نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۷ شماره ۱/ سال ۱۳۹۶/ صفحات ۵۹ تا ۷۱

تأثیر امواج فراصوت بر میزان استخراج آسکوربیک اسید از دانه رازیانه و توانایی عصاره آن در بهبود ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی

مرضیه قربانی[۱]، محمد ابونجمی*[۲]، مجید قربانی جاوید[۳] و اکبر عرب حسینی[۲]

تاریخ دریافت:۹٤/۱۰/۲ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۷

[۱] دانشجوی فارغ التحصیل کارشناسی ارشد، گروه فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان-دانشگاه تهران

[۲] دانشیار گروه فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان-دانشگاه تهران

[۳] استادیار گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان-دانشگاه تهران

*مسئول مکاتبه: Email: abonajmi@ut.ac.ir

چکیده

گیاه دارویی رازیانه دارای مواد و متابولیت‌های ثانویه با ارزشی است که برخی از آنها از جمله آسکوربیک اسید (ویتامین C) قادر به خنثی کردن رادیکال‌های آزاد برآمده از اکسیداسیون می‌باشند. در روش‌های متداول عصاره‌گیری از جمله سوکسله نیاز به صرف زمان طولانی، مصرف بالای انرژی است و احتمال آسیب به ترکیبات حساس به حرارت از جمله آسکوربیک اسید وجود دارد. بدین منظور در این پژوهش روش مدرن فراصوت با روش متداول سوکسله به عنوان شاهد در میزان استخراج آسکوربیک اسید از دانه رازیانه و قدرت مهار هیدروژن پراکسید توسط آن مورد مقایسه قرار گرفتند. در روش سوکسله از دمای ۸۵ °C و زمان ۲٤۰ دقیقه و در روش فراصوت از دو سطح دما (٤۰ و ٦۰ °C)، سه سطح زمان (۱۵، ۳۰ و ٤۵ دقیقه) و سه سطح توان (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ وات) استفاده گردید. نتایج برآمده از این پژوهش شرایط بهینه استخراج برای هر دو صفت محتوای آسکوربیک اسید و درصد مهار هیدروژن پراکسید توسط عصاره در روش فراصوت را دمای ٦۰ °C ، توان ۳۰۰ وات و زمان ۱۵ دقیقه نشان دادند. تحت این شرایط محتوای آسکوربیک اسید ۱/۷۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و درصد مهار هیدروژن پراکسید ۷٤/۱۳ درصد در عصاره دانه رازیانه حاصل گردید که در مقایسه با روش سوکسله بعنوان شاهد، بطور معنی‌داری باعث افزایش استخراج آسکوربیک اسید و درصد مهار هیدروژن پراکسید گردید. بدین ترتیب با کاهش دما و زمان فرآیند، برتری روش فراصوت به اثبات رسید.

واژگان کلیدی: فراصوت، آسکوربیک اسید، استخراج، رازیانه، سوکسله، مهار هیدروژن پراکسید

مقدمه

رازیانه (*Foeniculum vulgare*) گیاهی چند ساله، معطر، علفی، پایا و از خانواده چتریان است که منشأ آن نواحی مدیترانه و جنوب اروپا گزارش شده است. به دلیل کاربردهای متعدد آن در صنایع غذایی، داروسازی و آرایشی-بهداشتی هم‌اکنون در بسیاری از نقاط جهان زمین‌های زراعی وسیعی زیر کشت رازیانه قرار دارند (کلیزیک و همکاران ۲۰۰٤). پراکنش طبیعی رازیانه در

ایران، مناطق شمالی و غربی کشور را در بر می‌گیرد (وزارت کشاورزی ۱۳۸۹). بررسی عصاره‌های تهیه شده از اندام‌های مختلف گیاه رازیانه، به ویژه دانه‌های آن، حاکی از اثرات ضداکسایشی بالای این گیاه می‌باشد (گیلین و منزینس ۱۹۹٦). ویژگی احیاکنندگی عصاره دانه رازیانه مربوط به حضور قندهای احیاکننده، ترکیب‌های فلاونوئیدی، گلیکوزید فلاونول‌ها و به ویژه حضور فنیل پروپانوئیدها (ترانس-آنتول و استراگول) و هیدروکربن-های ترپنی اکسیژنه (فنچون) می‌باشد (پاکونی و همکاران ۲۰۰۱). هم‌چنین حضور ویتامین E و آسکوربیک اسید در عصاره دانه رازیانه نیز به اثبات رسیده است (برس و همکاران ۲۰۰۹). در پژوهش‌های مختلف ویژگی‌های درمانی متعددی برای رازیانه ذکر شده است که از آن میان می‌توان به تعدیل دردهای التهابی، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌دیابتیک اشاره نمود (چوی و هانگ ۲۰۰٤). عصاره اتانولی میوه رازیانه دارای ویژگی ادرارآوری نیرومند است و با خارج کردن ادرار و دفع سدیم از بدن باعث کاهش حجم خون شده و به گردش خون از راه سیستم قلبی عروقی کمک می‌کند (کیسیرس و همکاران ۱۹۸۷).

امروزه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مانند توکوفرول‌ها و مشتقات آسکوربیک اسید تحت عنوان افزودنی‌های طبیعی ایمن به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند. آسکوربیک اسید از جمله آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی و مهم در گیاهان است که برای جلوگیری از بیماری‌ها و تولید کلاژن، التیام زخم‌ها، ایمنی سلامت بدن و سیستم عصبی بسیار ضروری می‌باشد (اسکیرین و همکاران ۲۰۰۱). فاکتورهای محیطی مانند دما، pH، اکسیژن، یون‌های فلزی، اشعه X و پرتو UV اثر سوء بر ثبات این ویتامین دارند (آدوکنت و همکاران ۲۰۱۰). بکارگیری آسکوربیک اسید در صنایع غذایی اساساً به خاطر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آن است و هیچ محدودیتی نیز در بکارگیری آن به دلیل آن که یک جزء طبیعی غذایی می‌باشد، وجود ندارد. آسکوربیک اسید از نیرومندترین عوامل احیا کننده محلول در آب در سیستم‌های زیستی است که بیشتر در پلاسما یافت می-شود و خیلی سریع گونه‌های فعال اکسیژن (به ویژه رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل محلول در آب و رادیکال پروکسیل) را به فرم‌های کم واکنش‌تر تبدیل می‌کند و پراکسیداسیون چربی‌های پلاسما را که در حضور نوتروفیل‌های فعال شده و دود سیگار تسریع می‌شود، مهار می‌کند (بریتس و بیکر ۲۰۰۰).

