

ISSN: 3041-9638

<https://jrpsm.asnrkh.ac.ir/>

Open Access

Research Article

Effect of Sample Preparation Conditions on the Efficiency of Cold Plasma Pretreatment in the Extraction of Bioactive Compounds from Marjoram (*Origanum vulgare*)

S. Mohtashami¹ and M. Dalvi-Isfahan²¹Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran.²Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Fars, Iran.

Received: 24 Dec 2025

Accepted: 19 Jun 2026

Published: 19 Jun 2026

Corresponding Author:

Saeideh Mohtashami

Email:

mohtashamis@yahoo.co.m

Keywords:

Antioxidant activity, Phenolic compounds, Secondary metabolites, Plasma.

Citation:

Mohtashami, S., Dalvi-Isfahan, M. (2026). Effect of Sample Preparation Conditions on the Efficiency of Cold Plasma Pretreatment in the Extraction of Bioactive Compounds from Marjoram (*Origanum vulgare*). *Journal of Research in Plant Metabolites*, 4(1), 49-61.

Doi:10.22034/jrpsm.2026.565335.1103

Extended Abstract

Background and Objectives: Marjoram (*Origanum vulgare*) is a medicinal plant belonging to the Lamiaceae family. The aerial parts of this plant are rich in essential oils and valuable phenolic compounds and, due to the presence of thymol, it has been extensively used in traditional medicine. Efficient and selective extraction of volatile and non-volatile compounds from plant matrices is often associated with limitations such as thermal degradation of chemical constituents, prolonged extraction time, high consumption of organic solvents, and the risk of degradation of sensitive biomolecules. Therefore, the development of green and non-thermal extraction approaches such as cold plasma pretreatment aimed at enhancing extraction efficiency while preserving bioactivity is of great importance for the food and pharmaceutical industries. The present study was conducted to investigate the effect of different sample preparation conditions during the cold plasma pretreatment stage on the extraction of bioactive constituents from the aerial parts of marjoram. Cold plasma, has demonstrated a significant potential to enhance the extraction process through the generation of reactive oxygen and nitrogen species and the induction of microstructural modifications in the cell wall and cellular matrix, leading to increased tissue permeability and facilitating solvent penetration and the release of secondary plant metabolites.

Materials and Methods: This study was conducted in a completely randomized design with four treatments and three replications. The treatments included dried powdered samples without solvent, dried unpowdered samples without solvent, powdered samples with solvent that were subjected to plasma pretreatment before extraction, and a control sample without plasma pretreatment. In this research, a dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma system was used. After treatment application, extraction was carried out using 70% methanol at a ratio of 5:1 (solvent volume to sample weight) by the maceration method. The antioxidant activity was evaluated using the free radical scavenging assay based on DPPH. Total phenolic content was determined using the Folin-Ciocalteu reagent, and the results were expressed as milligrams of gallic acid equivalent per gram of dry weight. The amounts of flavones, flavonols, and total flavonoids were determined by the colorimetric method using aluminum chloride reagent. Total tannin content was determined using the colorimetric method based on vanillin-hydrochloric acid reagent, and the results were reported as milligrams of catechin equivalent per gram of dry weight. Total carbohydrate content was measured by the colorimetric method using anthrone reagent. The data obtained from the measurement of different traits were analyzed using JMP software, and mean comparisons were performed using Tukey's test.

Results: The results indicated that sample preparation conditions had a significant effect on most phytochemical attributes. The powdered samples treated with solvent exhibited the highest antioxidant activity (79.21%) and the greatest contents of flavones and flavonols (0.81 mg quercetin equivalents g⁻¹ dry weight), total phenolics (93.36 mg gallic acid equivalents g⁻¹ dry weight), and total flavonoids (10.37 mg quercetin equivalents g⁻¹ dry weight). In contrast, the lowest values for most compounds were observed in powdered samples without solvent. The addition of solvent increased antioxidant activity by 34.94% and total phenolic content by 26.37%. The highest tannin content (6.80 mg catechin equivalents g⁻¹ dry weight) was recorded in powdered samples without solvent, whereas the lowest value (3.41 mg catechin equivalents g⁻¹ dry weight) was observed in non-powdered samples without solvent, with no significant difference compared to the control and powdered samples with solvent. Unlike other measured traits, powdering the samples without solvent led to a 99.41% increase in tannin content. These findings suggest that powdering the samples in the presence of solvent during cold plasma pretreatment enhances the release and extraction of most secondary metabolites, while tannins respond differently.

