

Assessment of Active Compound Extraction from the Marjoram (*Origanum vulgare*) Influenced by Dielectric Barrier Discharge (DBD) Plasma Pretreatment

S. Mohtashami ^{1*}

1- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran

(* - Corresponding author's Email: s.mohtashami@jahromu.ac.ir)

Received: 13 February 2025

Revised: 28 April 2025

Accepted: 10 May 2025

Available Online: 10 May 2025

How to cite this article:

Mohtashami, S. (2026). Assessment of active compound extraction from the marjoram (*Origanum vulgare*) influenced by dielectric barrier discharge (DBD) plasma pretreatment. *Journal of Horticultural Science*, 39(3), 735-748. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jhs.2025.92105.1415>

Introduction

Plant materials contain many bioactive compounds such as alkaloids, flavonoids, terpenoids, phenolic compounds, etc., which can be used to prepare health products, cosmetics, medicines, food additives, etc., and have great importance for improving human health and quality of life (Ahmadian *et al.*, 2023). In recent years, the extraction of bioactive compounds from plant materials has attracted much attention. Extracting these active compounds is a challenging task because they are usually present in small amounts in plants and special techniques and methods are required for their successful isolation (Qin *et al.*, 2022). Bioactive substances are usually found inside or between plant cells. The main resistance factor to the diffusion of bioactive substances into the solvent during extraction is the plant cell wall (Zhao *et al.*, 2014). In order to improve extraction efficiency, pretreatments are usually performed before the extraction operation to destroy cell wall structure, increase cell wall permeability, and promote release of active substances (Ijod *et al.*, 2022). Cold plasma has shown a wide application prospect in food processing, pharmaceutical and health care, environmental protection, biomedicine, and many other fields due to its many advantages such as low temperature, high efficiency, low energy consumption, and environmental compatibility (Melotti *et al.*, 2021). When cold plasma is applied to plant materials, it can destroy the cell wall structure and increase the surface hydrophilicity of the materials, thereby improving the extraction efficiency (Keshavarzi *et al.*, 2020). Therefore, it can be widely used as a pre-extraction treatment. Nevertheless, there is no comprehensive study on DBD cold plasma pretreatment technology to enhance the extraction of bioactive compounds from plant materials, which is suitable for researchers to continue their research. Therefore, the present study aimed to investigate the effect of cold plasma pretreatment on the extraction rate of active compounds from *Origanum vulgare*.

Materials and Methods

Oregano seeds were sown in the medicinal plant farm of Jahrom University in October 2023, and aerial parts of the plant was harvested in May 2024 at the flowering stage and dried in shade. After drying, the samples were subjected to DBD cold plasma pretreatment, with air as the carrier gas and different voltages and times. Then, essential oil extraction and extraction were performed on the pretreated samples, and some of the active substances such as essential oil content, total phenolic compounds, flavones and flavonols, total flavonoids, tannin contents, antioxidant activity, and total carbohydrates were measured. In this study, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with 3 replications. The first factor included time at three levels (0, 3, and 6 minutes) and the second factor included voltage at two levels (20 and 30 kV). For the pretreatment of the samples for essential oil extraction, 30 g of dried marjoram plant were hand-cut and crushed for each treatment, and then 30 ml of water was added to them, and then they were placed in a plasma device.



Authors retain the copyright. This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.92105.1415>

After the treatments, the samples were extracted. Plasma pretreatment was applied to investigate its effect on the phytochemical compounds in the extract, as follows: the plant samples were powdered using an electric grinder, and then five g of the powdered sample was weighed for each treatment and 25 ml of 70% methanol solvent was added to them. After the powdered samples were completely mixed with the solvent, they were placed in a plasma device for plasma pretreatment. After the treatments, the samples were extracted.

Results and Discussion

The findings of this study showed that a voltage of 30 kV for 3 minutes was more effective in extracting the non-volatile active substances of oregano and led to an increase in all of their measured traits compared to the control treatment. Also, the lowest amount of active substances measured in this study was observed in the 30 kV treatment for 6 minutes. According to the results obtained from this study, it can be concluded that the duration of plasma pretreatment has a greater effect than the output voltage on the extraction of non-volatile active ingredients. So that in this study, using a voltage of 30 kV for 3 minutes led to an increase in the active substances of oregano, while using the same voltage for 6 minutes led to the opposite result. Although the effect of plasma pretreatment on the extraction of essential oil was not significant. However, the highest amount of essential oil was measured in the control treatment and the lowest amount was in the 30 kV voltage treatment for 3 minutes, indicating the destruction of essential oil glands and loss of essential oil at this voltage. At present, the mechanism of cold plasma treatment to improve the extraction efficiency of active substances is not fully understood, but it is generally believed that it can be attributed to two possible mechanisms: the decomposition of cell wall structure and increase of surface hydrophilicity. Disruption of plant cell wall structure can reduce diffusion resistance of active substances, thereby promoting their release. Meanwhile, increase of surface hydrophilicity of materials facilitates the dissolution and diffusion of hydrophilic active substances, thereby improving the extraction efficiency (Bao *et al.*, 2020a; 2020b).

Conclusion

The findings of this study showed that a voltage of 30 kV for 3 minutes was more effective than other treatments in extracting non-volatile active ingredients of oregano and led to an increase in all measured traits compared to the control treatment. While the effect of plasma treatments on the extraction rate of essential oil was not significant.

Keywords: Antioxidant activity, Essential oil, Extract, Phenolic compounds, Voltage

ارزیابی میزان استخراج مواد مؤثره گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum vulgare*) تحت تأثیر پیش تیمار پلاسمای تخلیه سد دی الکتریک (DBD)

سعیده محتشمی *

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۲۰

چکیده

ساختار دیواره سلولی گیاهی، مقاومت اصلی در برابر انتشار مواد زیست فعال به حلال را در فرآیند استخراج آن‌ها از مواد گیاهی ایجاد می‌کند. اخیراً پلاسمای سرد به عنوان یک فناوری پیش تیمار قبل از استخراج استفاده می‌شود که می‌تواند به طور مؤثر ساختار دیواره سلولی را مختل و در نتیجه راندمان استخراج مواد مؤثره را به طور قابل توجهی بهبود بخشد. در این تحقیق، به منظور بررسی تأثیر پیش تیمار پلاسمای تخلیه سد دی الکتریک (DBD) بر میزان استخراج مواد مؤثره گیاه دارویی مرزنجوش (*Origanum vulgare*)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. عامل اول شامل زمان در سه سطح (صفر، سه و شش دقیقه) و عامل دوم شامل ولتاژ در دو سطح (۲۰ و ۳۰ کیلوولت) بود. مواد مؤثره اندازه گیری شده شامل میزان اسانس، فلاون‌ها و فلاونول‌ها، فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، تانن‌ها و کربوهیدرات کل بود. نتایج نشان داد که بیشترین مقدار فلاونوئیدها (۲۵۳/۳۳ میلی گرم معادل کوئرستین در گرم نمونه خشک)، ترکیبات فنلی کل (۱۰۸/۴۹ میلی گرم معادل اسید گالیک بر گرم وزن خشک) و فعالیت آنتی اکسیدانی (۸۳/۶۵ درصد) در عصاره مرزنجوش در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه مشاهده شد، در حالی که کمترین میزان فلاونوئیدها (۸۸/۱ میلی گرم)، ترکیبات فنلی کل (۶۲/۱ میلی گرم) و فعالیت آنتی اکسیدانی (۴۸/۱۲ درصد) در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه اندازه گیری شد. تأثیر پیش تیمار پلاسمای بر میزان استخراج اسانس معنی دار نبود. با این حال بیشترین (۰/۷ درصد) و کمترین (۰/۵۸ درصد) میزان اسانس به ترتیب در شاهد و ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه مشاهده شد که نشان دهنده تخریب غده های اسانس و از دست رفتن اسانس در این ولتاژ بود. یافته های این پژوهش نشان داد که ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه منجر به افزایش مواد مؤثره غیر فرار نسبت به شاهد شد، در حالی که تیمار ۳۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه مواد مؤثره غیر فرار را کاهش داد.