هیدروژن پراکسید (H_2O_2) یکی از نیرومندترین اکسیدان‌های شناخته شده است که به وسیله واکنش‌های آنزیماتیک تشکیل می‌شود. احیاء اکسیژن مولکولی (O_2) به آب (H_2O) توسط زنجیره انتقال الکترون میتوکندری طی فرآیند تنفس سلولی، باعث تولید محصولات جانبی بسیار فعالی از قبیل رادیکال سوپراکسید (O_2)، هیدروژن پراکسید (H_2O_2) و نیز رادیکال هیدروکسیل (OH) می شود (هیراگیچی ۲۰۰۱). در سلول‌های گیاهان و حیوانات سوپراکسید دسموتاز قادر است H_2O_2 را از دسموتاسیون O_2^- تولید کند، که به پایین آوردن واکنش-های اکسیداسیون کمک می‌کند. در موجودات زنده آنتی-اکسیدان‌های موجود در رژیم غذایی (آلفا-توکوفرول، بتا-کاروتن و آسکوربیک اسید) و آنزیم‌های آندوژن (سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز) علیه صدمات اکسیداتیو اثر محافظ دارند (همیلتون ۱۹۹۵).

روش‌های متداول عصاره‌گیری بر پایه قرارگرفتن گیاه در حلال مناسب می‌باشد که برای افزایش سرعت فرآیند از هم زدن یا حرارت دادن استفاده می‌شود. روش سوکسله یک روش استانداردی است که به عنوان مرجع اصلی ارزیابی دیگر روش‌ها به کار می‌رود. این روش، عمومی بوده که به طور عمده برای استخراج ترکیبات با فراریت کم یا متوسط که درمقابل حرارت پایدار باشند بکار می‌رود (لوک دکسترو و گارسیا ایزو ۱۹۹۸). بکارگیری فراصوت در عصاره‌گیری یکی از روش‌های نوین استخراج می‌باشد که امواج با فرکانس در محدوده

۲۰ کیلوهرتز به داخل ماده نفوذ کرده، موجب ایجاد انبساط و انقباض‌های متوالی در مولکول‌های داخل محیط شده که در نتیجه آن حفراتی ایجاد می‌شوند. این حفرات به صورت نامتقارن به هم پیوسته موجب خروج سریع مواد از داخل سلول‌ها به خارج از آن می‌شوند (لوک گارسیا و لوک دکسترو ۲۰۰۳). سازوکار اصلی استخراج با امواج فراصوت به پدیده حفره‌زایی[1] مربوط می‌شود که طی آن حباب‌های بسیار ریزی در توده مایع تشکیل شده و به سرعت تا یک اندازه بحرانی رشد می‌کنند و سپس منفجر می‌گردند. انفجار این حباب‌ها بیشتر با آزاد شدن مقدار بسیاری انرژی همراه است که به شکل تنش برشی به محیط اطراف اعمال می‌شود (جی و همکاران ۲۰۰۶). از طرفی پرتودهی با فراصوت در حلال‌های آبی منجر به تشکیل و تخریب حباب‌های گازی (حفره‌زایی) و در نتیجه باعث تولید فشار و دمای بالا (بصورت زودگذر) و در نهایت منجر به تشکیل رادیکال‌های آزاد OH و OOH در آب می‌شود. این رادیکال‌ها در آب نفوذ کرده و باعث اکسیداسیون ترکیبات آلی می‌شود و هیدروژن پراکسید از رادیکال‌های آزاد OH و OOH تشکیل می‌شود (ناصری و همکاران ۲۰۰۶). بطور کلی سازوکار واکنش سامانه فراصوت به شرح زیر می‌باشد (US مخفف Ultrasound می‌باشد):

$$H_2O+US\rightarrow H^\circ+OH^\circ \ , \ OH^\circ+H_2O\rightarrow H_2O+HO_2^\circ$$
$$H^\circ+O_2 \rightarrow HO_2^\circ \ , \ HO_2^\circ+HO_2^\circ \rightarrow H_2O_2+O_2$$

مطابق نتایج محققین، فراصوت کمترین تأثیر را روی کیفیت آبمیوه‌ها مانند آب گواوا[2] (چنگ و همکاران ۲۰۰۷)، آب پرتقال (تیواری و همکاران ۲۰۰۸ الف) آب‌شاه (تیواری و همکاران ۲۰۰۹) و آب توت‌فرنگی (تیواری و همکاران ۲۰۰۸ ب) دارد. مطالعات قبلی نشان داده است که تلفیق فراصوت با حرارت در غیرفعال کردن پراکسیداز شاهی آبی (کروز و همکاران ۲۰۰۶)، افزایش رنگ آن (کروز و همکاران ۲۰۰۷) و همچنین بهبود کیفیت آب گوجه (وو و همکاران ۲۰۰۸) مؤثر است.

با توجه به اینکه در عصاره‌گیری به روش فراصوت امکان کنترل شاخص‌هایی از جمله دما و زمان وجود دارد و تا به حال مطالعه‌ای در مورد تأثیر امواج فراصوت بر میزان استخراج آسکوربیک اسید از دانه رازیانه و توانایی عصاره آن در مهار رادیکال هیدروژن پراکسید صورت نگرفته است، لذا هدف این مقاله ارزیابی تأثیر تیمار فراصوت با دما، زمان و توان متفاوت در مقایسه با روش متداول سوکسله می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای بررسی اثرات عصاره‌گیری با بکارگیری فراصوت بر میزان آسکوربیک اسید و درصد مهار هیدروژن پراکسید عصاره دانه رازیانه، آزمایشاتی در گروه فنی کشاورزی پردیس ابوریحان-دانشگاه تهران در سال ۱۳۹۳ انجام گردید. دانه گیاه دارویی رازیانه که در سال ۱۳۹۲ از مزرعه پژوهشی گروه زراعت پردیس ابوریحان دانشگاه تهران واقع در شهرستان پاکدشت، جنوب شرقی استان تهران برداشت شده بود، مورد استفاده قرار گرفت.

این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. جهت تهیه عصاره دانه رازیانه، از دو روش سوکسله و فراصوت استفاده گردید. حلال مورد استفاده در هر دو روش اتانول ۷۰ درجه بود که از روش اختلاط الکل ۹۷ درجه و آب مقطر با نسبت ۷۳:۲۷ میلی‌لیتر (حجمی-حجمی) تهیه گردید (نصیری و همکاران ۱۳۹۲؛ کمالی و همکاران ۱۳۹٤؛ خالدسعید و همکاران ۲۰۰۹). برای تمام تیمارهای این آزمایش نسبت پودر دانه رازیانه به حلال اتانول ۷۰ درجه به صورت ۱:۱۰ (وزنی-حجمی) درنظر گرفته شد (یانگ و همکاران ۲۰۱۱).

