مدیترانه‌ای، غرب آسیا، خاورمیانه، مکزیک، مصر و اسپانیا کشت می‌شود. از منظر طب سنتی، انیسون نباتی بلندتر از زراعی است و سطح مقطع ساقه آن مربع و باریک، برگ آن باریک و خوشبو، گل آن مایل به سفید، بذر آن در غلافی لطیف طولانی و از رازیانة کوچک‌تر و سب‌تر مایل به سفیدی و زردی و اندکی مثلث شکل است. بخش مورد استفاده این گیاه دانه‌های آن (*Aniseeds*) است. دانه‌های تازه رسیده که پوست آن جدا نشده باشد، بهتر است؛ چون که خواص زیادی در پوست بذرها وجود دارد. در کتب طب سنتی ایران، انیسون را دارای طبیعت گرم و خشک می‌دانسته‌اند. با توجه به اهمیت انیسون در طب سنتی ایران، که برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها و نیز تأیید اثرات بیولوژیک متعدد این گیاه در آزمایش‌های تجربی و انسانی است (شجاعی، ۱۳۹۲). مهمترین ترکیبات اسانس انیسون عبارتند از: آنتول (۸۱٪)، متیل چاوایکول، لینالول، هیماکالین و آلفا- ترپینئول.

این گیاه به عنوان ادویه و طعم‌دهی در غذاها، ژلاتین‌ها، کیک‌ها و فرآورده‌های گوشتی، در محصولات دارویی تازه نمودن تنفس و دستگاه تنفسی، عطرها، صابون‌ها در داروهای ترکیبی و در داروهای موضعی سبب افزایش نفوذپذیری داروها در پوست می‌شود. مزایای روش‌های استخراج جدید با زمان کوتاه‌تر، مصرف حلال آلی کمتر و ایجاد آلودگی کمتر است. روش‌های استخراج جدید مانند استخراج به کمک فراصوت و استخراج به کمک ماکروویو از روش‌های سریع و موثر برای استخراج ترکیب‌های موثره از بافت گیاهی هستند. اولین

مرحله‌ی اساسی در تحقیقات گیاهان دارویی استخراج است (قره خانی و همکاران، ۱۳۹۰). استخراج اسانس از گیاهان معمولاً با روش‌های تقطیر یا استخراج با حلال انجام می‌شود. نقایص روش‌های استخراج موجود مانند: عملکرد پایین، تلفات ترکیبات فرار، زمان استخراج طولانی، مصرف بالای انرژی، مصرف بالای مواد شیمیایی مضر، باقی ماندن ترکیبات سمی حلال در اسانس و تخریب ترکیبات اشباع نشده، صنایع شیمیایی و غذایی را وادار به یافتن تکنیک‌های جداسازی سبز کرده است. استخراج با ماکروویو، استخراج با سیال فوق بحرانی، استخراج با فراصوت، فرابالایش^۱، تقطیر سریع، فرآیند افت فشار کنترل شده و استخراج با آب تحت بحرانی از جمله این تکنیک‌ها هستند (Chemat and Khan, 2011; Khajeh et al., 2004). امروزه استفاده از امواج فراصوت با توجه به اثرات موثر آن در نگهداری و فرآیند مواد غذایی رو به گسترش می‌باشد. اثرات مکانیکی امواج فراصوت و پدیده کاویتاسیون ایجاد شده در اثر این امواج، سبب افزایش نفوذپذیری حلال به داخل سلول‌های گیاهی، افزایش انتقال جرم و به دنبال آن افزایش بازده استخراج در دماهای پایین‌تر می‌شود. از مزایای استخراج با فراصوت، استخراج در دمای پایین می‌باشد که از آسیب ترکیب‌های حساس به حرارت از جمله ترکیبات فنولیک جلوگیری می‌کند (کمالی و همکاران، ۱۳۹۴).

تحقیقات بسیاری در مورد استخراج به کمک فراصوت در مورد گیاهان مختلف انجام شده است. همچنین با استفاده از این تکنیک می‌توان تأثیر قابل توجهی بر میزان اسانس تقطیر شده به عنوان تابعی از قدرت فراصوت مورد استفاده مشاهده کرد. در سال ۲۰۱۸، Thakker و همکاران برای جداسازی ژرانیول از برگ‌های مارتینی *Cymbopogon*، مفهومی جدیدتر از ترکیب استخراج هیدروتروپیک با امواج فراصوت برای کاهش زمان استخراج و نیاز هیدروتروپیک استفاده کردند، در عین حال جهت حفظ کیفیت محصول پارامترهای مختلفی مانند دامنه فراصوت، زمان چرخه و حجم و غلظت محلول هیدروتروپیک،

با کمک سامانه می‌باشد که برای این منظور سامانه فوق طراحی و ساخته شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه

بذر گیاه انیسون مورد استفاده در این پژوهش از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. بذره‌های تهیه شده توسط دستگاه آسیاب (نوش شکن خراسان) آسیاب گردید. در هر بار آزمایش مقدار ۲۵ گرم بذر آسیاب شده مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج اسانس با استفاده از کلونجر

به منظور استخراج اسانس انیسون به کمک کلونجر، مقدار ۲۵ گرم بذر آسیاب شده‌ی انیسون به یک بالن ۱۰۰۰ میلی لیتری منتقل و نصف حجم بالن معادل ۵۰۰ میلی لیتر، آب مقطر به آن اضافه گردید. سپس بالن با محتویات داخل آن را بر روی هیتز قرار داده و پس از اتصال به کلونجر، سیستم به کمک گیره بر روی یک پایه فلزی تثبیت شد. سپس با پیست مقداری آب مقطر به لوله مدرج کلونجر اضافه گردید و با قطعه کوچکی پنبه ورودی لوله مدرج مسدود شد. زمان شروع آزمایش با افتادن اولین قطره اسانس در نظر گرفته شد. بعد از زمان ۱۸۰ دقیقه میزان اسانس استخراج شده از روی لوله مدرج خوانده شد (برحسب میلی لیتر) و سپس با باز کردن شیر کلونجر اسانس به داخل یک ویال منتقل گردید، و برای حذف مقدار آب موجود همراه با اسانس مقداری سدیم سولفات انیدر روی اسانس ریخته شد تا کامل آبدگیری شود و توسط یک پیست پاستور به داخل یک ویال دیگر منتقل گردید. وزن ویال‌ها نیز قبل و بعد از پر شدنشان، اندازه‌گیری شد، تا مقدار اسانس به دست آمده از نظر وزنی نیز بررسی گردد. سپس ویال حاوی اسانس توسط فویل پوشانده شد و درب آن نیز با پارافیل پلمپ شد تا از تبخیر اسانس جلوگیری گردد و تا انجام آنالیز، به داخل یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس منتقل گردید.