واژه های کلیدی: اسانس، ترکیبات فنلی، عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی، ولتاژ

مقدمه

مواد گیاهی حاوی بسیاری از ترکیبات زیست فعال مانند آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، ترکیبات فنلی و غیره هستند که می‌توان از آن‌ها برای تهیه محصولات بهداشتی، آرایشی، داروها، افزودنی های غذایی و غیره استفاده کرد و برای بهبود سلامت و کیفیت زندگی انسان از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشند (Ahmadian et al., 2023). بنابراین استخراج ترکیبات زیست فعال از مواد گیاهی از اهمیت بالایی برخوردار است و می‌توان محصولات

متنوعی با ارزش کاربردی بالا تولید کرد که نقش مثبتی در بهبود سلامت و کیفیت زندگی انسان ایفا خواهد کرد (Xi et al., 2024). در سال های اخیر، استخراج مواد فعال زیستی از مواد گیاهی توجه زیادی را به خود جلب کرده است. استخراج این ترکیبات فعال یک کار چالش برانگیز است، زیرا معمولاً به مقدار کمی در گیاه وجود دارند و به تکنیک ها و روش های خاصی برای جداسازی موفقیت آمیز آن ها نیاز است (Qin et al., 2022). روش های استخراج سنتی مانند جوشاندن، خیساندن، سوکسله، رفلاکس گرم، تقطیر با بخار و غیره و برخی از روش های استخراج جدید مانند مافوق صوت، مایکروویو، سیال فوق بحرانی و غیره به طور گسترده در استخراج اجزاء فعال از گیاهان استفاده شده اند (Tan et al., 2022; Ray et al., 2023; Tran et al., 2023; Wang et al., 2023). مواد زیست فعال معمولاً

۱- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران
(*)- نویسنده مسئول: Email: s.mohtashami@jahromu.ac.ir
<https://doi.org/10.22067/jhs.2025.92105.1415>

در داخل یا بین سلول‌های گیاهی یافت می‌شوند. عامل مقاومت اصلی در برابر انتشار مواد زیست‌فعال به حلال در طول استخراج، دیواره سلولی گیاهی است (Zhao et al., 2014). به‌منظور بهبود راندمان استخراج، پیش‌تیمارهایی معمولاً قبل از عملیات استخراج انجام می‌شود تا ساختار دیواره سلولی را از بین برده، نفوذپذیری دیواره سلولی را افزایش دهد و باعث انتشار مواد فعال شود (Ijod et al., 2022). فناوری‌های رایج پیش‌تیمار فعلی عمدتاً شامل آسیاب کردن مکانیکی، همگن‌سازی فشار بالا، میدان الکتریکی پالسی، اولتراسونیک، مایکروویو، یخ-ذوب، آنزیم، انفجار بخار و غیره است (Ghazanfari et al., 2023) و هرکدام دارای محدودیت‌هایی می‌باشند. باین‌حال، قطر ذرات پس از آسیاب مکانیکی معمولاً خیلی کوچک است، به‌طوری‌که دشواری جداسازی و عملیات استخراج را افزایش می‌دهد (Tan et al., 2020). اعمال همگن‌سازی فشار بالا در فرآیندهای پیوسته یا نیمه‌پیوسته دشوار بوده و هزینه مخزن تحت فشار بالا است (Huang et al., 2023). میدان الکتریکی پالسی و پیش‌تیمار اولتراسوند نمی‌تواند مواد گیاهی را به‌طور یکنواخت تیمار کند، به همین دلیل کاربرد وسیع آن‌ها را در صنعت محدود می‌کند (Ghazanfari et al., 2023). دمای پیش‌تیمار مایکروویو برای اجزای حساس به حرارت بسیار بالا است (Regan et al., 2023). پیش‌تیمار یخ و ذوب دارای هزینه عملیاتی بالا و زمان پردازش طولانی است (Bassey et al., 2022). پیش‌تیمار آنزیمی پرهزینه و به شرایط محیطی حساس است (Zhang et al., 2023). انفجار بخار شامل فشار بالا و دمای بالا است که نیاز به تجهیزات تخصصی و هزینه‌های عملیاتی را افزایش می‌دهد (Huang et al., 2023). بنابراین، توسعه یک فناوری پیش‌تیمار سبز، اقتصادی و ساده برای بهبود کارایی استخراج مهم است.

پلاسما حالتی از ماده است که در آن یک گاز خنثی (مانند هوا، نیتروژن، هلیوم، آرگون و غیره) به‌طور کامل یا تا حدی یونیزه می‌شود و در نتیجه مخلوطی از ذرات باردار (الکترون‌های آزاد، یون‌های مثبت و منفی)، رادیکال‌ها، مولکول‌های برانگیخته و غیربرانگیخته و همچنین فوتون‌های فرابنفش را در بر می‌گیرد (Ahmadian et al., 2023). پلاسما به‌دلیل تفاوت زیاد آن با خواص حالت جامد، مایع و گاز، به‌عنوان "وضعیت چهارم" ماده نیز شناخته می‌شود (Birania et al., 2022). روش‌های مختلفی از جمله تخلیه کرونا، تخلیه دی-الکترونیک، تخلیه قوس‌گلاید، پلاسمای مایکروویو و پلاسمای امواج رادیویی برای تولید پلاسما وجود دارد. در تخلیه سد دی‌الکترونیک^۱ (DBD)، پلاسما معمولاً بین دو الکترود که توسط یک لایه دی-الکترونیک از هم جدا شده‌اند، ایجاد می‌شود. در یک محفظه بسته، از

ترکیب گازهای خنثی یا بی‌اثر استفاده می‌شود که با جریان بین دو الکترود و اعمال یک مدار ولتاژ بالا به یکی از الکترودها، گازها یونیزه و پلاسما تولید می‌شود. یکی از مهم‌ترین مزیت‌های این روش، سازگاری با طیف وسیعی از گازها می‌باشد که DBD را به متداول‌ترین منبع تولید پلاسما تبدیل کرده است. پلاسما را می‌توان به دو نوع پلاسمای حرارتی و غیرحرارتی (سرد) تقسیم کرد. پلاسمای سرد به پلاسمای اطلاق می‌شود که دمای کل سیستم آن نزدیک یا کمی بالاتر از دمای اتاق باشد (Birania et al., 2022). با توجه به مزایای آن در دمای پایین، راندمان بالا، مصرف کم انرژی، سازگاری با محیط زیست، پلاسمای سرد چشم‌انداز کاربرد گسترده‌ای را در فرآوری مواد غذایی، دارویی و بهداشتی، حفاظت از محیط‌زیست، زیست‌پزشکی و بسیاری از زمینه‌ها نشان داده است (Melotti et al., 2021). هنگامی که پلاسمای سرد روی مواد گیاهی اعمال می‌شود، می‌تواند ساختار دیواره سلولی را از بین ببرد و آب‌دوستی سطحی مواد را افزایش دهد و در نتیجه کارایی استخراج را بهبود بخشد (Keshavarzi et al., 2020). بنابراین، می‌تواند به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان یک تیمار قبل از عملیات استخراج استفاده شود. در حال حاضر، پلاسمای سرد با موفقیت در پیش‌تیمار تفاله انگور (*Vitis vinifera*)، تفاله گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*)، زوفا (*Hyssopus officinalis*)، برگ چای سبز (*Camellia sinensis*) و غیره برای استخراج پلی‌فنل‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین، اسانس‌ها، روغن و غیره استفاده شده است که چشم‌انداز توسعه گسترده آن را نشان می‌دهد (Bao et al., 2020a; 2020b; Keshavarzi et al., 2020; Ahmadian et al., 2023).

مرزنجوش (*Origanum vulgare*) گیاهی از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) است که در سراسر جهان به‌عنوان یک ادویه و طعم‌دهنده بسیار محبوب مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه به‌علت دارا بودن ترکیب تیمول، دارای خواصی شبیه به آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) بوده و در طب سنتی از آن به‌عنوان دارویی مقوی، قاعده‌آور، ضدنفخ، ملین، مدر، مقوی معده و آرام‌بخش اعصاب استفاده می‌شود (Mozaffarian, 1998). در تحقیقات فارماکولوژیکی اخیر نشان داده شده است که گونه‌های مختلف مرزنجوش به‌دلیل داشتن تیمول، کارواکرول و برخی دیگر از ترکیبات فنلی دارای فعالیت‌های ضدباکتری، ضدقارچی، ضدویروسی و آنتی‌اکسیدانی هستند (Morshedloo et al., 2018).