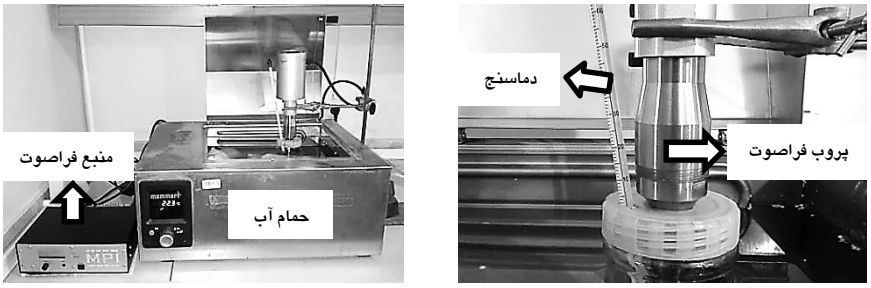
سطوح تیماری روش فراصوت شامل دو سطح دما (٤٠ و ٦٠ °C)، سه سطح زمان (۱۵، ۳۰ و ٤٥ دقیقه) و سه

[1] Cavitation
[2] Guava

سطح توان (۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ وات) و در مجموع ۱۸ تیمار بودند که در مقایسه با روش سوکسله با دمای °C ۸۵ (نقطه جوش حلال) و مدت زمان ۲۴۰ دقیقه به عنوان شاهد و در سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند.

استخراج عصاره به روش فراصوت

مقدار ۱۰ گرم دانه رازیانه با بکارگیری ترازو با دقت ۰/۰۰۱ توزین و توسط آسیاب برقی تیغه‌ای به پودر تبدیل شد و از الک با مش ۱۶ عبور داده شد و سپس با ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درجه مخلوط گردید. برای ایجاد امواج فراصوت از یک دستگاه مولد امواج فراصوت (M.P.I AMMM, Switzerland) با توان تولیدی ۱۰۰۰ وات و بسامد ثابت ۲۰±۰/۵ کیلوهرتز و پروب استوانه‌ای شکل از جنس تیتانیوم به قطر ۲۰ میلی‌متر استفاده گردید. دما در طی فرآیند عصاره‌گیری با بکارگیری حمام آب (Memmert WNB 14, Germany) ثابت نگه داشته شد و برای کنترل دما از دماسنج استفاده گردید (شکل ۱).



شکل ۱- دستگاه فراصوت مورد استفاده در حمام آب

عصاره استخراج شده با ۷۸۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ[1] (SiGmA 2-16P, Germany) و سپس قسمت شفاف بالای مخلوط جدا گردید و توسط تبخیر کننده چرخشی تحت خلأ[2] (Beals Hei-VAP Value, Germany) در دمای °C ۴۰ (جلوگیری از آسیب ترکیبات فنولیک) و ۲۰۰ دور بر دقیقه تغلیظ شد. برای حذف باقیمانده حلال، عصاره تغلیظ شده بر روی پلیت[3] پخش گردید و در داخل آون با دمای °C ۴۰ قرار داده شد تا زمانی که عصاره به طور کامل خشک گردید. سپس درب پلیت را گذاشته، دور آن را با پارافیلم[4] بسته و برای جلوگیری از نفوذ نور به طور کامل با فویل آلومینیومی پوشانده شد و در فریزر °C ۱۸- تا زمان انجام آزمون نگه‌داری گردید (پدرام‌نیا و همکاران ۱۳۸۹؛ بهمن‌آبادی و همکاران ۱۳۹۰؛ بیمکر و همکاران ۲۰۱۲).

استخراج عصاره به روش سوکسله

مقدار ۳۰ گرم بذر رازیانه به وسیله ترازو با دقت ۰/۰۰۱ توزین و توسط آسیاب برقی تیغه‌ای آسیاب گردید و از الک با مش ۱۶ عبور داده شد. پودر رازیانه داخل کاغذهای صافی ریخته و در بخش استخراج کننده سوکسله قرار داده شدند و ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۷۰ درجه به آن‌ها اضافه گردید. استخراج تا زمان بی‌رنگ شدن حلال ادامه یافت و مدت زمان استخراج ۴ ساعت (۲۴۰ دقیقه) پس از مشاهده نخستین قطره میعان محاسبه گردید. عصاره به دست آمده به داخل بالن تبخیر کننده چرخشی تحت خلأ منتقل و دیگر مراحل مشابه روش فراصوت انجام گردید.

[1] Centrifuge
[2] Rotary
[3] Plate
[4] Para film

اندازه‌گیری مواد جامد محلول در عصاره

مقدار مواد جامد محلول با بکارگیری دستگاه رفراکتومتر دستی (ATAGO R500, Japan) اندازه‌گیری و ضریب شکست بر حسب درجه بریکس قرائت گردید.

اندازه‌گیری میزان آسکوربیک اسید

میزان آسکوربیک اسید عصاره با بکارگیری روش کلاین و پری (۱۹۸۲) با کمی تغییرات اندازه‌گیری گردید. بدین منظور مقدار ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱۰ میلی-لیتر محلول متافسفریک یک درصد مخلوط و اجازه داده شد به مدت ٤٥ دقیقه در محیط تاریک و در دمای اتاق باقی بماند. یک میلی‌لیتر از محلول حاصل با نه میلی‌لیتر محلول (۰/۰۲۵ درصد از ۲،٦- دی‌کلروایندوفنول و ۰/۰۲۱ درصد سدیم بی‌کربنات در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) مخلوط و اجازه داده شد به مدت ۱۵ دقیقه در محیط تاریک و در دمای اتاق باقی بماند. مقدار جذب محلول پس از ۱۵ دقیقه در ٥۱۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (CECIL 2502, UK) در برابر شاهدی که همگی مراحل استخراج را گذراند ولی به جای عصاره از یک میلی‌لیتر متافسفریک اسید در تهیه آن استفاده شد، قرائت گردید. همگی مراحل استخراج توسط غلظت-های مختلف محلول آسکوربیک اسید به جای عصاره تکرار و منحنی استاندارد رسم گردید. با بکارگیری منحنی استاندارد مقدار آسکوربیک اسید موجود در عصاره اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌گرم آسکوربیک اسید در یک میلی‌لیتر نمونه عصاره گزارش گردید.