سامانه فراصوت- کلونجر

در این تحقیق برای استخراج اسانس از سامانه ی فراصوت - کلونجر استفاده شد که به صورت اعمال همزمان فراصوت و

و همچنین زمان استخراج به منظور بهینه‌سازی شرایط تجربی مؤثر بر استخراج هیدروتروپیک به کمک فراصوت (UAHE) مورد مطالعه قرار گرفتند. در سال ۲۰۱۹، لیو و همکاران، شرایط بهینه Sono-Clevenger را برای استخراج اسانس از دانه‌های *Iberis amara* با استفاده از روش سطح پاسخ تعیین کردند. آنها همچنین کارایی این روش را با روش‌های سنتی مانند تقطیر با آب یا تقطیر با بخار مقایسه کردند. مشاهده شد که راندمان استخراج به طور قابل توجهی با کمک فراصوت در مقایسه با تکنیک‌های سنتی افزایش یافته است. در سال ۲۰۲۱، Hamza Alasalvar و همکاران، نتایج استخراج پایدار، سبز و مؤثر ترکیبات فنلی آنتی اکسیدانی را از گیاه اسطوخودوس (*angustifolia L.*) نشان دادند. در پژوهشی دیگر بهمنی و همکاران تاثیر روش تقطیر با آب همراه با پیش تیمار امواج فراصوت بر روی استخراج اسانس از برگ گیاه ترخون را مورد بررسی قرار دادند که نتایج آزمایش‌ها نشان داد که اثر توان فراصوت بر میزان اسانس استخراج شده معنادار نیست ولی اثر زمان اعمال فراصوت بر میزان استخراج اسانس در سطح ۵ درصد معنادار بود (بهمنی و همکاران، ۱۳۹۴).

در سال ۲۰۱۹، لیو و همکاران، شرایط بهینه Sono-Clevenger را برای استخراج اسانس از دانه‌های *Iberis amara* با استفاده از روش سطح پاسخ تعیین کردند. آنها همچنین کارایی این تصفیه را با روش‌های سنتی مانند تقطیر با آب یا تقطیر با بخار مقایسه کردند. مشاهده شد که راندمان استخراج به طور قابل توجهی با کمک فراصوت در مقایسه با تکنیک‌های سنتی افزایش یافته است.

در این تحقیق با توجه به کاربرد وسیع اسانس انیسون در صنایع مختلف غذایی، دارویی و بهداشتی و لزوم توجه به روش استخراج، با دو روش کلونجر و فراصوت-کلونجر به منظور مقایسه بازدهی استخراج، میزان مصرف انرژی و خواص فیزیکی مورد مقایسه قرار گرفت.

با توجه به پژوهش‌های پیشین، نوآوری در تحقیق حاضر استفاده از روش فراصوت- کلونجر به کمک موج‌های پیوسته و پالسی با توان و زمان‌های مختلف برای کاهش مصرف انرژی

میزان ۲۵ گرم نمونه پودر شده به همراه ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر درون بالن طراحی و ساخته شده‌ی دو دهانه قرار داده شد. آزمون نمونه‌ها با سه توان (۲۰۰، ۳۵۰ و ۵۰۰ وات)، سه مدت زمان (۲۰، ۴۰ و ۶۰ دقیقه)، در فرکانس ثابت ۲۰ کیلوهرتز و سه حالت موج‌دهی (پیوسته، ۲ ثانیه خاموش - ۲ ثانیه روشن، ۴ ثانیه خاموش - ۲ ثانیه روشن) انجام شد. سطوح متغیرها بر اساس اطلاعات موجود در تحقیقات مشابه، آزمایشات اولیه و طراحی آزمایشات تعیین گردید، و بطور همزمان در سیستم کلونجر و در معرض امواج فراصوت که توسط مولد امواج فراصوت مدل AMMMP(M.P.Interconsulting) ساخت سوئیس و دستگاه on-off فراصوت مدل ساخته شده توسط شرکت توسعه فناوری مافوق صوت کار می‌کرد، قرار داده شد.

میزان استحصال اسانس

در روش کلونجر معمولی بعد از گذشت ۱۸۰ دقیقه و در روش فراصوت- کلونجر بعد از زمان های مشخص شده در طرح آزمایش (جدول ۱)، از زمان استحصال اولین قطره اسانس داخل لوله مدرج کلونجر، اسانس گیری متوقف و بعد از اتمام هر آزمایش مقدار کل اسانس جمع‌آوری شده در ستون جمع‌کننده یا همان لوله مدرج از روی اعداد درج شده روی این لوله مقدار نهایی استخراج قرائت گردید، سپس عدد بدست آمده بر حسب میلی گرم به ازای ۲۵ گرم بذر آسیاب شده به عنوان میزان اسانس استخراجی در نظر گرفته شد.

میزان مصرف انرژی

در این پژوهش میزان مصرف انرژی در طول آزمایش در دو روش کلونجر و فراصوت- کلونجر توسط دستگاه power meter مدل UT230B-EU ساخت شرکت UNI-T اندازه‌گیری شد و سپس مقدار مصرف انرژی در دو روش با هم مقایسه گردید.

خصوصیات شیمیایی

آنالیز کمی و کیفی ترکیبات اصلی اسانس شامل آنتول، استراگول، زینجیرن و گاما هیمپالان و چند ترکیب فرعی دیگر که با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی

کلونجر می‌باشد، ابتدا طول و قطر پراب فراصوت، ابعاد پراب فراصوت و قطر مورد نیاز دهانه ی بالن کلونجر اندازه‌گیری شد، سپس یک طرح اولیه با نرم افزار سالدورک ۲۰۱۶ طراحی شد (شکل ۱). پراب فراصوت به همراه تفلون طراحی و ساخته شده جهت آبیندی وارد دهانه‌ی ساخته شده و سوار شده بر روی بالن و به عمق ۲ سانتی‌متر داخل بالن قرار گرفت. مقدار ۲ سانتی‌متر به علت اینکه پراب به نزدیکی عمق بالن برسد، انتخاب گردید (شکل ۱ و ۲).