با توجه به اینکه تاکنون بررسی جامعی در ارتباط با تأثیر فناوری پیش‌تیمار پلاسمای سرد DBD بر افزایش استخراج مواد فعال زیستی از مواد گیاهی وجود ندارد، بررسی حاضر با هدف بررسی تأثیر پیش-

تیمار پلاسما سرد بر میزان استخراج برخی از مواد مؤثره موجود در گیاه مرزنجوش انجام شد.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه مرزنجوش در مهرماه ۱۴۰۲ در مزرعه گیاهان دارویی دانشگاه جهرم (شهرستان جهرم، استان فارس: ۲۸ درجه و ۵۳ دقیقه عرض جغرافیایی، ۱۰۸۲ متر ارتفاع از سطح دریا) کشت شدند و برداشت پیکره رویشی گیاه در اردیبهشت ماه ۱۴۰۳ مصادف با مرحله گل‌دهی کامل، از سطح حدود ۱۰ سانتی‌متری خاک انجام گردید و در شرایط سایه در دمای آزمایشگاه ($23 \pm 3^\circ \text{C}$) خشک شدند. پس از خشک شدن (گذشت پنج روز)، نمونه‌ها تحت تأثیر پیش‌تیمار پلاسما سرد DBD قرار گرفتند، به‌طوری‌که هوا به‌عنوان گاز حامل بود و از ولتاژ و زمان‌های متفاوت استفاده شد. سپس از نمونه‌های پیش‌تیمار شده اسانس‌گیری و عصاره‌گیری انجام شد و برخی از مواد مؤثره این گیاه مانند فلاون‌ها و فلاونول‌ها، فلاونوئید کل، میزان تانن، کربوهیدرات کل ترکیبات فنلی کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان اسانس اندازه‌گیری گردید.

پیش‌تیمار پلاسما

در این تحقیق از دستگاه پلاسما سرد تخلیه سد دی‌الکتریک (DBD) ساخت کشور ایران (شرکت کاوش یاران، مدل Enhanced Tech-18A) استفاده شد. به‌طوری‌که هوا به‌عنوان گاز حامل، با خروجی ولتاژ ۲۰ و ۳۰ کیلوولت، فاصله الکترودی دو سانتی‌متر و زمان صفر، سه و شش دقیقه جهت تیمار نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. فاکتور اول شامل زمان در سه سطح (صفر، سه و شش دقیقه) و فاکتور دوم شامل ولتاژ در دو سطح (۲۰ و ۳۰ کیلوولت) بود. اعمال پیش‌تیمار پلاسما جهت بررسی اثر آن بر میزان اسانس و ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره انجام شد. بدین صورت که جهت پیش‌تیمار پلاسما به‌منظور استخراج اسانس، برای هر تیمار میزان ۳۰ گرم گیاه خشک مرزنجوش با دست به قطعات کوچک خرد شدند و سپس ۳۰ میلی‌لیتر آب به آن‌ها اضافه گردید و سپس در دستگاه پلاسما قرار داده شدند (علت پودر نکردن نمونه‌ها، جلوگیری از تبخیر بیشتر اسانس به‌دلیل پودر شدن و همچنین شرایط پلاسما بود). پس از اعمال تیمارها، اسانس‌گیری از نمونه‌ها به‌روش تقطیر با آب به‌وسیله دستگاه کلونجر انجام شد. اعمال پیش‌تیمار پلاسما جهت بررسی اثر آن بر ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره، بدین صورت بود که نمونه‌های گیاهی به‌وسیله آسیاب برقی کاملاً پودر گردید و سپس برای هر تیمار به‌میزان پنج گرم نمونه پودر شده وزن شد و ۲۵ میلی‌لیتر حلال متانول ۷۰ درصد به آن‌ها اضافه گردید. پس از اینکه

نمونه‌های پودر شده به‌طور کامل با حلال مخلوط شدند، جهت اعمال پیش‌تیمار پلاسما در دستگاه پلاسما قرار گرفتند. پس از اعمال تیمارها، عصاره‌گیری کامل از نمونه‌ها انجام شد. در نمونه‌های شاهد بدون هیچ‌گونه پیش‌تیماری از آن‌ها عصاره‌گیری و اسانس‌گیری به عمل آمد.

عصاره‌گیری

عصاره‌گیری به‌روش وجدی‌لو و همکاران (Wojdylo et al., 2007) با مختصر تغییرات انجام شد. بدین منظور به هرکدام از نمونه‌های پیش‌تیمار شده، میزان ۲۵ میلی‌لیتر حلال متانول ۷۰ درصد دیگر اضافه گردید (عصاره‌گیری نهایی با نسبت پنج به یک: حلال به نمونه گیاهی انجام شد) و به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر با دور ۲۰۰ دور در دقیقه^۱ نگهداری شدند و سپس عصاره به‌دست‌آمده جهت یکنواختی به مدت ۱۰ دقیقه داخل سانتریفیوژ با دور ۵۰۰۰ قرار گرفت و بخش مایع روشن‌تر جدا شد و به‌عنوان عصاره جهت انجام آزمایش‌های مربوط به ویژگی‌های فیتوشیمیایی (اندازه‌گیری میزان فلاون‌ها و فلاونول‌ها، فلاونوئید کل، میزان تانن، کربوهیدرات کل، ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی) به کار برده شد.

اندازه‌گیری میزان فلاون‌ها و فلاونول‌ها

برای اندازه‌گیری میزان فلاون‌ها و فلاونول‌ها براساس روش ارائه‌شده توسط پوپوا و همکاران (Popova et al., 2004) با تغییرات جزئی انجام شد. بدین صورت که در ابتدا میزان دو میلی‌لیتر از عصاره تهیه‌شده از هر نمونه برداشته و میزان ۲۰ میلی‌لیتر متانول به آن اضافه شد و سپس مقدار یک میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید پنج درصد به آن اضافه گردید و در نهایت با متانول به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای محیط نگهداری گردید و سپس عدد جذب در طول موج ۴۲۵ نانومتر خوانده شد. میزان این ترکیبات براساس استاندارد کوثرستین (رسم نمودار منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف) محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئیدها

شناسایی و محاسبه میزان ترکیبات فلاونوئیدی براساس روش منی‌چینی و همکاران (Menichini et al., 2009) با تغییرات جزئی انجام شد. در ابتدا مقدار یک میلی‌لیتر از عصاره هر نمونه برداشته شد و به آن ۳۰۰ میکرولیتر سدیم نیتريت پنج درصد اضافه گردید. پس از پنج دقیقه بعد از اضافه کردن سدیم نیتريت، ۶۰۰ میکرولیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد اضافه شد و پس از گذشت شش دقیقه از زمان اضافه

کردن آلومینیوم کلرید، دو میلی‌لیتر سود یک نرمال اضافه گردید. در ادامه، این محلول با استفاده از آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد و اعداد جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت گردید. در نهایت، تبدیل داده‌های حاصل از جذب به غلظت‌های مختلف کوئرستین با رسم منحنی استاندارد کوئرستین انجام شد و نتایج براساس میلی‌گرم معادل کوئرستین در گرم وزن خشک بیان گردید.

اندازه‌گیری مقادیر تانن

برای تعیین مقادیر تانن در نمونه‌ها از معرف وانیلین-اسیدکلریدریک^۱ که توسط برودهورست و جونز (Broadhurst & Jones, 1978) ارائه شده است، استفاده گردید. در ابتدا مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره هر نمونه برداشته شد و مقدار سه میلی‌لیتر معرف وانیلین (چهار درصد حجمی وزنی: ۴ گرم وانیلین در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) اضافه و کاملاً مخلوط گردید. سپس میزان ۱/۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک به محلول‌های قبلی افزوده شد و به‌صورت کامل مخلوط گردید. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری و بعد از آن، اعداد جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. تبدیل داده‌های حاصل از جذب به غلظت‌های مختلف کاتکین^۲ با رسم منحنی استاندارد انجام شد و نتایج به‌صورت میلی‌گرم معادل کاتکین در گرم وزن خشک بیان گردید.

اندازه‌گیری کربوهیدرات کل

جهت اندازه‌گیری قندهای محلول، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره هر نمونه برداشته شد، سپس سه میلی‌لیتر معرف آنترون به نمونه‌ها اضافه گردید. در نهایت پس از ۱۰ دقیقه قرار دادن نمونه‌ها در حمام آب جوش، نمونه‌ها داخل آب سرد قرار گرفت و سپس میزان جذب نور در ۶۳۰ نانومتر انجام گرفت. جهت تهیه محلول استاندارد در این آزمایش از گلوکز خالص استفاده شد و نتایج به‌صورت میلی‌گرم معادل گلوکز در گرم نمونه خشک بیان گردید (Yemm & Willis, 1954).

اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنلی کل

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی در نمونه‌ها با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو^۳ انجام شد. در این روش، از هر نمونه میزان ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۲۰۰ میکرولیتر فولین ۵۰ درصد کاملاً مخلوط گردید و سپس میزان ۲۰۰۰ میکرولیتر آب مقطر به محلول اضافه شد و بعد از

سه دقیقه، ۱۰۰۰ میکرولیتر سدیم کربنات ۲۰ درصد به محلول اضافه شد و بعد از ۱۰ ثانیه تکان شدید توسط دستگاه شیکر انگشتی، جهت انجام کامل واکنش و جدا شدن ترکیبات فنلی، نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق و شرایط تاریکی نگهداری گردید. در نهایت عدد جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Wojdylo et al., 2007). تبدیل داده‌های حاصل از جذب به غلظت‌های مختلف اسیدگالیک با رسم منحنی استاندارد اسیدگالیک انجام گردید و نتایج به‌صورت میلی‌گرم معادل اسیدگالیک در گرم وزن خشک بیان شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی

روش‌های مختلفی جهت ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان دارویی وجود دارد. یکی از روش‌های مرسوم استفاده از آزمون دی‌پی-پی‌اچ^۴ DPPH می‌باشد. در این آزمایش، از روش توصیه‌شده توسط اک و همکاران (Oke et al., 2009) با اندکی تغییر استفاده شد. به همین منظور، ابتدا مقدار ۲۰ میکرولیتر از عصاره‌های هر نمونه به پنج میلی‌لیتر محلول DPPH با غلظت ۰/۰۰۴ درصد اضافه گردید. در محلول شاهد به‌جای عصاره، ۲۰ میکرولیتر متانول اضافه شد. محلول‌ها به مدت پنج ثانیه به‌وسیله شیکر انگشتی به‌شدت تکان داده شدند و مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط و شرایط تاریکی جهت انجام واکنش نگهداری شدند و در نهایت، اعداد جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. هرچه اعداد جذب پایین‌تر باشد، نشان‌دهنده فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تر عصاره می‌باشد. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معادله ۱ محاسبه شد.

$$(۱) \quad \text{درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی} = ۱۰۰ \times \text{عدد جذب شاهد} / (\text{عدد جذب نمونه} - \text{عدد جذب شاهد})$$

استخراج اسانس

جهت اسانس‌گیری، به نمونه‌های پیش‌تیمارشده پس از انتقال به بالن‌های ۵۰۰ میلی‌لیتری به‌میزان ۳۵۰ میلی‌لیتر آب اضافه شد و توسط دستگاه کلونجر به‌روش تقطیر با آب به‌مدت سه ساعت پس از به جوش آمدن در شرایط یکسان استخراج اسانس انجام گردید. بازده اسانس براساس وزن خشک نمونه‌ها به‌صورت حجمی-وزنی (v/w) میلی‌لیتر در ۱۰۰ گرم نمونه خشک محاسبه شد.

1- Vanillin-HCL

2- Catechin

3- Folin-Ciocalteu

4- 2,2- diphenyl picrylhydrazyl

طرح آماری و تجزیه تحلیل داده‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل (فاکتور اول: زمان در سه سطح (صفر، سه و شش دقیقه) و فاکتور دوم: ولتاژ در دو سطح (۲۰ و ۳۰ کیلوولت) در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار جامپ (JMP) نسخه ۸ و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار زمان و ولتاژهای مختلف پلاسما بر بیشتر صفات اندازه‌گیری شده می‌باشد که به تفصیل در زیر ارائه شده است.

میزان فلاون‌ها و فلاونول‌ها و فلاونوئید کل

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده زمان و ولتاژ و اثر متقابل آن‌ها بر میزان فلاون‌ها و فلاونول‌ها معنی‌دار شد (جدول ۱). در بررسی اثر متقابل زمان و ولتاژ پلاسما بر میزان فلاون‌ها و فلاونول‌ها، بیشترین میزان (۰/۸۱ میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم نمونه خشک) در ولتاژ ۲۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه مشاهده شد که

با تیمارهای ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه و شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. درحالی‌که کمترین میزان (۰/۳۹ میلی گرم) در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه حاصل گردید (شکل ۱). در بررسی اثرات ساده تیمارها (نتایج آن آورده نشده است)، کمترین میزان فلاون‌ها و فلاونول‌ها (۰/۴۸ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک) در زمان شش دقیقه مشاهده شد، درحالی‌که بیشترین میزان (۰/۷۹ میلی گرم) مربوط به زمان سه دقیقه بود که تفاوت معنی‌داری با شاهد (۰/۷۶ میلی گرم) نداشت. کمترین میزان این ترکیب (۰/۷۱ و ۰/۶۴ میلی گرم) به ترتیب مربوط به ولتاژ ۲۰ و ۳۰ کیلوولت بود. براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثر ساده زمان و اثر متقابل زمان و ولتاژ بر میزان فلاونوئید کل معنی‌دار بود، درحالی‌که اثر ساده ولتاژ معنی‌دار نبود (جدول ۱). در این تحقیق، بیشترین مقدار فلاونوئید کل (۲۵۳/۳۳ میلی گرم معادل کوئرستین در گرم نمونه خشک) در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه مشاهده شد، درحالی‌که کمترین میزان (۸۸/۱ میلی گرم) در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه به دست آمد (شکل ۱). در بررسی اثر ساده زمان، بیشترین میزان فلاونوئید کل (۲۳۰/۳۳ میلی گرم) در زمان سه دقیقه و کمترین میزان (۱۰۲/۴۶ میلی گرم) در زمان شش دقیقه مشاهده شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر زمان و ولتاژهای مختلف پلاسما بر ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare*)

Table 1- ANOVA (mean of squares) for the effect of time and different plasma voltages on the biochemical properties of *Origanum vulgare*

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	فلاون و فلاونول Flavone and flavonol	فلاونوئید کل Total flavonoid	میزان تانن Tannin content	کربوهیدرات کل Total carbohydrate	فنل کل Total phenol	فعالیت آنتی اکسیدانی Antioxidant activity	درصد اسانس Essential oil percent
زمان Time	2	0.17**	27718**	4.55**	13135.5**	1893.72**	1648.12**	0.02**
ولتاژ Voltage	1	0.02**	148.8ns	0.54**	450ns	27.68*	9.45ns	0.001ns
زمان × ولتاژ Time × voltage	2	0.01**	2132.5**	0.21**	218.3ns	202.32**	68.03**	0.0002ns
ضریب تغییرات CV (%)	-	22.09	22.31	21.07	24.28	18.06	19.49	8.04

ns و ** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد، یک درصد و عدم معنی‌داری.

*, ** and ns: Significant at 5% and 1% of probability levels, and non-significant, respectively.

مقدار تانن و کربوهیدرات کل

براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، کلیه اثرات ساده و متقابل تیمارها بر میزان تانن استخراج شده از مرزنجوش معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان تانن (۴/۴۷ میلی گرم معادل کاتکین در گرم نمونه خشک) در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه اندازه‌گیری

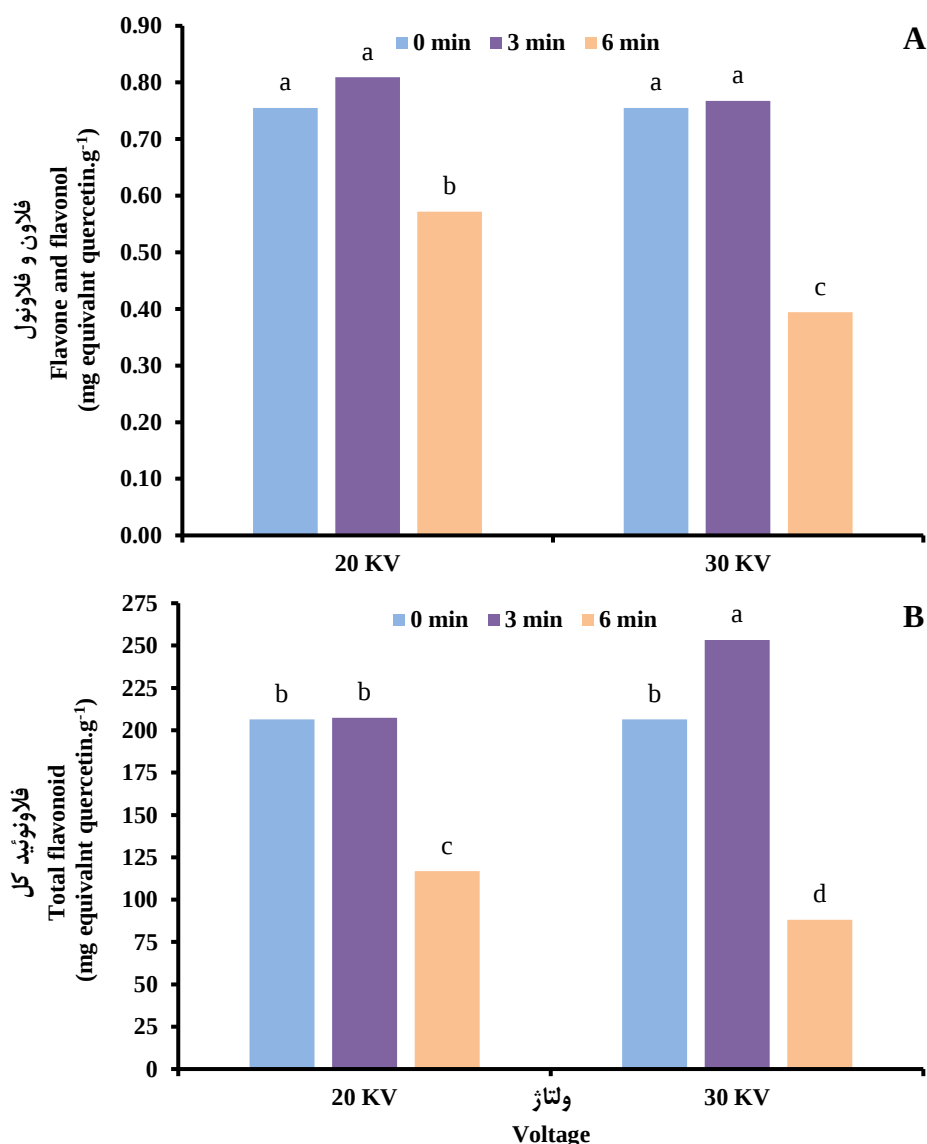
شد، و بعد از آن شاهد قرار داشت. درحالی‌که کمترین میزان (۲/۴۳ میلی گرم) در ولتاژ ۲۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه مشاهده شد که با تیمار ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه در یک گروه قرار داشتند (شکل ۲). در بررسی اثرات ساده (نتایج آن آورده نشده است)، بیشترین میزان تانن‌ها مربوط به زمان سه دقیقه (۴/۰۹ میلی گرم) و