اندازه‌گیری مهار هیدروژن پراکسید

درصد مهار هیدروژن پراکسید عصاره با بکارگیری روش راچ و همکاران (۱۹۸۹) با کمی تغییرات اندازه‌گیری گردید. مقدار ۰/۲۵ میلی‌لیتر از عصاره با ۰/٦ میلی‌لیتر محلول هیدروژن پراکسید دو میلی‌مول بر لیتر مخلوط گردید. این عمل با به حجم رساندن محلول هیدروژن پراکسید با بکارگیری بافر فسفات نیم مولار شامل سدیم کلرید ۰/۸ درصد، منو پتاسیم فسفات ۰/۰۲ درصد و دی سدیم فسفات ۰/۹٦ درصد در آب مقطر و رساندن pH بافر فسفات به ۷/٤ با بکارگیری اسید کلریدریک انجام شد. مقدار جذب محلول پس از قرار گرفتن نمونه‌ها در محیط تاریک به مدت ۱۰ دقیقه، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در ۲۳۰ نانومتر در برابر شاهدی که همگی مراحل استخراج را گذراند ولی به جای عصاره از آب مقطر در تهیه آن استفاده شد، قرائت گردید و محلول بافر فسفات به عنوان استاندارد در نظر گرفته شد. درصد مهار هیدروژن پراکسید مطابق معادله زیر محاسبه گردید که در آن A_0 و A_1 به ترتیب جذب نمونه شاهد و جذب نمونه عصاره می‌باشند.

$$\% \text{ Scavenged } H_2O_2 = [(A_0 - A_1) / A_0] * 100$$

روش آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با بکارگیری آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون مقایسه میانگین چند دامنه‌ای دانکن[1] با نرم‌افزار SAS-9 در سطح احتمال ۹۵ درصد انجام شد. نمودارها به کمک نرم‌افزار اکسل[2] (۲۰۱۰) رسم گردید.

نتایج و بحث

نتایج برآمده از تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمارهای مورد بررسی در جدول ۱ نمایش داده شده است.

تأثیر امواج فراصوت بر مواد جامد محلول عصاره

بر طبق نتایج میان هیچ کدام از سطوح مختلف تیمارهای فراصوت و سوکسله اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱). در مطالعه‌ای بر روی تأثیر امواج فراصوت در میزان آسکوربیک اسید آب گوجه فرنگی نیز نتایج مشابهی گزارش گردید (آدوکنت و همکاران ۲۰۱۰). هم-چنین در بررسی اثرات فراصوت در استخراج آسکوربیک اسید آبمیوه گواوا میان مواد جامد محلول

[1] Duncan
[2] Excel

نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (چنگ و همکاران ۲۰۰۷).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات کمی رازیانه تحت سطوح تیماری فراصوت در مقایسه با سوکسله

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		مواد جامد محلول	آسکوربیک اسید	مهار هیدروژن پراکسید
دما	۱	۰/۱۷ns	۵/۴۷**	۲۷۳/۵۵**
توان	۲	۰/۰۰ns	۰/۰۸**	۳۹۲/۵۱**
زمان	۲	۰/۰۱ns	۰/۲۲**	۳/۷۱ns
دما×توان	۲	۰/۱۲ns	۱/۳۷**	۱۹/۹۰ns
دما×زمان	۲	۰/۳۲ns	۰/۰۰ns	۱۰/۰۲ns
توان×زمان	۴	۰/۱۳ns	۰/۴۹**	۱۴۰/۹۱**
دما×توان×زمان	۴	۰/۱۹ns	۰/۶۰**	۲۸/۹۲*
خطا	۳۹	۰/۲۱	۰/۰۰	۱۱/۱۷
کل	۵۶	-	-	-
ضریب تغییرات	-	۲/۱۲	۱۹/۹۲	۵/۱۹

ns، *، ** به ترتیب بیانگر عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح ۵ ٪ و معنی‌داری در سطح ۱٪

تأثیر امواج فراصوت بر آسکوربیک اسید عصاره

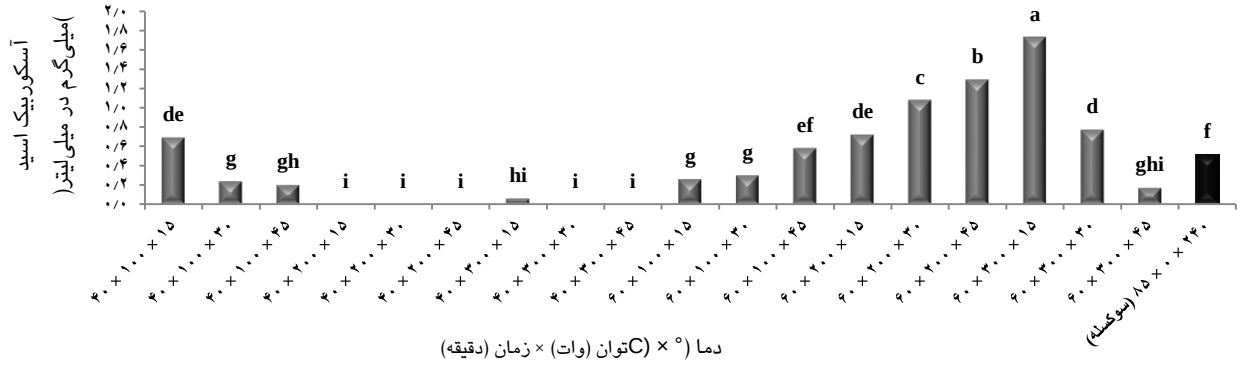
بر طبق نتایج سطوح مختلف تیمار دما، توان و زمان و اثرات متقابل دوتایی و سه‌تایی آن‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد داشتند و تنها در اثرات متقابل دما در زمان اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱).

در بررسی اثرات متقابل سه‌تایی در دمای $^{\circ}C$ ۴۰، با افزایش زمان در توان ۱۰۰ وات میزان آسکوربیک اسید کاهش یافت و در توان ۲۰۰ و ۳۰۰ وات به مقدار صفر رسید و تخریب گردید (شکل ۲). تخریب آسکوربیک اسید در روش فراصوت می‌تواند به واکنش‌های اکسیداسیون و برهم‌کنش با رادیکال‌های آزاد تشکیل شده در طول فراصوت مربوط شود (هارت و هنگلین ۱۹۸۵). عمدتاً به علت واکنش‌های شیمیایی و شرایط فیزیکی که در جریان فراصوت رخ می‌دهد، تشکیل یون‌های هیدروژن (H^+)، رادیکال‌های آزاد (O^-, OH^-, HO_2^-) و هیدروژن پراکسید از مولکول‌های آب موجود در نمونه در طول فراصوت مشخص شده است (پتریر و همکاران ۲۰۰۷). هم‌چنین رادیکال‌های هیدروکسیل تولید شده توسط حفره‌زایی می‌توانند در تخریب آسکوربیک اسید مؤثر باشند.