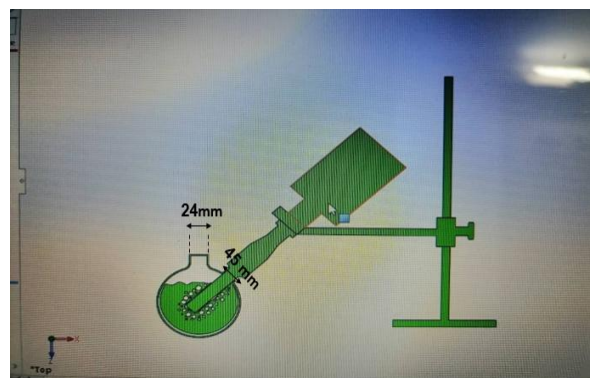


Figure 1. Schematic plan designed with Solidwork software



Figure 2. Sono-Clevenger made and used in this research

استخراج اسانس با روش فراصوت- کلونجر

در این قسمت تاثیر همزمان امواج فراصوت و کلونجر بر بازدهی و مقدار زمان استخراج اسانس از گیاه انیسون مورد بررسی قرار گرفت. بدین ترتیب که همانند روش کلونجر،

جرمی (GC-MS) در پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی دانشگاه تهران انجام شد. در این پژوهش از دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنجی جرمی از نوع Agilent 6890 ساخت کشور آمریکا، با ستون به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BPX5 استفاده شد. برای شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس، نمونه که توسط n- هگزان رقیق شده بود به مقدار یک میکرولیتر به دستگاه GC-MS تزریق شد. برنامه دمائی ستون بصورت ذیل تنظیم گردید: دمای ابتدائی آون ۵۰ درجه سلسیوس و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سلسیوس در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سلسیوس و سپس با سرعت ۱۵ درجه در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سلسیوس و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتاق تزریق ۲۹۰ درجه سلسیوس بصورت split ۱ به ۳۵ بود و از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید.

طیف نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 با ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، روش یونیزاسیون EI و دمای منبع یونیزاسیون ۲۲۰ درجه سلسیوس بود. محدوده اسکن مس‌ها از ۴۰ تا ۵۰۰ تنظیم گردید و از نرم‌افزار Chemstation استفاده شد.

تجزیه آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها و بهینه‌سازی آزمایش از روش سطح پاسخ (RSM) و طرح باکس بنکن (BBD) با استفاده از نرم افزار Design Expert12 برای طراحی آزمایش‌ها، تجزیه و تحلیل آماری، رسم نمودارها و پیش‌بینی نقطه بهینه در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. متغیرهای مورد بررسی در این پژوهش توان فراصوت، زمان استخراج و زمان خاموش و روشن بودن دستگاه فراصوت بود (جدول ۱)، و پارامترهای مقدار اسانس استخراج شده و مقدار انرژی مصرفی به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد.

Table1. Experimental research design using response surface methodology (RSM) and Design Expert12 software

Run	Std	Time (minute)	Power (W)	Off (s)	On (s)	Waveform mode
1	10	40	500	0	2	Continuous
2	2	60	200	2	2	Pulsed
3	15	40	350	2	2	Pulsed
4	12	40	500	4	2	Pulsed
5	7	20	350	4	2	Pulsed
6	9	40	200	0	2	Continuous
7	14	40	350	2	2	Pulsed
8	13	40	350	2	2	Pulsed
9	4	60	500	2	2	Pulsed
10	5	20	350	0	2	Continuous
11	16	40	350	2	2	Pulsed
12	8	60	350	4	2	Pulsed
13	17	40	350	2	2	Pulsed
14	11	40	200	4	2	Pulsed
15	1	20	200	2	2	Pulsed
16	6	60	350	0	2	Continuous
17	3	20	500	2	2	Pulsed
18	-	180	-	-	-	Clevenger

نتایج و بحث

بازدهی استخراج

بازدهی استخراج اسانس انیسون با روش فراصوت-کلونجر و روش کلونجر در شکل ۳ مقایسه شده است و تاثیر زمان کل

آزمایش‌های اولیه مشخص شد که حداقل ۲ ثانیه زمان برای رسیدن به حداکثر دامنه و در نتیجه حداکثر شدت موج و توان موج لازم است و پس از ۲ ثانیه از شروع موج‌دهی مقدار دامنه و به تبع آن شدت و توان موج کاهش داشته و بر روی مقدار ثابتی قرار می‌گیرد، پس در روش ۲ ثانیه روشن و ۴ ثانیه خاموش و کلاً در هر روش موج‌دهی گسسته هر چند زمان کل موج‌دهی نسبت به حالت پیوسته کمتر است ولی مقداری از زمان در پیک دامنه و در نتیجه پیک توان و شدت قرار دارد و خود حالت روشن و خاموش شدن پی‌درپی نیز می‌تواند حالتی ضربه مانند در محلول ایجاد کرده که این امر می‌تواند به تخریب بیشتر و بهتر ماتریس‌های گیاهی و لذا آزادسازی بهتر اسانس در توان‌های پایین باشد (Aguiló-Aguayo, Walton, Viñas, & Tiwari, 2017).

فرآیند و توان و نیز زمان کل فرآیند و زمان خاموش ماندن دستگاه در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است و نهایتاً کفایت مدل‌ها از طریق تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) توجیه شد. هرگاه مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ باشد، نشان دهنده این است که آن متغیر معنادار بوده و تاثیر قابل توجهی بر پاسخ می‌گذارد، که در آزمایشها اثر فاکتور زمان در سطح ۵ درصد معنادار بود و تاثیر بر پاسخ داشت، (جدول ۲). با توجه به جدول تجزیه واریانس مشاهده می‌شود که، با استفاده از روش سونو-کلونجر در مدت زمان کمتری می‌توان به همان میزان اسانسی که در روش مرسوم (کلونجر) بدست می‌آید، رسید. در نتیجه روش سونو-کلونجر سبب کاهش زمان مورد نیاز برای تکمیل فرآیند استخراج اسانس می‌گردد. یکی از علت‌های انتخاب روش ۲ ثانیه روشن و ۴ ثانیه خاموش این بود که با توجه به