(جدول ۱). در این تحقیق، بیشترین میزان ترکیبات فنلی در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه (۱۰۸/۴۹ میلی گرم معادل اسیدگالیک بر گرم وزن خشک) مشاهده شد که بعد از آن ولتاژ ۲۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه (۹۳/۳۶ میلی گرم) قرار داشت. کمترین میزان (۶۲/۱ میلی گرم) در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه اندازه گیری شد (شکل ۴). در بررسی اثرات ساده (نتایج آن آورده نشده است)، زمان سه دقیقه و ولتاژ ۳۰ کیلوولت نسبت به سایر تیمارها در استخراج ترکیبات فنلی مؤثرتر بودند.

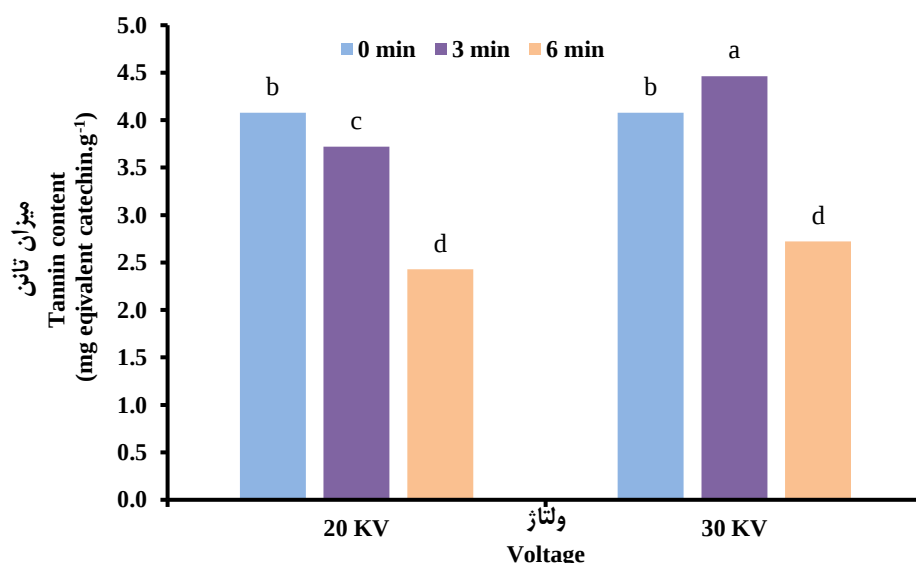
ولتاژ ۳۰ کیلوولت (۳/۷۶ میلی گرم) بود. براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، تنها اثر ساده زمان بر میزان کربوهیدرات کل معنی دار بود (جدول ۱). در بررسی اثر ساده زمان، بیشترین و کمترین میزان کربوهیدرات کل (۲۲۱/۷۰ میلی گرم و ۱۲۸/۷۰ میلی گرم) به ترتیب مربوط به زمان سه دقیقه و شش دقیقه بود که نسبت به شاهد اختلاف معنی داری داشتند (شکل ۳).

میزان ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی

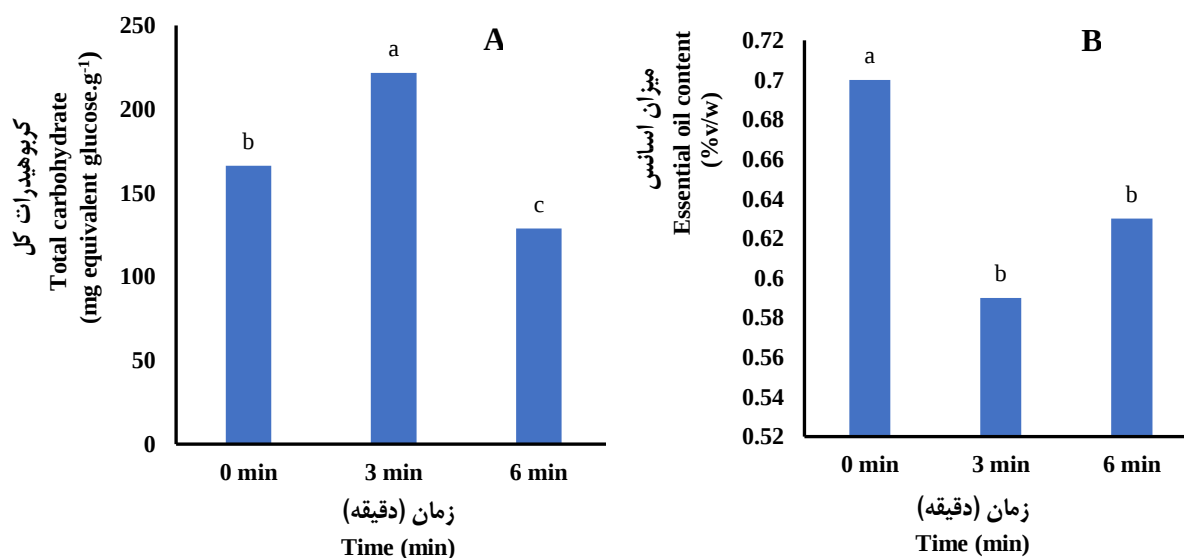
براساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، اثرات ساده و متقابل زمان و ولتاژهای مختلف پلاسما بر میزان ترکیبات فنلی معنی دار بود



شکل ۱- تغییر در میزان فلاون ها و فلاونول ها (A) و فلاونوئید کل (B) گیاه دارویی مرزنجوش تحت تأثیر متقابل زمان × ولتاژهای مختلف پلاسما
Figure 1- Changes in flavones and flavonols (A) and total flavonoid (B) contents in *Origanum vulgare* influenced by time × plasma voltage interaction (Tukey, $p \leq 0.05$)