در بررسی اثرات متقابل سه‌تایی در دمای $^{\circ}C$ ۶۰، در دو توان ۱۰۰ و ۲۰۰ وات با افزایش زمان میزان آسکوربیک اسید روند افزایشی و در توان ۳۰۰ وات روند کاهشی داشت (شکل ۲). با افزایش توان، انرژی بسیاری ایجاد می‌گردد که خروج ترکیبات از بافت گیاهی به حلال را از راه تخلخل و منافذ در دیواره سلولی و بهبود انتشار و انتقال جرم، تسهیل می‌کند. بنابراین می‌تواند موجب افزایش میزان آسکوربیک اسید گردد. ولی افزایش بیش از اندازه توان در کنار فاکتورهای دیگر مانند دما و زمان طولانی موجب کاهش میزان آسکوربیک اسید در توان ۳۰۰ وات گردیده است. دلیل کاهش میزان استخراج در توان ۳۰۰ وات و به ویژه کاهش آن با افزایش زمان در دمای $^{\circ}C$ ۶۰ را می‌توان به دو پدیده نسبت داد. از یک طرف با افزایش توان تعداد حباب‌های حفره‌زایی در محلول افزایش یافته است. از طرف دیگر با افزایش دما، میزان فشار بخار حلال نیز بالا رفته است که سبب افزایش تعداد حباب‌ها در محلول شده است. این دو عامل

در کنار یکدیگر باعث می‌شوند که تعداد حباب‌ها در محلول و به ویژه با گذشت زمان افزایش یابند ولی شدت برخورد حباب‌ها و فعالیتشان به دلیل کاهش اختلاف فشار در داخل و خارج حباب، کمتر شده و در نتیجه میزان استخراج کاهش یابد (زانگ و همکاران ۲۰۰۸). همچنین در توان بالا دیواره سلولی پاره می‌شود و ناخالصی‌هایی مانند مواد نامحلول به حالت معلق در عصاره به وجود می‌آیند که کاهش نفوذپذیری حلال به ساختارهای سلولی را موجب می‌شوند (تیان و همکاران ۲۰۱۳). علاوه بر این، اجزای موردنظر دوباره جذب ذرات بافت پاره شده می‌شوند و با ایجاد مناطق سطح خاص نسبتاً بزرگ، عملکرد استخراج را کاهش می‌دهند (دانگ و همکاران ۲۰۱۰). دلیل دیگر را می‌توان تخریب آسکوربیک اسید توسط شدت بالای امواج تولیدی بیان نمود که در زمان ٤٥ دقیقه میزان این تخریب افزایش یافته است. به هر حال، فرآیندهای طولانی فراصوت در سطوح توان بالا ممکن است تجزیه شیمیایی آسکوربیک اسید را القا کند. تجزیه آسکوربیک اسید در طول فراصوت عمدتاً نتیجه شرایط فیزیکی شدید حاکم مابین حباب‌ها در طول انهدام حفره در مقیاس ریز و واکنش-های سونوشیمیایی متعددی که به‌طور همزمان یا جداگانه اتفاق می‌افتند، می‌باشد (تیواری و همکاران ۲۰۰۸ ب؛ تیواری و همکاران ۲۰۰۹). گزارش شده که یون‌های هیدروژن (H^+)، رادیکال‌های آزاد و هیدروژن پراکسید که در طول تجزیه صوتی مولکول‌های آب تشکیل می‌شوند در نمونه‌های آبمیوه فراصوت شده ردیابی شده‌اند. همچنین تجزیه آسکوربیک اسید در دامنه‌های بالا و ماکزیمم زمان نگهداری در طول فراصوت می‌تواند مربوط به واکنش‌های اکسیداسیون باشد، که به وسیله برهمکنش رادیکال‌های آزاد تشکیل شده در طول فراصوت تسریع می‌شود. رادیکال‌های هیدروکسیل تولید شده به وسیله حفره‌زایی ممکن است در تجزیه آسکوربیک اسید نقش داشته باشند (آدکونت و همکاران ۲۰۱۰).

نتایج مشابهی به وسیله آدکونت و همکاران (۲۰۱۰) گزارش شده است. آن‌ها نشان دادند که مقادیر آسکوربیک اسید به وسیله سطوح دامنه و زمان ($p<۰/۰۰۰۱$) تحت تأثیر قرار می‌گیرد. همچنین راسن و همکاران (۲۰۱۱) در بررسی آب هندوانه کاهش معنی-داری در آسکوربیک اسید نمونه‌ها را در سطوح بالای دامنه و زمان‌های طولانی فراصوت گزارش کردند.



شکل ۲- اثرات متقابل سطوح دما، توان و زمان فراصوت بر میزان آسکوربیک اسید در مقایسه با سوکسله
(میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک دارای عدم اختلاف معنی¬دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن)

در روش فراصوت با افزایش دما از ٤٠ تا ٦٠ °C به دلیل بهبود انتقال جرم، افزایش حلالیت و احتمالاً خروج ترکیبات آنتی‌اکسیدان بیشتر از گیاه، میزان آسکوربیک اسید موجود در عصاره افزایش یافته است که این

افزایش در دمای ۶۰ °C بر مقدار آسکوربیک اسید تخریب شده در طی فرآیند فراصوت در همین دما غالب بوده است و باعث افزایش میزان این ویتامین در عصاره نسبت به دمای ۴۰ °C گردیده است.

افزایش دما باعث افزایش ضریب نفوذ، کاهش ویسکوزیته حلال و در نتیجه تسهیل عبور آن از میان بستر جامد ماده می‌شود و میزان استخراج افزایش می‌یابد (زانگ و همکاران ۲۰۰۸). به علاوه در زمان فروپاشی حباب‌های حفره‌زایی، یک جریان سریع از امواج فراصوت تولید می‌شود که به عنوان یک میکروپمپ عمل کرده و می‌تواند به اجبار حلال را به درون سلول رانده و ترکیبات مورد نظر را حل کند (آلبو و همکاران ۲۰۰۴).

نتایج برآمده از تجزیه و تحلیل آماری حاکی از آن بود که بیشترین میزان آسکوربیک اسید در دمای ۶۰ °C، توان ۳۰۰ وات و زمان ۱۵ دقیقه، معادل ۱/۷۳ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره دانه رازیانه اندازه‌گیری گردید که دارای اختلاف معنی‌داری با روش سوکسله بود و ۶۹/۹۴ درصد آسکوربیک اسید بیشتری در مقایسه با روش سوکسله با زمان ۲۴۰ دقیقه و دمای ۸۵ °C در عصاره حاصل گردید. مطالعات متعدد نیز نشان داده‌اند که فن‌آوری‌های فرآیند غیر حرارتی از جمله فشار بالا، پالس میدان‌های الکتریکی و فراصوت سطح بالاتری از آسکوربیک اسید را نسبت به فرآیندهای حرارتی حفظ کرده است (ترگرسه و همکاران ۲۰۰۶؛ چنگ و همکاران ۲۰۰۷؛ تیواری و همکاران ۲۰۰۹). مقایسه مقادیر آسکوربیک اسید نمونه‌های تیمار حرارتی با نمونه‌های فراصوت شده در آب هویج نشان داد که فراصوت باعث افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) مقادیر آسکوربیک اسید نسبت به نمونه‌های تیمار حرارتی (۹۰ °C-۸۸ °C) شد (ایاسه و همکاران ۱۳۹۴). کروز و همکاران مقادیر آسکوربیک اسید شاهی آبی را بعد از تیمار حرارتی و فراصوت مقایسه کردند نتایج نشان داد بقای آسکوربیک اسید بعد از فراصوت نسبت به تیمار حرارتی در مقادیر بالایی بود (کروز و همکاران ۲۰۰۷).