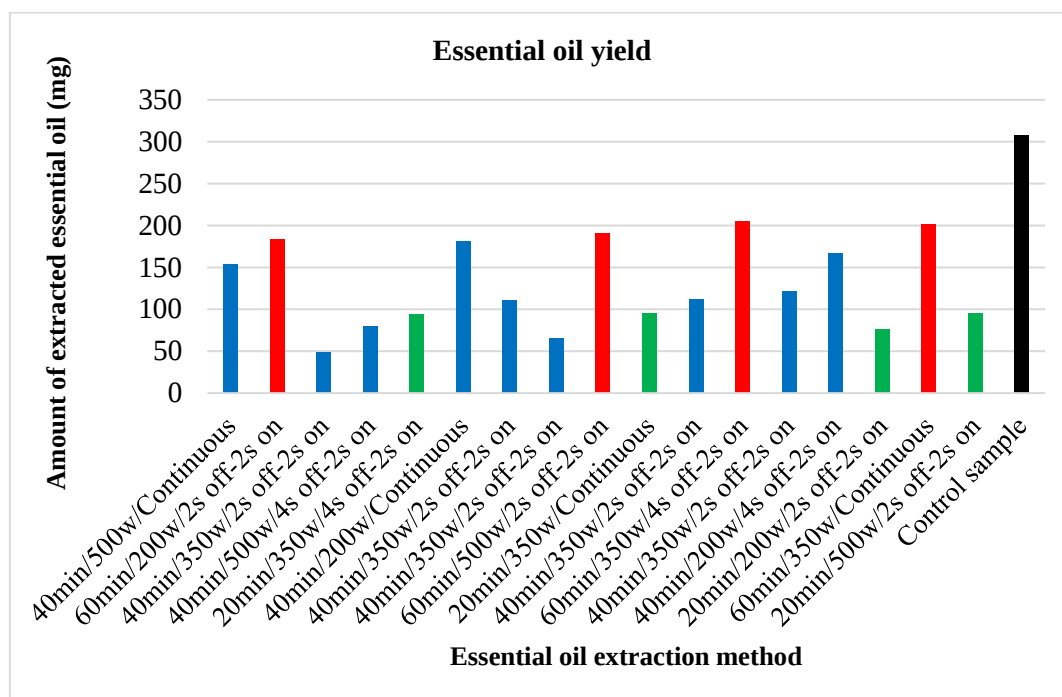


Figure 3. Comparing the amount of extracted essential oil in two methods, Sono-Clevenger and Clevenger

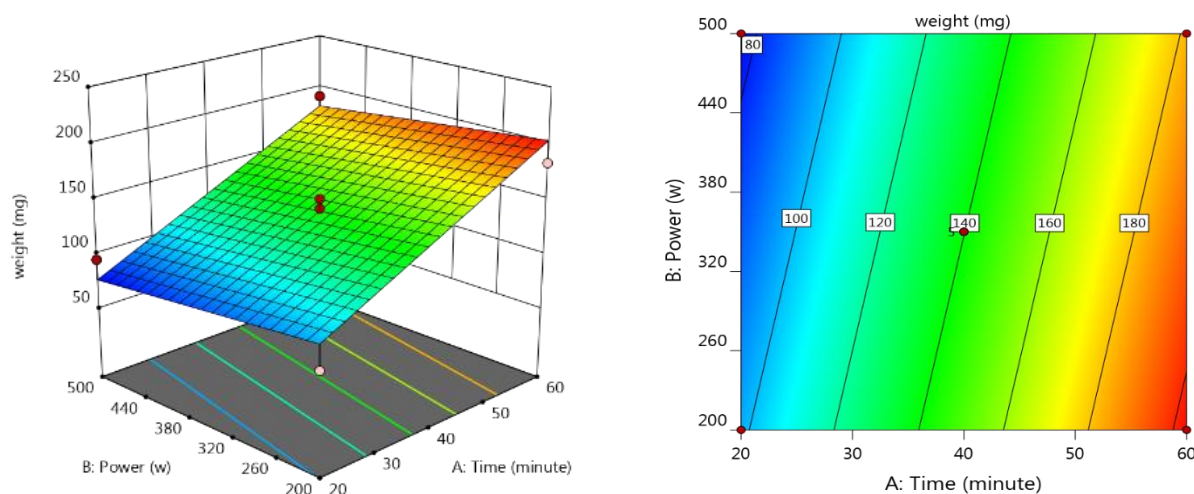


Figure 4. The effect of power and time of the whole process on the amount of essential oil extraction

Table 2. Analysis of variance (ANOVA) for the linear model of the response surface for the amount of essential oil extraction

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	P-value	Significant
Model	23928/56	3	7976/19	5/65	0/0106	t
A-Time	22102/53	1	22102/53	15/65	0/0016	
B-Power	946/12	1	946/12	0/6700	0/4278	
C-off	879/90	1	879/90	0/6231	0/4441	
Residual	18358/74	13	1412/21			
Lack of fit	14232/48	9	1581/39	1/53	0/3603	not Significant
Pure Error	4126/27	4	1031/57			
Cor total	42287/30	16				

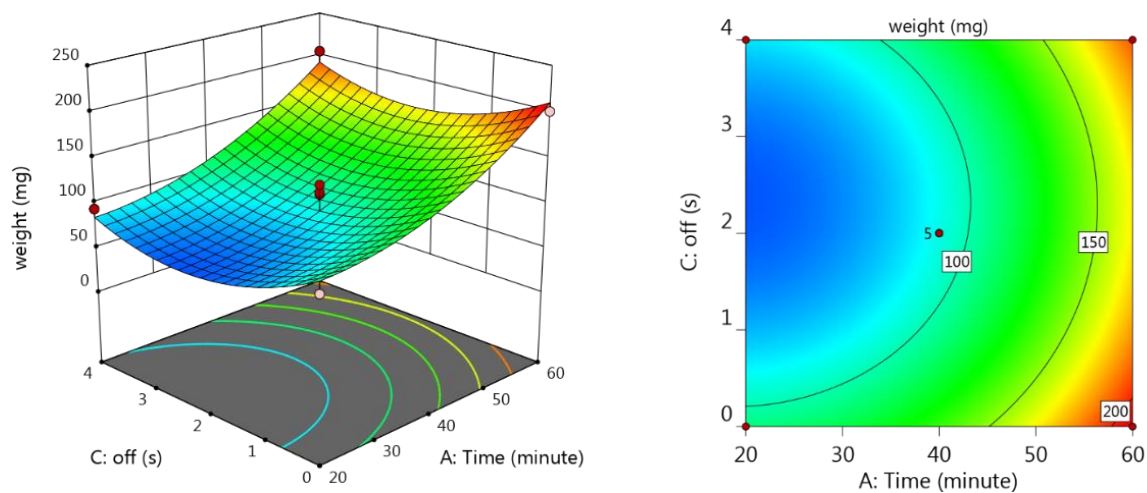


Figure 5. The effect of the device's shutdown time and the total process time on the amount of essential oil extraction

میزان مصرف انرژی

میزان مصرف انرژی در طول فرآیند استخراج اسانس انیسون با روش سونو-کلونجر و روش کلونجر در شکل ۷ مقایسه شده است، و تاثیر زمان کل فرآیند و توان و نیز زمان کل فرآیند و زمان خاموش ماندن دستگاه در شکل‌های ۸ و ۹ نشان داده شده است. همچنین کفایت مدل‌ها از طریق تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) توجیه شد.

هرگاه مقدار P-value کمتر از ۰/۰۵ باشد، نشان دهنده این است که آن متغیر معنادار بوده و تاثیر قابل توجهی بر پاسخ می‌گذارد، که در آزمایش‌ها اثر فاکتور زمان در سطح ۵ درصد معنادار بود و تاثیر بر پاسخ داشت ولی اثر فاکتور توان معنادار نبود و نیز عدم برازش نیز باید معنادار نباشد چون در غیر اینصورت عدم تناسب وجود دارد و خطا در آزمایش‌ها دخیل است، که در اینجا معنادار نبود (جدول ۳). در نتیجه روش فراصوت-کلونجر سبب کاهش قابل توجهی در مصرف انرژی مورد نیاز برای تکمیل فرآیند استخراج اسانس گیری می‌گردد.