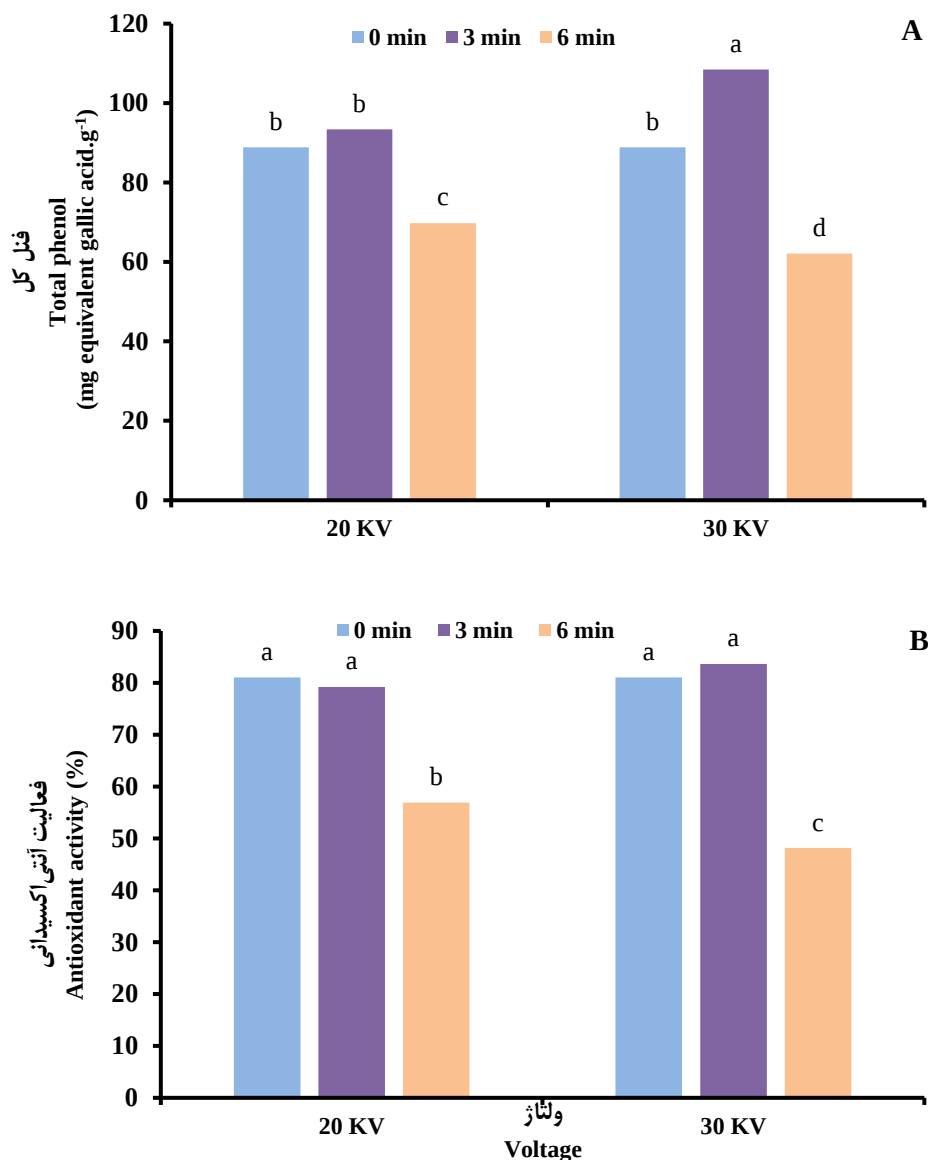
شکل ۲- اثر متقابل زمان × ولتاژهای مختلف پلاسما بر تغییرات میزان تانن موجود در عصاره گیاه مرزنجوش
Figure 2- The interaction effect of time × different plasma voltages in tannin content variation in *Origanum vulgare* (Tukey, $p \leq 0.05$)



شکل ۳- اثر زمان پلاسما بر میزان کربوهیدرات کل (A) و درصد اسانس (B) گیاه مرزنجوش
Figure 3- The effect of plasma time on the total carbohydrate (A) and essential oil percentage (B) in *Origanum vulgare* (Tukey, $p \leq 0.05$)

درحالی که کمترین میزان (۴۸/۱۲ درصد) در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه مشاهده شد (شکل ۴). در بررسی اثر ساده زمان (نتایج آن آورده نشده است)، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی (۸۱/۴۳ درصد) مربوط به زمان سه دقیقه بود که نسبت به شاهد تفاوت معنی داری نداشت، درحالی که کمترین میزان (۵۲/۵۲ درصد) در زمان شش دقیقه مشاهده شد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان دهنده معنی دار بودن اثر ساده زمان و اثر متقابل زمان و ولتاژ بر فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مرزنجوش بود، درحالی که اثر ساده ولتاژ معنی دار نبود. بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی در مرزنجوش (۸۳/۶۵ درصد) مربوط به ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه بود که در مقایسه با تیمارهای ۲۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه و شاهد تفاوت معنی داری نداشت،



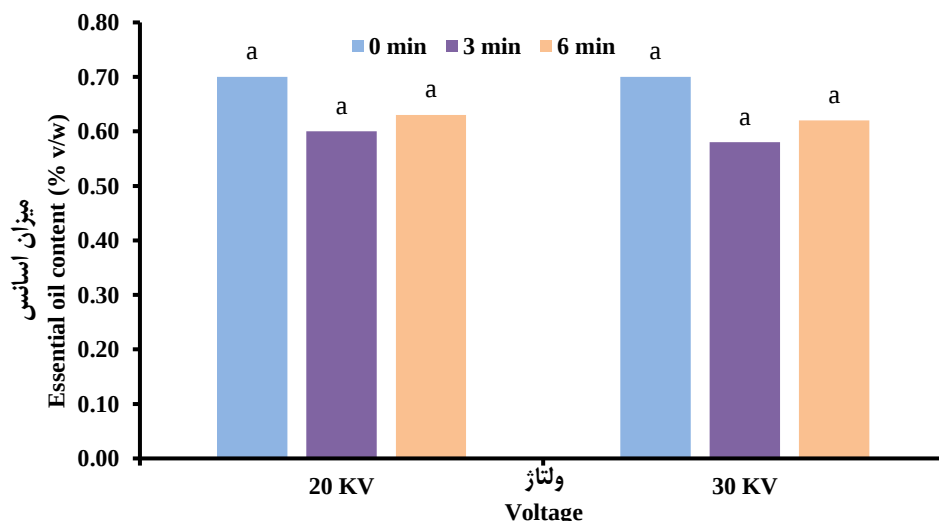
شکل ۴- اثر متقابل زمان × ولتاژهای مختلف پلاسما بر میزان فنل کل (A) و فعالیت آنتی اکسیدانی (B) عصاره گیاه مرزنجوش
Figure 4- The interaction effect of time × plasma voltages on the total phenols (A) and antioxidant activity (B) in *Origanum vulgare* extract (Tukey, $p \leq 0.05$)

اختلاف معنی داری وجود نداشت (شکل ۳).

یافته‌های این پژوهش نشان داد که ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه در استخراج مواد مؤثره غیرفرار مرزنجوش مؤثرتر بود و منجر به افزایش کلیه صفات اندازه‌گیری شده آن‌ها نسبت به شاهد شد. همچنین کمترین میزان مواد مؤثره اندازه‌گیری شده در این تحقیق در تیمار ۳۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه حاصل گردید. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، مدت زمان انجام پیش تیمار پلاسما نسبت به میزان ولتاژ خروجی اثر بیشتری در استخراج مواد مؤثره غیرفرار دارد.

میزان اسانس

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده ولتاژ و اثر متقابل زمان و ولتاژهای مختلف پلاسما بر میزان اسانس معنی دار نبود و فقط اثر ساده زمان معنی دار گردید (جدول ۱). اگرچه اثر متقابل تیمارها از نظر آماری بر میزان استخراج اسانس معنی دار نبود، پایین‌ترین و بیشترین میزان اسانس (۷۰٪ و ۵۸٪ درصد) به ترتیب در شاهد و ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه مشاهده شد (شکل ۵). همچنین در بررسی اثر ساده زمان، بیشترین میزان اسانس در زمان صفر (شاهد) حاصل گردید و بین زمان‌های سه و شش دقیقه



شکل ۵- اثر متقابل زمان × ولتاژ پلاسما بر میزان اسانس گیاه مرزنجوش

Figure 5- The interaction effect of time × plasma voltage on the essential oil percentage in *Origanum vulgare* (Tukey, $p \leq 0.05$)

مکانیکی موج ضربه، آسیب برساند (Ahmadian et al., 2023) (شکل ۶). اثر اچینگ ذرات باردار به برخورد ذرات باردار و مولکول‌های دیواره سلولی اشاره دارد که پیوندهای شیمیایی درون مولکول‌ها را می‌شکند و منجر به تخریب ساختار دیواره سلولی می‌شود (Bao et al., 2020a). اثر اچینگ می‌تواند الکترون‌های پرانرژی تولید کند که قادر به عبور از دیواره سلولی هستند و واکنش‌های بیوشیمیایی زیادی را آغاز می‌کنند و باعث شکسته شدن پیوندهای داخلی مولکول می‌شوند که به نوبه خود مواد دیواره سلولی را شکننده‌تر می‌کند (Bao et al., 2020a; 2020b).