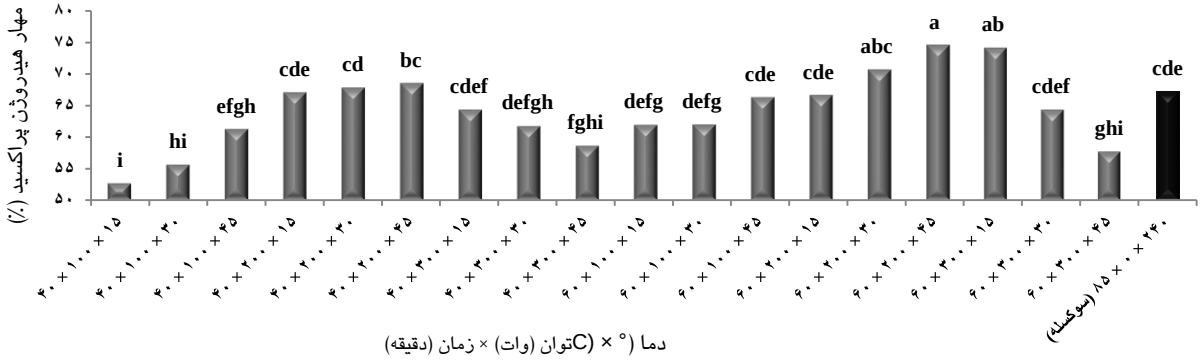
تأثیر امواج فراصوت بر توانایی مهار هیدروژن پراکسید توسط عصاره رازیانه

بر طبق نتایج سطوح مختلف تیمار دما، توان و اثرات متقابل دوتایی توان در زمان اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد و اثرات متقابل سه‌تایی آن‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد داشتند (جدول ۱).

در بررسی اثرات متقابل سه‌تایی در روش فراصوت با افزایش دما از ۴۰ تا ۶۰ °C، درصد مهار هیدروژن پراکسید افزایش یافت و در هر دو دما روند مشابهی مشاهده گردید. در یک زمان ثابت، با افزایش توان درصد مهار هیدروژن پراکسید نخست افزایش و سپس کاهش یافت. در دو توان ۱۰۰و ۲۰۰ وات با افزایش زمان، درصد مهار روند افزایشی و در توان ۳۰۰ وات روند کاهشی داشت (شکل ۳). روند مشابهی میان استخراج آسکوربیک اسید و مهار هیدروژن پراکسید در دمای ۶۰ °C مشاهده گردید (شکل ۲ و ۳). دلیل آن را می‌توان این‌گونه بیان کرد که آسکوربیک اسید یکی از نیرومندترین آنتی‌اکسیدان‌هاست که در طیف وسیعی از واکنش‌های آنزیمی و غیر آنزیمی به عنوان پالاینده اصلی گونه‌های اکسیژن واکنش‌دهنده عمل می‌کند. آسکوربیک اسید به طور مستقیم به سوپر اکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل و اکسیژن منفرد متصل و آن‌ها را پالایش می‌کند و هیدروژن پراکسید را از راه آنزیم آسکوربات پراکسیداز به آب احیاء می‌کند (ناکتر و فویر ۱۹۹۸). بنابراین پیش‌بینی می‌شود هر چقدر میزان آسکوربیک اسید موجود در عصاره بیشتر باشد، درصد مهار هیدروژن پراکسید نیز افزایش یابد. در مطالعه‌ای بر روی گیاه نخود مشخص شد که در حضور آسکوربات، فعالیت چرخه گلوتاتیون آسکوربات و در نتیجه جمع‌آوری کننده‌های H_2O_2 افزایش یافت (دیکسیت و همکاران ۲۰۰۱). در بررسی دیگر بر تأثیر آسکوربیک اسید در کاهش تنش اکسیداتیو برآمده از تنش شوری در سیب زمینی

دریافتند، کاربرد آسکوربیک اسید موجب کاهش مقدار H_2O_2 در گیاهان سیب زمینی تحت تنش شوری گردید (دانشمند ۱۳۹۳).

با مقایسه نمودار ۲ و ۳ مشاهده می‌گردد، با وجود اینکه در دمای ۴۰ °C بسیاری از تیمارهای فراصوت تخریب گردیده است ولی مهار هیدروژن پراکسید انجام گردیده است. دلیل آن را می‌توان وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی دیگر مانند ویتامین E، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در گیاه رازیانه بیان نمود که باعث افزایش ویژگی آنتی-اکسیدانی عصاره و مهار هیدروژن پراکسید شده‌اند (سینگ و همکاران ۲۰۰۶؛ برس و همکاران ۲۰۰۹).



شکل ۳- اثرات متقابل سطوح دما، توان و زمان فراصوت بر درصد مهار هیدروژن پراکسید در مقایسه با سوکسله
(میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک دارای عدم اختلاف معنی¬دار در سطح ۵٪ با آزمون دانکن)

نتایج برآمده از تجزیه و تحلیل آماری حاکی از آن بود که در روش فراصوت بیشترین درصد مهار هیدروژن پراکسید، معادل ۷٤/۵۸ درصد در دمای ۶۰ °C، توان ۲۰۰ وات و زمان ٤۵ دقیقه مشاهده گردید، ولی با توجه به اینکه تیمار فراصوت با توان ۳۰۰ وات، زمان ۱۵ دقیقه و دمای ۶۰ °C با ۷٤/۱۳ درصد مهار هیدروژن پراکسید تنها ۰/٤۵ درصد مهار کمتری در مقایسه با تیمار فراصوت با حداکثر درصد مهار هیدروژن پراکسید را داشته است به دلیل زمان کوتاه‌تر و عدم اختلاف معنی-دار، این تیمار به عنوان بهترین تیمار فراصوت معرفی شد که اختلاف معنی‌داری با روش سوکسله داشت و باعث افزایش ۶/۹۳ درصدی مهار هیدروژن پراکسید و کاهش ۱۶ برابری زمان و ۱/٤ برابری دمای استخراج در مقایسه با روش سوکسله با مدت زمان ۲٤۰ دقیقه و دمای ۸۵ °C گردید.

در این پژوهش با وجود اینکه در شرایط بهینه میزان آسکوربیک اسید عصاره ۶۹/۹٤ درصد افزایش را نسبت به روش سوکسله به دنبال داشت و مهار هیدروژن پراکسید مربوط به این تیمار نیز به عنوان بیشترین درصد مهار معرفی گردید ولی تنها باعث افزایش ۶/۹۳ درصدی مهار گردید. دلیل این پدیده را می‌توان به وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی دیگر مانند ویتامین E، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در گیاه رازیانه و تفاوت در پایداری و ساختار شیمیایی این ترکیبات نسبت به درجه حرارت، توان و مدت زمان فراصوت نسبت داد (هررا و لوک-دکسترو ۲۰۰۵). پیش‌بینی می‌شود این ترکیبات در طی فرآیند فراصوت تا حدودی تخریب شده باشند و میزان آن‌ها در روش سوکسله بیشتر بوده باشد.