نمودار نرمال احتمال پسماندها نشان داد که پسماندها تقریباً از توزیع نرمال پیروی می‌کنند، زیرا نقاط داده در نزدیکی خط مستقیم قرار گرفته‌اند. این موضوع بیانگر برازش مناسب مدل بوده و نشان می‌دهد که انحراف چشمگیری از نرمال بودن یا داده پرت وجود ندارد. بنابراین مدل برازش‌شده از قابلیت اطمینان کافی برای پیش‌بینی متغیر پاسخ برخوردار است (شکل ۶).

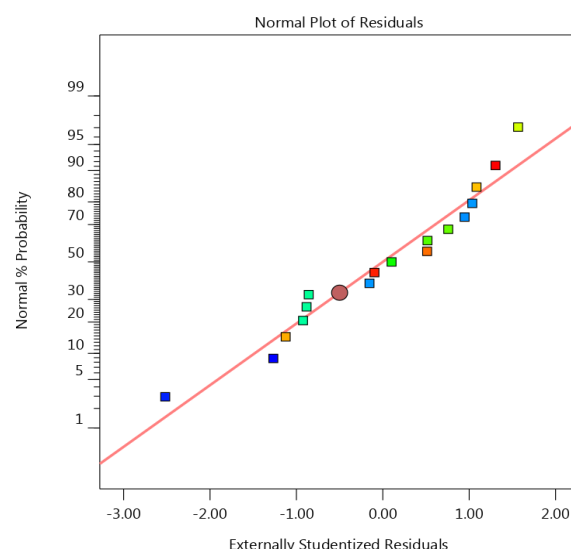


Figure 6. Data Correlation in 2FI model

Figure 7. Comparing the amount of energy consumption during the essential oil extraction process in two methods, Sono-Clevenger and Clevenger

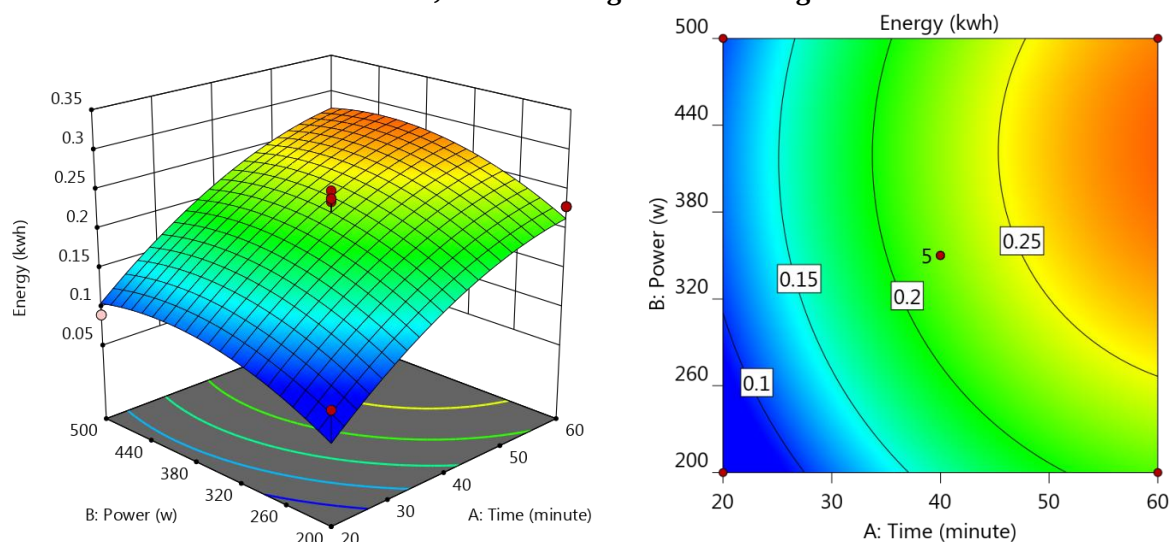


Figure 8. The effect of power and time of the whole process on the amount of energy consumption during the essential oil extraction process

Table 3. Analysis of variance (ANOVA) for the linear model of the response surface for the energy consumption

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0/0636	3	0/0212	12/10	0/0005	Significant
A-Time	0/0563	1	0/0563	32/12	<0/0001	
B-Power	0/0068	1	0/0068	3/87	0/0708	
C-off	0/0005	1	0/0005	0/2922	0/5979	
Residual	0/0228	13	0/0018			
Lack of fit	0/0116	9	0/0013	0/4622	0/8454	Not Significant
Pure Error	0/0112	4	0/0028			
Cor total	0/0864	16				

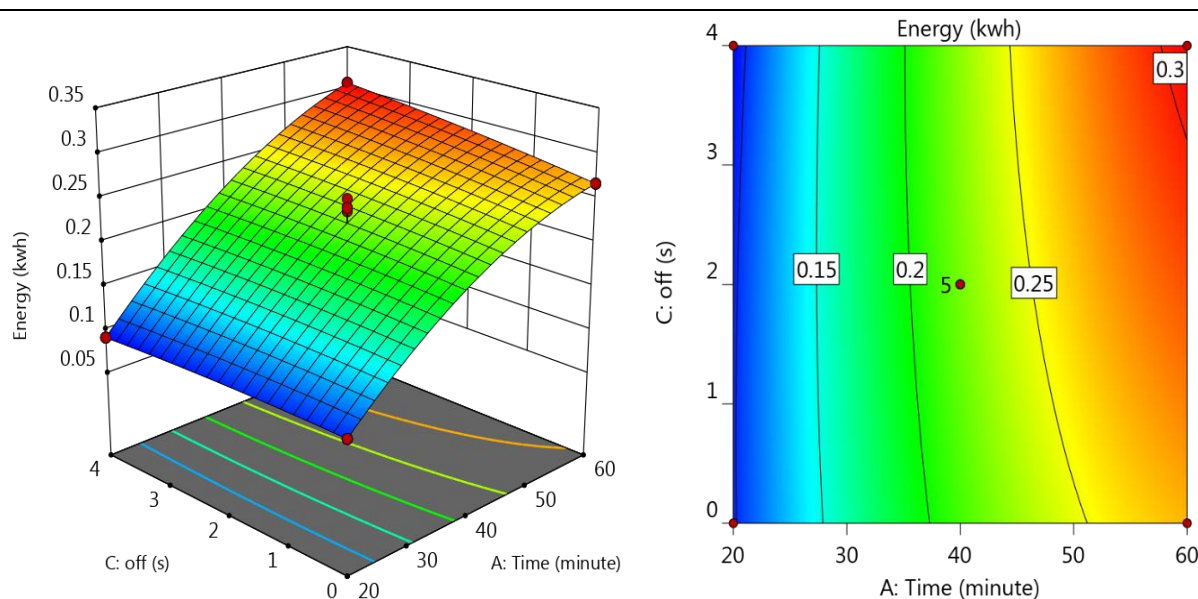


Figure 9. The effect of the device's shutdown time and the total process time on the amount of energy consumption during the essential oil extraction process