اکسیداسیون گونه واکنشی به واکنش اکسیداسیون تولیدشده توسط ROS^3 یا RNS^4 با مولکول‌های دیواره سلولی اشاره دارد. ROS و RNS دارای ظرفیت اکسیداتیو قوی برای اکسید کردن مولکول‌های آلی داخل دیواره سلولی به قطعات کوچک‌تر و شروع واکنش‌های هیدرولیز و پلیمریزاسیون دیواره سلولی هستند (Melotti et al., 2021). این واکنش‌ها منجر به تغییراتی در ساختار مولکولی دیواره سلولی و در نتیجه تخریب دیواره سلولی می‌شود. علاوه بر این، تیمار پلاسمای سرد، قدرت میدان الکتریکی قوی ایجاد می‌کند که می‌تواند باعث شکست غیرقابل برگشت ساختار سلولی شود که مشابه سازوکار الکتروپوراسیون میدان‌های الکتریکی پالسی است (Birania et al., 2022). علاوه بر این، نیروی مکانیکی ایجادشده توسط موج شوک پلاسما نیز می‌تواند دیواره سلولی را تخریب کند (Danijela et al., 2018).

به‌طوری‌که در این تحقیق، استفاده از ولتاژ ۳۰ کیلوولت به‌مدت سه دقیقه منجر به افزایش مواد مؤثره گیاه دارویی مرزنجوش شد، درحالی‌که استفاده از همین ولتاژ به‌مدت شش دقیقه منجر به نتیجه عکس شد. به عبارت دیگر، زمان شش دقیقه نه‌تنها تأثیر مثبت نداشت، بلکه باعث کاهش مواد مؤثره غیرفرار نیز شد. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق، تأثیر زمان می‌تواند بیشتر از ولتاژ باشد. درحالی‌که بیشترین میزان اسانس در شاهد حاصل شد و کمترین میزان مربوط به تیمار ولتاژ ۳۰ کیلوولت به‌مدت سه دقیقه بود که نشان‌دهنده تخریب غده‌های اسانس و از دست رفتن اسانس در این ولتاژ بود. اگرچه تأثیر پیش‌تیمار پلاسما بر استخراج اسانس معنی‌دار نبود.

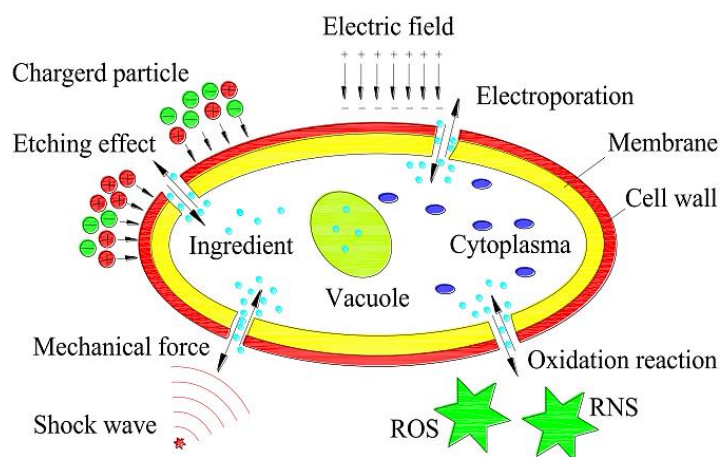
در حال حاضر، سازوکار تیمار پلاسمای سرد برای بهبود راندمان استخراج مواد مؤثره به‌طور کامل شناخته نشده است، اما به‌طور کلی اعتقاد بر این است که می‌توان آن را به دو سازوکار احتمالی نسبت داد: ۱- تجزیه ساختار دیواره سلولی و ۲- افزایش آب‌دوستی سطح (Bao et al., 2020a; 2020b). اختلال در ساختار دیواره سلولی گیاه می‌تواند مقاومت در برابر انتشار مواد مؤثره را کاهش دهد و در نتیجه باعث آزاد شدن آن‌ها شود. در همین حال، افزایش آب‌دوستی سطح مواد، انحلال و انتشار مواد مؤثره آب‌دوست را تسهیل می‌کند و در نتیجه راندمان استخراج را بهبود می‌بخشد. هنگامی که پلاسمای سرد روی سلول‌های گیاهی اعمال می‌شود، می‌تواند به ساختار دیواره سلولی از طریق اثر اچینگ^۱ ذرات باردار، اکسیداسیون گونه‌های واکنش‌پذیر شیمیایی، الکتروپوراسیون^۲ میدان‌های الکتریکی و نیروی

3- Reactive oxygen species

4- Reactive nitrogen species

1- Etching

2- Electroporation



شکل ۶- سازوکار تخریب دیواره سلولی توسط پلاسمای سرد (Xi et al., 2024)
Figure 6- The mechanism of cell wall destruction by cold plasma (Xi et al., 2024)

DBD تحت تأثیر پلاسمای سرد نیتروژن (*Camellia sinensis*) به ترتیب به میزان ۴۱/۱۴ و ۴۱/۰۶ درصد افزایش یافت (Keshavarzi et al., 2020). دلیل اینکه تیمار پلاسمای سرد می تواند آبدوستی سطح مواد را بهبود بخشد، این است که می تواند باعث واکنش های شیمیایی و اصلاح سطح شود (Bao et al., 2020a; 2020b). وقتی گاز توسط میدان الکتریکی برانگیخته می شود، گونه های واکنش پذیر شیمیایی مانند الکترون های پرانرژی، یون های مثبت و رادیکال های آزاد تولید می گردند. این گونه های فعال با سطح مواد گیاهی واکنش نشان می دهند و می توانند برخی از گروه های عاملی آبدوست مانند آمین، کربنات، آمید و کربوکسیل را در سطح ماده ایجاد کنند (Karunanithi et al., 2023). نتایج حاصل از این تحقیق نیز اثر مثبت پیش تیمار پلاسما بر استخراج مواد مؤثره غیرفرار مرزنجوش را به دلایل فوق الذکر نشان داد. علاوه بر این، ولتاژها و زمان های به کاررفته در این تحقیق، اثر زیادی بر میزان استخراج اسانس نداشت. احتمالاً ولتاژها و زمان های به کار گرفته شده در این تحقیق موجب شکسته شدن زیاد غده های اسانس و در نهایت منجر به از دست رفتن اسانس شده است. به نظر می رسد در صورتی که هدف، استخراج اسانس مرزنجوش باشد، باید از سایر ولتاژها و زمان های مختلف استفاده کرد تا منجر به افزایش استخراج اسانس شود.

نتیجه گیری

یافته های این پژوهش نشان داد که ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه در استخراج مواد مؤثره غیرفرار مرزنجوش مؤثرتر از سایر تیمارها بود و منجر به افزایش کلیه صفات اندازه گیری شده نسبت به

به طور کلی، این احتمال وجود دارد که ترکیبی از این سازوکارها منجر به تخریب دیواره سلولی توسط پلاسمای سرد شود. بائو و همکاران (Bao et al., 2020a) تغییرات قابل توجهی در ریخت شناسی سلولی تفاله انگور (*Vitis vinifera*) تیمار شده با ۶۰ کیلوولت پلاسمای سرد DBD به مدت ۵ دقیقه، ۱۰ دقیقه و ۱۵ دقیقه با میکروسکوپ الکترونی مشاهده کردند. در بررسی اثر پیش تیمار پلاسما بر استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه زوفا (*Hyssopus officinalis* L.)، گزارش شده است که پیش تیمار پلاسما موجب افزایش استخراج ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی در این گیاه شد. همچنین در این تحقیق نشان داده شده است که پیش تیمار پلاسما موجب کاهش زاویه تماس و در نتیجه افزایش آبدوستی سطح می شود (Ahmadian et al., 2023). بائو و همکاران (Bao et al., 2020b) در مطالعه پلاسمای سرد اتمسفر ولتاژ بالا با گازهای مختلف (هوا، آرگون، هلیوم و نیتروژن)، برای اصلاح سطح تفاله گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) با هدف تسهیل مهاجرت ترکیبات فنلی در حین استخراج و در نتیجه افزایش راندمان استخراج گزارش دادند که علاوه بر پاره شدن سلول های اپیدرمی تفاله گوجه فرنگی، تیمارهای پلاسمای سرد اتمسفر ولتاژ بالا برای کاهش زاویه تماس پوست با آب و تسریع خشک شدن میوه گوجه فرنگی، موجب آبدوست تر شدن سطوح تیمار شده می شود. تفاله گوجه فرنگی تیمار شده با پلاسمای هلیوم و نیتروژن، بازده استخراج ترکیبات فنلی را نزدیک به ۱۰ درصد افزایش داد و تمام تیمارهای پلاسمای سرد اتمسفر ولتاژ بالا، ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره تفاله گوجه فرنگی را افزایش داده و غلظت ترکیبات فنلی آن ها را کمی تغییر دادند. همچنین گزارش شده است که میزان ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی برگ های چای سبز

شاهد شد. همچنین کمترین میزان مواد مؤثره غیرفرار اندازه‌گیری شده در این تحقیق در تیمار ۳۰ کیلوولت به مدت شش دقیقه مشاهده گردید. تأثیر پیش‌تیمار پلاسما بر میزان استخراج اسانس معنی‌دار نبود. با این حال کمترین میزان اسانس در ولتاژ ۳۰ کیلوولت به مدت سه دقیقه مشاهده گردید و بیشترین میزان اسانس در شاهد مشاهده شد

که نشان‌دهنده تخریب غده‌های اسانس و از دست رفتن اسانس در این ولتاژ بود. به طور کلی با توجه به نتایج این تحقیق، استفاده از پیش‌تیمار ۳۰ کیلو ولت به مدت سه دقیقه جهت استخراج مواد مؤثره غیرفرار مرزنجوش پیشنهاد می‌گردد و برای استخراج اسانس از این گیاه ولتاژهای پایین‌تر توصیه می‌گردد.