اکتای و همکاران، در مطالعه‌ای بر روی فعالیت ضداکسایشی عصاره‌های مختلف دانه رازیانه، درصد مهار هیدروژن پراکسید در استخراج معمولی عصاره آبی و اتانولی دانه رازیانه را به ترتیب ۵۳/۸ و ٤۵/۵ درصد گزارش کردند (اکتای و همکاران ۲۰۰۳).

نتیجه‌گیری

عصاره گیاهان دارویی به علت دارا بودن ضداکسنده‌های طبیعی توانایی واکنش با رادیکال‌های آزاد برآمده از اکسایش لیپیدها را داشته و موجب قطع واکنش‌های زنجیری و کاهش شدت اکسایش خودبه‌خودی می‌شوند. از طرفی نوع روش استخراج عصاره، عدم حضور ناخالصی‌ها در عصاره، روش مورد آزمون، غلظت عصاره مصرفی، دما، زمان و توان مورد استفاده بر روی میزان فعالیت ضداکسایشی یک عصاره به طور چشم‌گیری مؤثر است.

در این پژوهش، شرایط بهینه برای استخراج هر دو صفت آسکوربیک اسید و درصد مهار هیدروژن پراکسید عصاره دانه رازیانه در روش فراصوت، توان ۳۰۰ وات، دمای $60\ ^{\circ}C$ و زمان ۱۵دقیقه مشاهده گردید که باعث افزایش آسکوربیک اسید و مهار هیدروژن پراکسید به ترتیب به میزان ۶۹/۹۴ و ۶/۹۳ درصد، همراه با کاهش دما و کاهش ۱۶ برابری زمان استخراج نسبت به روش سوکسله با مدت زمان ۲۴۰ دقیقه و دمای $85\ ^{\circ}C$ گردید. نتایج این پژوهش برتری روش فراصوت در استخراج آسکوربیک اسید و مهار هیدروژن پراکسید را نسبت به روش سوکسله نشان داد. می‌توان نتیجه‌گیری نمود که روش نوین فراصوت می‌تواند جایگزین مناسبی در بهبود استخراج آسکوربیک اسید و نقش آن در مهار هیدروژن پراکسید توسط عصاره گیاه دارویی رازیانه باشد.

منابع مورد استفاده

ایاسه ع، علیزاده م، اسمعیلی م، مهرداد ع، جوادزاده ی، ۱۳۹٤، بهداشت مواد غذایی، ۵، ۱۰٤-۸۱.

بهمن‌آبادی ج، ۱۳۹۰، بهینه‌سازی استخراج عصاره زرشک توسط فناوری اولتراسوند به کمک روش سطح پاسخ، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قوچان.

بی‌نام، ۱۳۸۹، اطلاعات کشاورزی ایران، انتشارات وزارت جهاد کشاورزی.

پدرام‌نیا ا، شریفی ا، توکلی‌پور ح، ۱۳۸۹، بهینه‌سازی فرایند استخراج آنتوسیانین زرشک در حضور امواج فراصوت، نوآوری در علوم و فناوری غذایی، ۲، ۵۲-٤۵.

دانشمند ف، ۱۳۹۳، تأثیر آسکوربیک اسید در کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری در سیب زمینی، مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران)، ۲۷، ٤۱۷-٤۲٦.

کمالی ف، صادقی ماهونک ع ر، نصیری‌فر ز، ۱۳۹٤، تأثیر شرایط عصاره‌گیری به کمک فراصوت بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از میوه سنجد زینتی (*Elaeagnus umbellate*)، علوم غذایی و تغذیه، ۱۲، ۳۲-۲۳.

نصیری‌فر ز، صادقی ع، کمالی ف، ۱۳۹۲، تأثیر شرایط عصاره‌گیری به کمک فراصوت بر میزان استخراج ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی از میوه داغداغان (*Celtis australis*)، نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی، ۵، ۱۳۰-۱۱۵.

Adekunte AO, Tiwari BK, Cullen PJ, Scannell AGM and O'Donnell CP, 2010. Effect of sonication on colour, ascorbic acid and yeast inactivation in tomato juice. Food Chemistry 122: 500-507.

Albu S, Joyce E, Paniwnyk L, Lorimer JP and Mason TJ, 2004. Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from *Rosmarinus officinalis* for the food and pharmaceutical industry. Ultrasonics Sonochemistry 11: 261-265.

Barros L, Heleno SA, Carvalho AM and Ferreira ICFR, 2009. Systematic evaluation of the antioxidant potential of different parts of *Foeniculum vulgare* Mill. from Portugal. Journal of Food and Chemical Toxicology 47: 2458-2464.

Bimakr M, Abdul Rahman R, Saleena Taip F, Mohd Adzahan N, Islam Sarker MdZ and Ganjloo A, 2012. Optimization of ultrasound-assisted extraction of crude oil from winter melon (*Benincasa hispida*) seed

using response surface methodology and evaluation of its antioxidant activity, total phenolic content and fatty acid composition. Molecules 17: 11748-11762.

Burits M and Bucar F, 2000. Antioxidant activity of Nigella sativa essential oil. Phytotherapy Research 14: 323-328.

Caceres A, Giron LM and Martinez AM, 1987. Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. Journal of Ethnopharmacology 19: 233-245.

Cheng LH, Soh CY, Liew SC and Teh FF, 2007. Effects of sonication and carbonation on guava juice quality. Food Chemistry 104: 1396-1401.

Choi EM and Hwang JK, 2004. Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. Fitoterapia 75: 557-565.

Cruz RMS, Vieira M and Silva CLM, 2006. Effect of heat and thermosonication treatment on peroxidase inactivation kinetics in watercress (*Nasturtium officinal*). Journal of Food Engineering 72: 8-15.

Cruz RMS, Vieira M and Silva CLM, 2007. Modeling kinetics of watercress (*Nasturtium officinal*) color changes due to heat and thermosonication treatments. Journal of Innovative Food Science Emerging Technologies 8: 244-252.

Dixit V, Pandey V and Shyam R, 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad). Journal of Experimental Botany 52: 1101-1109.

Dong JE, Liu YB, Liang ZS and Wang WL, 2010. Investigation on ultrasound-assisted extraction of salvianolic acid B fromSalvia miltiorrhiza root. Ultrasonics Sonochemistry 17: 61-65.

Guillen M.D and Manzanos MJ, 1996. A study of several parts of the plant *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest. Food Research International 29: 85-88.