تحلیل آماری

کیفیت مدل برآورد شده بر اساس مقدار ضریب تعیین (R^2) تنظیم و پیش بینی شده، دقت کافی و ضریب تغییرات (C.V) بررسی شد. ضریب تغییرات شاخصی است، که برای توزیع پراکندگی داده های آماری به کار می‌رود، که برای میزان استخراج اسانس برابر ۲۹/۳۳ و برای میزان مصرف انرژی برابر با ۲۲/۳۴ بود. مقادیر R^2 برای پاسخ استخراج اسانس ۰/۵۶۵۹ و برای میزان مصرف انرژی ۰/۷۳۶۲ بدست آمد که در پاسخ میزان مصرف انرژی نشان دهنده ی ارتباط خوب بین مقادیر تجربی و پیش‌بینی شده است، زیرا نزدیک شدن ضریب تعیین به عدد یک به معنی انطباق مدل تجربی با داده‌های واقعی است. بهتر است که اختلاف بین $Adjusted R^2$ (تعیین شده) و

$Predicted R^2$ (پیش‌بینی شده)، بیشتر از ۰/۲ نباشد. در پاسخ اول برابر با ۰/۱۲۸۳ و در پاسخ دوم برابر با ۰/۰۸۸۱ گزارش شد.

خلاصه وضعیت مدل های پیشنهادی در نرم‌افزار برای پاسخ استخراج اسانس به شرح جدول (۴) بوده که با توجه به مدل‌های پیشنهادی نرم‌افزار و تحلیل آنها مدل خطی (Linear) انتخاب شد.

Table 4. Summary of the status of the proposed models in the Design Expert software for the answer of extracting essential oils

	Sequential	Lack of fit	Adjusted	Predicted	
Source	P-value	P-value	R-squared	R-squared	P- value
Linear	0/0106	0/3603	0/4657	0/3374	Suggested
2FI	0/9095	0/2395	0/3404	-0/0946	
Quadratic	0/1058	0/4340	0/5862	-0/4875	
Cubic	0/4340		0/6097		Aliased

خلاصه وضعیت مدل‌های پیشنهادی در نرم‌افزار برای پاسخ
میزان مصرف انرژی به شرح جدول (۵) می‌باشد که با توجه به
مدل‌های پیشنهادی نرم‌افزار و تحلیل آنها مدل خطی (Linear)
انتخاب شد

Table 5. Summary of the status of the proposed models in the Design Expert software to answer the amount of energy consumption

	Sequential	Lack of fit	Adjusted	Predicted	
Source	P-value	P-value	R-squared	R-squared	P- value
Linear	0/0005	0/8454	0/6754	0/5873	Suggested
2FI	0/9680	0/6910	0/5882	0/2572	
Quadratic	0/6970	0/5320	0/5147	0/5307	
Cubic	0/5320		0/4828		Aliased

بیشترین درصد ترکیبات موجود در اسانس استخراج شده با
روش‌های مختلف استخراج را شامل می‌شدند.
همانطور که قبلاً گفته شد، مهمترین ماده موثره اسانس انیسون،
آنتول می‌باشد که با توجه به نتایج، میزان استخراج آنتول در
روش فراصوت- کلونجر ۸۹/۹۲٪ بود که مختصری بیشتر از
روش کلونجر (۸۹/۹٪) بود. از میان عمده ترکیبات موجود در
هر نمونه، روش کلونجر تنها در سه ترکیب میزان بیشتری را
داشت که شامل، لیمونن (۲/۱۵٪)، trans-Dihydro
carvone (۰/۶۱٪) و Carvotanacetone (۴/۳۷٪)
می‌شد. روش نوین استخراج که فراصوت- کلونجر می‌باشد در
استخراج آنتول، استراگول، gamma.-himachalene و
Zingiberene موثر واقع شد، و نسبت به روش کلونجر
برتری داشت. کروماتوگرام مربوط به نمونه فراصوت- کلونجر

نتایج آنالیز کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی (GC-MS)

به منظور بررسی تاثیر روش‌های مختلف استخراج بر ترکیبات
موجود در اسانس استخراج شده از آنالیز کروماتوگرافی گازی-
طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) استفاده شد. بدین منظور نمونه
شاهد (کلونجر) و نمونه‌ای از فراصوت- کلونجر که توسط
نرم‌افزار Design Expert 12 به عنوان نقطه‌ی بهینه مشخص
گردیده بود (زمان ۲۰ دقیقه، توان ۲۰۰ وات و زمان ۴ ثانیه
خاموش - ۲ ثانیه روشن فراصوت)، به وسیله‌ی کروماتوگرافی
گازی- طیف‌سنجی جرمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. جدول ۶
نتایج مربوط به تعیین کمیت و کیفیت ترکیبات موجود در این
اسانس‌ها را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که ترکیبات
لیمونن، استراگول، trans-Dihydro carvone،
gamma.-himachalene، Carvotanacetone
Zingiberen و آنتول (مهمترین ماده موثره در اسانس انیسون)

در نقطه‌ی بهینه در شکل ۱۰ و کروماتوگرام مربوط به نمونه شاهد (کلونجر) در شکل ۱۱ نشان داده شده است.

Table 6. Identified compounds constituting anise essential oil in different essential oil extraction methods by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

Clevenger (%)	(%) Sono- Clevenger	Compound name	Row
2/15	1/94	Limonene	1
1/22	1/32	Estragole	2
89/90	89/92	trans-Anethole	3
4/37	3/72	Carvotanacetone	4
0/61	0/56	trans-Dihydro carvone	5
1/14	1/65	gamma.-himachalene	6
0/28	0/49	Zingiberene	7