References

- Ahmadian, S., Kenari, R.E., Amiri, Z.R., Sohbatazadeh, F., & Khodaparast, M.H.H. (2023). Effect of ultrasound-assisted cold plasma pretreatment on cell wall polysaccharides distribution and extraction of phenolic compounds from hyssop (*Hyssopus officinalis* L.). *International Journal of Biological Macromolecules*, 233, 123557. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123557>
- Bao, Y., Reddivari, L., & Huang, J.Y. (2020a). Enhancement of phenolic compounds extraction from grape pomace by high voltage atmospheric cold plasma. *LWT – Journal of Food Science and Technology*, 133, 109970. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109970>
- Bao, Y., Reddivari, L., & Huang, J.Y. (2020b). Development of cold plasma pretreatment for improving phenolics extractability from tomato pomace. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 65, 102445. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102445>
- Bassey, E.J., Cheng, J.H., & Sun, D.W. (2022). Thermoultrasound and microwave-assisted freeze-thaw pretreatments for improving infrared drying and quality characteristics of red dragon fruit slices. *Ultrasonics Sonochemistry*, 91, 106225. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106225>
- Birania, S., Attkan, A.K., Kumar, S., Kumar, N., & Singh, V.K. (2022). Cold plasma in food processing and preservation: A review. *Journal of Food Process*, 45, e14110. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14110>
- Broadhurst, R.B., & Jones, W.T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29, 788-794. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740290908>
- Danijela, B.K., Marta, M., Francisco, J.B., Daniel, G., Shahin, R., Kumar, M., Domenico, M., Jose, M.L., & Predrag, P. (2018). Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves: A review. *Food Chemistry*, 268, 513–521. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.091>
- Ghazanfari, N., Yazdi, F.T., Mortazavi, S.A., & Mohammadi, M. (2023). Using pulsed electric field pretreatment to optimize coriander seeds essential oil extraction and evaluate antimicrobial properties, antioxidant activity, and essential oil compositions. *LWT - Food Science and Technology*, 18, 114852. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114852>
- Huang, Q., Hong, T., Zheng, M., Yang, Y., Zhu, Y., Jiang, Z., Ni, H., & Li, Q. (2023). High-pressure homogenization treatment of red seaweed *Bangia fusco-purpurea* affects the physicochemical, functional properties and enhances in vitro anti-glycation activity of its dietary fibers. *Innovative Food Science and Emerging*, 86, 103369. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103369>
- Ijod, G., Musa, F.N., Anwar, F., Suleiman, N., Adzahan, N.M., & Azman, E.M. (2022). Thermal and nonthermal pretreatment methods for the extraction of anthocyanins: A review. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46, e17255. <https://dx.doi.org/10.1111/jfpp.17255>
- Karunanithi, S., Guha, P., & Srivastav, P.P., (2023). Cold plasma-assisted microwave pretreatment on essential oil extraction from betel leaves: Process optimization and its quality. *Food and Bioprocess Technology*, 16, 603–626. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02957-3>
- Keshavarzi, M., Najafi, G., Gavligi, H.A., Seyfi, P., & Ghomi, H. (2020). Enhancement of polyphenolic content extraction rate with maximal antioxidant activity from green tea leaves by cold plasma. *Journal of Food Science*, 85 (10), 3415–3422. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15448>
- Melotti, L., Martinello, T., Perazzi, A., Martinez, E., Zuin, M., Modenese, D., Cordaro, L., Ferro, S., Maccatrozzo, L., Iacopetti, I., & Patrino, M. (2021). Could cold plasma act synergistically with allogeneic mesenchymal stem cells to improve wound skin regeneration in a large size animal model? *Research in Veterinary Science*, 136, 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.01.019>
- Menichini, F., Tundis, R., Bonesi, M., Loizzo, M.R., Conforti, F., Statti, G., De Cindio, B., Houghton, P.J., & Menichini, F. (2009). The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv. Habanero. *Food Chemistry*, 114(2), 553-560. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.086>
- Morshedloo, M.R., Ahmadi, H., Pir, Ali Hamedani, M., & Yazdani, D. (2018). An over review to *Origanum vulgare* L. and its pharmacological properties. *Journal of Medicinal Plants*, 17(68), 15-31. (In Persian with English abstract). <http://jmp.ir/article-1-1809-en.html>

16. Mozaffarian, V.A. (1998). *Dictionary of Iranian Plants Names*. Farhange Moaser. Iran. pp. 381. (In Persian)
17. Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., & Altundag, S. (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chemistry*, 112, 874-879. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.061>
18. Popova, M., Bankova, V., Butovska, D., Petkov, V., Nikolova-Damyanova, B., Sabatini, A.G., Marcazzan, G.L., & Bogdanov, S. (2004). Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochemical Analysis*, 15, 235-240. <https://doi.org/10.1002/pca.777>
19. Qin, D., Xiang, B., Zhou, X., Qiu, S., & Xi, J. (2022). Microemulsion as solvent for naphthoquinones extraction from walnut (*Juglans mandshurica Maxim*) green husk using high voltage electrical discharge. *Separation and Purification Technology*, 281, 119983. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.119983>
20. Ray, A., Dubey, K.K., Marathe, S.J., & Singhal, R. (2023). Supercritical fluid extraction of bioactives from fruit waste and its therapeutic potential. *Food Bioscience*, 52, 102418. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102418>
21. Regan, C., Silvia, R., Daniel, M., Magda, C., & Francisc, M. (2023). Optimization of softwood pretreatment by microwave-assisted deep eutectic solvents at high solids loading. *Bioresource Technology*, 369, 128470. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128470>
22. Tan, J., Cui, P., Ge, S., Cai, X., Li, Q., & Xue, H. (2022). Ultrasound assisted aqueous two-phase extraction of polysaccharides from *Cornus officinalis* fruit: Modeling, optimization, purification, and characterization. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105966. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105966>
23. Tan, J., Hua, X., Liu, J., Wang, M., Liu, Y., Yang, R., & Cao, Y. (2020). Extraction of sunflower head pectin with superfine grinding pretreatment. *Food Chemistry*, 320, 126631. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126631>
24. Tran, N.T.K., Nguyen, V.B., Tran, T.V., & Nguyen, T.T.T. (2023). Microwave-assisted extraction of pectin from jackfruit rags: Optimization, physicochemical properties and antibacterial activities. *Food Chemistry*, 418, 135807. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135807>
25. Wang, Y., Zhou, X., Wei, S., Wang, G., & Xi, J. (2023). Current status and future challenges in extraction, purification and identification of cepharanthine (a potential drug against COVID-19). *Separation and Purification Technology*, 309, 123038. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.123038>
26. Wojdylo, A., Oszmianski, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 1005, 940-949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>
27. Xi, J., Wang, Y., Zhou, X., Wei, Sh., & Zhang, D. (2024). Cold plasma pretreatment technology for enhancing the extraction of bioactive ingredients from plant materials: A review. *Industrial Crops & Products*, 209, 117963. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.117963>
28. Yemm, E., & Willis, A. (1954). The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal*, 57(3), 508. <https://doi.org/10.1042/bj0570508>
29. Zhang, Z., Lu, J., Pan, Q., Cheng, Y., Tao, Y., Du, J., & Wang, H. (2023). Highly efficient pretreatment at low enzyme loading from reed: Synergy of liquid hot water-ammonia/oxygen and non-ionic surfactants as enzymatic hydrolysis additive. *Industrial Crops & Products*, 193, 116257. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116257>
30. Zhao, S., Baik, O.D., Choi, Y.J., & Kim, S.M. (2014). Pretreatments for the efficient extraction of bioactive compounds from plant-based biomaterials. *Critical Reviews in Food Science*, 54(10), 1283-1297. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.632698>