Hamilton RJ, 1995. Develoment in oils and fats. Chapman and Hall, London. Pp 269.

Hart EJ and Henglein A, 1985. Free radical and free atom reactions in the sonolysis of aqueous iodide and formate solutions. Journal of Physical Chemistry 89: 4342-4347.

Haraguchi H, 2001. Antioxidative plant constituents. In: Bioactive Compounds from Natural Sources. (Ed). London: Taylor & Francis. 337-378.

Herrera MC and Luque de Castro MD, 2005. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. Journal of Chromatography A 1100: 1-7.

Ji JB, Lu XH, Cai MQ and Xu ZC, 2006. Improvement of leaching process of Geniposide with ultrasound. Ultrasonics Sonochemistry 13: 455-462.

Khalid Saeed M, Ejaz N, Ahmed I, Ashraf M, Haq IU, Iqbal I and Khokhar ZU, 2009. Nutritional evalution and DPPH assay of Pakistani variety of Fennel (*Foeniculum vulgare*). Institute of Electrical and Electronics Engineers 978: 4244-3316.

Klein BP and Perry AK, 1982. Ascorbic acid and vitamin A activity in selected vegetables from different geographical areas of the united states. Journal of Food Science 47: 941-945.

Kulisic T, Radonic A, Katalinic V and Milos M, 2004. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chemistry 85: 633-640.

Luque de Castro MD and Garcia-Ayuso LE, 1998. Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future. Analytical Chemical Acta 369: 1-10.

Luque-Garcia JL and Luque de Castro MD, 2003. Ultrasound: A powerful tool for leaching. Trends in Analytical Chemistry 22: 41-47.

Nasseri S, Vaezi F, H.Mahvi A, Nabizadeh R and Haddadi S, 2006. Determination of the ultrasonic effectiveness in advanced wastewater treatment. Journal of Environmental Health Science and Engineering 3: 109-116.

Noctor G and Foyer CH, 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 249-279.

Oktay M, Gulcin I and Kufrevioglu OI, 2003. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. LWT - Food Science and Technology 36: 263-271.

Pétrier C, Combet E and Mason TJ, 2007. Oxygen-induced concurrent ultrasonic degradation of volatile and non-volatile aromatic compounds. Ultrasonics Sonochemistry 14: 117-121.

Pokorny J, Yanishlivea N and Gordon M, 2001. Antioxidants in food. CRC Press. Pp 288.

Rawson A, Tiwari BK, Tuohy MG, O'Donnell CP and Brunton N, 2011. Effect of ultrasound and blanching pretreatments on polyacetylene and carotenoid content of hot air and freeze dried carrot discs. Journal of Ultrasound Sonochemistry 18: 1172-1179.

Ruch RJ, Cheng SJ and Klaunig JE, 1989. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intracellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis 10: 1003-1008.

Schrooyen PM, vanderMeer R and De Kruif CG, 2001. Microencapsulation: its applicationin nutrition. Proceedings of the Nutrition Society 60: 475-479.

Singh GS, Maurya MP, Lampasona DE and Catalan C, 2006. Chemical constituents, antifungal and antioxidative potential of *Foeniculum vulgare* volatile oil and its acetone extract. Food Control 17: 745-752.

Tian Y, Xu Z, Zheng B and Lo YM, 2013. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil. Ultrasonics Sonochemistry 20: 202-208.

Tiwari BK, Muthukumarappan K, O'Donnell CP and Cullen PJ, 2008a. Colour degradation and quality parameters of sonicated orange juice using response surface methodology. LWT, Food Science and Technology 41: 1876-1883.

Tiwari BK, O'Donnell CP, Patras A and Cullen PJ, 2008b. Anthocyanin and ascorbic acid degradation in sonicated strawberry juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56: 10071-10077.

Tiwari BK, O'Donnell CP and Cullen PJ, 2009. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. Journal of Food Engineering 93: 166-171.

Torregrosa F, Esteve MJ, Frigola A and Cortes C, 2006. Ascorbic acid stability during refrigerated storage of orange-carrot juice treated by high pulsed electric field and comparison with pasteurized juice. Journal of Food Engineering 73: 339-345.

Wu J, Gamage TV, Vilkhu KS, Simons LK and Mawson R, 2008. Effect of thermosonication on quality improvement of tomato juice. Journal of Innovative Food Science and Emerging Technology 9: 186-195.

Yang L, Wang H, Zu Y, Zhao C, Zhang L, Chen X and Zhang Z, 2011. Ultrasound-assisted extraction of the three terpenoid indole alkaloids vindoline, catharanthine and vinblastine from *Catharanthus roseus* using iconic liquid aqueous solutions. Chemical Engineering Journal 172: 705-712.

Zhang JS, Guan J, Yang FQ, Liu HG, Cheng XJ and Li SP, 2008. Qualitative and quantitative analysis of four species of Curcuma rhizomes using twice development thin layer chromatography. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 48: 1024-1028.

Effect of ultrasound waves on the amount of ascorbic acid extraction from fennel seeds and potential of its extraction for improvement of antioxidant properties

M Ghorbani[1], M Aboonajmi[2*], M Ghorbani Javid[3] and A Arabhosseini[2]

Received: December 23, 2015 Accepted: June 06, 2016

[1]MSc Student, Department of Agrotechnology, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran
[2]Associate Professor, Department of Agrotechnology, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran
[*]Corresponding author: Email: abonajmi@ut.ac.ir

Abstract
Fennel as a medicinal plant has substances and valuable secondary metabolites such as ascorbic acid, which is able to scavenging free radicals produced by oxidation. In common extraction methods such as soxhlet long time and high energy consumption is required and there is a possibility of damage for heat-sensitive substances including ascorbic acid. Therefore, in this study the used modern method of ultrasound compared with conventional method by using soxhlet as a control treatment on the ascorbic acid extracted from the fennel seeds and its potential of scavenging of hydrogen peroxide. The samples were extracted at 85 °C for 240 minutes in soxhlet method while in ultrasound method the samples were examined at two temperatures (40 and 60°C), three sonication duration (15, 30 and 45 min) and three sonication powers (100, 200 and 300W). The results of this study showed that the optimum extraction condition in ultrasound method was at 60°C, 300W and 15min for both ascorbic acid content and hydrogen peroxide scavenging percentage by the extracts. The ascorbic acid content of 1.73 mg/mL and the percentage of containment of hydrogen peroxide of 74.13% were resulted under these conditions for fennel seed extracts that was significantly different compare with soxhlet method and caused an increase in extraction of ascorbic acid and hydrogen peroxide scavenging method. So superiority of ultrasound method was proved because of reduction in time and temperature.

Keywords: Ultrasound, Ascorbic acid, Extraction, Fennel, Soxhlet, Hydrogen peroxide scavenging