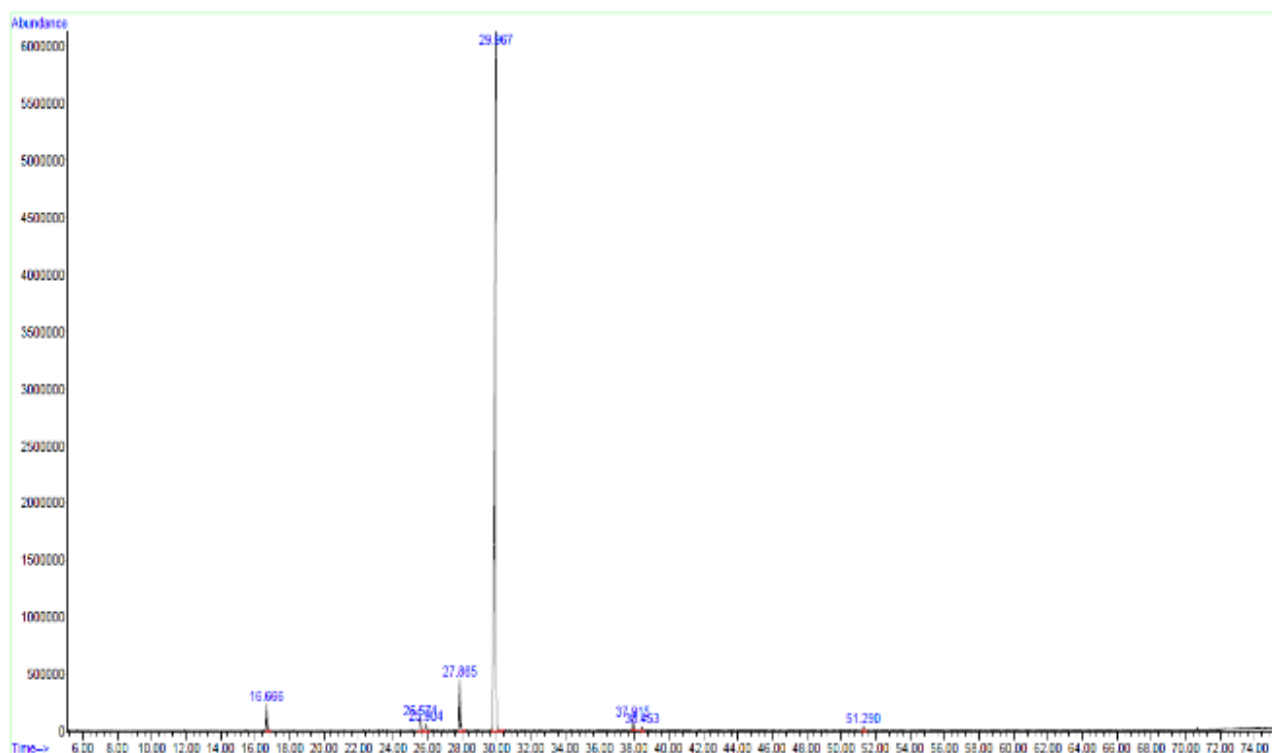


Figure 10. Chromatogram of anise essential oil extracted by the Sono-Clevenger method

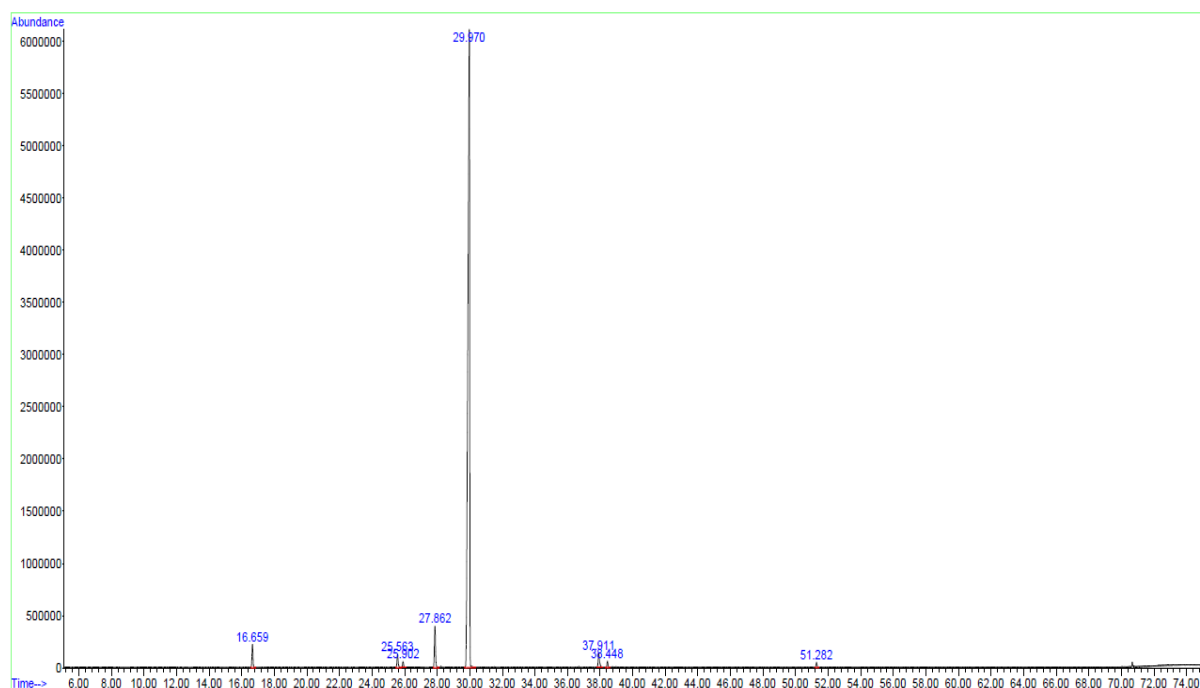


Figure 11. Chromatogram of anise essential oil extracted by the Clevenger method

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با استفاده از روش فراصوت-کلونجر (اعمال همزمان فراصوت و کلونجر) می‌توان در مدت زمان کمتر و قابل توجهی نسبت به روش مرسوم کلونجر فرآیند استخراج اسانس انیسون را تکمیل کرد. همچنین میزان مصرف انرژی در روش فراصوت-کلونجر نسبت به روش کلونجر بسیار پایین‌تر بود. طبق شرایط بهینه برآورد شده توسط نرم‌افزار نقطه‌ی بهینه در زمان ۲۰ دقیقه موجهی، توان ۲۰۰ وات و حالت ۴ ثانیه خاموش-۲ ثانیه روشن دستگاه بود، چون که در این شرایط با حداقل مصرف انرژی و کاهش $\frac{1}{4}$ دقیقه‌ای زمان فرآیند استخراج اسانس انیسون می‌تواند، تکمیل گردد. در روش ۲ ثانیه روشن و ۴ ثانیه خاموش و کلاً در هر روش موجهی گسسته هر چند زمان کل موجهی نسبت به حالت پیوسته کمتر است ولی مقداری از زمان در پیک دامنه و در نتیجه پیک توان و شدت قرار دارد و خود حالت روشن و خاموش شدن پی‌درپی نیز می‌تواند حالتی ضربه مانند در محلول ایجاد کرده بدین صورت که استفاده از توان پایین به تخریب مؤثرتر ساختار ماتریس‌های گیاهی کمک می‌کند و در نتیجه، آزادسازی اسانس به شکل بهتری انجام می‌شود. نتایج

نشان می‌دهد که روش فراصوت-کلونجر روشی آسان‌تر، سریع‌تر و با میزان مصرف کم انرژی می‌باشد، و این روش سبب کاهش قابل توجهی در مصرف انرژی مورد نیاز برای تکمیل فرآیند استخراج اسانس‌گیری می‌گردد. ترکیب اسانس انیسون نیز با روش کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) مشخص گردید. در ترکیبات اسانس استخراج شده انیسون که توسط کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی مورد آنالیز قرار گرفت، ترکیبات استخراج شده در دو روش استخراج اسانس توسط فراصوت-کلونجر و کلونجر مورد مقایسه قرار گرفت، نتایج حاکی از آن بود که، در ترکیب اسانس انیسون عمده‌ترین ترکیب استخراجی آنتول بود. بیشترین درصد آنتول (۸۹/۹۲٪) از مهمترین ترکیب موجود در اسانس انیسون، در نمونه‌هایی بدست آمد که تحت فراصوت-کلونجر قرار گرفته بودند، و نیز فراصوت-کلونجر در استخراج استراگون، gamma.-himachalene و Zingiberene مؤثر واقع شد، و نسبت به روش کلونجر برتری داشت. روش کلونجر تنها در ترکیبات لیمونن (۲/۱۵٪)، Dihydro Carvotanacetone (۴/۳۷٪) و carvone (۰/۶۱٪) بیشترین درصد استخراج را باعث شد.

سپاس‌گزاری

در انجام این تحقیق یاری کردند، صمیمانه تشکر و قدردانی

می‌شود.

بدینوسیله از مسئولین مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه

علوم پزشکی تهران و پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران که ما را

References

- Abbasi, H., Sharifzadeh, S., & Karimi, S. (2022). Comparison of Essential Oil from *Ocimum Basilicum* Obtained via Sequential Ultrasound-Microwave Extraction with Microwave Method. *Iranian Journal of Biosystem Engineering*, 53(1), 25-40. doi: 10.22059/ijbse.2022.324874.665413
- Aboonajmi, M., Ghorbani, M., Javid, M. G., & Arabhosseini, A. (2017). Optimization of ultrasound-assisted extraction of ascorbic acid from fennel (*Foeniculum vulgare*) seeds and evaluation its extracts in free radical scavenging. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, 19(4), 209-218.
- Aguiló-Aguayo, I., Walton, J., Viñas, I., & Tiwari, B. K. (2017). Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from mushroom by-products. *LWT*, 77, 92-99.
- Alasalvar, H., & Yildirim, Z. (2021). Ultrasound-assisted extraction of antioxidant phenolic compounds from *Lavandula angustifolia* flowers using natural deep eutectic solvents: An experimental design approach. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 22, 100492.
- Amin, G. H. (2005). Medicinal plants of Iran. *Journal of Food Process Engineering*, 33, 51-64. (In Persian)
- Ayati, F., Touzourt, S., Aomari, L., & Sehaki, C. (2020). Optimization of the Yield Extraction of Essential Thyme Oil through Response Surface Method (RSM). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(1-s), 154-158.
- Bahmani, L., Aboonajmi, M., Arabhosseini, A., & Mirsaedghazi, H. (2018). Effects of ultrasound pre-treatment on quantity and quality of essential oil of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) leaves. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 8, 47-52.
- Belhachat, D., Mekimene, L., Belhachat, M., Ferradji, A., & Aid, F. (2018). Application of response surface methodology to optimize the extraction of essential oil from ripe berries of *Pistacia lentiscus* using ultrasonic pretreatment. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 9, 132-140.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & 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.
- Djenni, Z., Pingret, D., Mason, T. J., & Chemat, F. (2013). Sono-Soxhlet: In situ ultrasound-assisted extraction of food products. *Food Analytical Methods*, 6(4), 1229-1233. <https://doi.org/10.1007/s12161-012-9531-2>
- Hashemi, S. M. B., Khaneghah, A. M., Koubaa, M., Barba, F. J., Abedi, E., Niakousari, M., & Tavakoli, J. (2018). Extraction of essential oil from *Aloysia citriodora* Palau leaves using continuous and pulsed ultrasound: Kinetics, antioxidant activity and antimicrobial properties. *Process Biochemistry*, 65, 197-204.
- Kamali, F., Sadeghi Mahoonak, A., & Nasirifar, Z. (2015). The Effect of Ultrasound-Assisted Conditions on the Extraction of Phenolic Compounds and Flavonoids from Autumn Olive Fruits (*Elaeagnus umbellata*). *Journal of Food Technology and Nutrition*, 12(2), 23-32.
- Khadhraoui, B., Ummat, V., Tiwari, B. K., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2021). Review of ultrasound combinations with hybrid and innovative techniques for extraction and processing of food and natural products. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76, 105625.
- Kowalski, R., Kowalska, G., Jamroz, J., Nawrocka, A., & Metyk, D. (2015). Effect of the ultrasound-assisted preliminary maceration on the efficiency of the essential oil distillation from selected herbal raw materials. *Ultrasonics Sonochemistry*, 24, 214-220.
- Milani, E., Kadkhodai, R., Golimovahhed, Q., & Hosseini, F. (2012). Response Surface Methodology for Optimization of Ultrasound-assisted Inulin Extraction from Burdock Tuberos. *Journal of Medicinal Plants*, 11(42), 68-76.

- Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., & Chemat, F. (2014). An improved ultrasound Clevenger for extraction of essential oils. *Food Analytical Methods*, 7, 9-12.
- Sahu, J. N., Acharya, J., & Meikap, B. C. (2010). Optimization of production conditions for activated carbons from Tamarind wood by zinc chloride using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 101(6), 1974-1982.
- Shaari, N. A. A. H., & Pa, N. F. C. (2023). Extraction of Antioxidants and Phenolic Contents from Purslane (*Portulaca Oleracea* L.) using Ultrasound Assisted Extraction with Maceration. *Progress in Engineering Application and Technology*, 4(1), 84-91.
- Shaterabadi, D., Aboonajmi, M., Ghorbani Javid, M., & Arabhosseini, A. (2020). Effect of power ultrasound on the extraction of black caraway (*Carum carvi* L.) and evaluation of their qualitative properties using response surface methodology. *Food Science & Nutrition*, 8(8), 4361-4369.
- Sopi, N. Z. M., Hamzah, M. H., Man, H. C., Nor, M. Z. M., & Radzuan, M. N. (2021). Process optimization of ultrasonic-assisted-soxhlet-extraction of essential oil from *Citrus hystrix* using Response Surface Methodology. *Agric. Mech. Asia Afr. Lat. Am.*, 52(3), 4043-4061.
- Tiwari, B. K. (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100-109.
- Wu, J., Zhang, J., Yu, X., Shu, Y., Zhang, S., & Zhang, Y. (2021). Extraction optimization by using response surface methodology and purification of yellow pigment from *Gardenia jasminoides* var. *radicans* Makikno. *Food Science & Nutrition*, 9(2), 822-832.