Conclusion: The findings demonstrated that cold plasma pretreatment combined with powdered sample preparation in the presence of solvent is the most effective approach for extracting secondary metabolites from marjoram extracts, including phenolic compounds, flavonoids, tannins, and total carbohydrates. This strategy can be considered a green and efficient method for producing plant extracts with high bioactivity. However, further optimization of plasma and extraction parameters, as well as evaluation of extract quality and stability, is required to facilitate industrial-scale applications. Appropriate selection of sample preparation conditions in plasma-based processes plays a crucial role in determining the composition and quality of marjoram extracts.





دسترسی رایگان

مقاله پژوهشی

شماره شایا: ۳۰۴۱-۹۶۳۸

تأثیر شرایط آماده‌سازی نمونه بر کارایی پیش‌تیمار پلاسمای سرد در استخراج ترکیبات زیست‌فعال از گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare*)

سعیده محتشمی^۱ و محسن دلوی اصفهانی^۲

^۱ گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران.

^۲ گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران.

تاریخ انتشار: ۱۴۰۵/۰۲/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۲/۲۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۰۳

نویسنده مسئول:

سعیده محتشمی

ایمیل:

mohtashamis@yahoo.com

چکیده

سابقه و هدف: مرزنجوش (*Origanum vulgare*) یکی از گیاهان دارویی از خانواده نعنائیان است. پیکره رویشی این گیاه حاوی اسانس و ترکیبات فنلی ارزشمند بوده و به دلیل وجود تیمول، کاربرد گسترده‌ای در طب سنتی دارد. استخراج کارآمد و انتخابی ترکیبات فرار و غیرفرار از ماتریکس‌های گیاهی همواره با محدودیت‌هایی نظیر تغییر ترکیب شیمیایی با حرارت، طولانی بودن فرآیند استخراج، مصرف بالای حلال‌های آلی و تخریب بیومولکول‌های حساس مواجه است؛ از این رو توسعه روش‌های سبز و غیرگرمایی مانند پیش‌تیمار پلاسمای سرد با هدف افزایش کارایی استخراج و حفظ فعالیت زیستی ترکیبات، برای صنایع غذایی و دارویی از اهمیت بالایی برخوردار است. پژوهش حاضر به بررسی تأثیر حالت‌های مختلف آماده‌سازی نمونه در مرحله پیش‌تیمار پلاسما بر استخراج مواد مؤثره از پیکره رویشی مرزنجوش می‌پردازد. پلاسمای سرد، توانایی قابل‌توجهی در بهبود فرآیند استخراج ترکیبات زیست‌فعال از گیاهان دارویی نشان داده است؛ به‌طوری‌که از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیترژن و القای تغییرات میکروساختاری در دیواره و ماتریکس سلولی، نفوذپذیری بافت افزایش یافته و در نتیجه، نفوذ حلال و آزادسازی متابولیت‌های ثانویه گیاهی با سرعت و کارایی بیشتری انجام می‌گیرد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار اجرا شد. تیمارها شامل نمونه خشک پودر شده بدون حلال، نمونه خشک پودر نشده بدون حلال، نمونه پودر شده با حلال که قبل از عصره‌گیری در معرض پیش‌تیمار پلاسما قرار کردند و نمونه شاهد که بدون پیش‌تیمار پلاسما بود. در این تحقیق از دستگاه پلاسمای سرد تخلیه دی‌الکتریک استفاده شد. پس از اعمال تیمارها، عصره‌گیری با استفاده از متانول ۷۰ درصد با نسبت پنج به یک (حجمی-وزنی حلال به نمونه) به روش خیساندن انجام شد. ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، با استفاده از آزمون مهار رادیکال‌های آزاد DPPH انجام شد. تعیین محتوای فنل کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالنتو انجام شد و نتایج به صورت میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن خشک اندازه‌گیری شد. تعیین مقادیر فلاون‌ها و فلاونول‌ها و فلاونوئیدها بر اساس روش رنگ سنجی با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم انجام و تعیین محتوای تانن کل، با استفاده از روش رنگ‌سنجی مبتنی بر معرف وانیلین - اسیدکلریدریک انجام شد و نتایج به صورت میلی‌گرم معادل کاتکین در هر گرم وزن خشک گزارش گردید. مقدار کربوهیدرات کل، بر اساس روش رنگ سنجی با استفاده از معرف آنترون اندازه‌گیری شد. داده‌های بدست آمده از اندازه‌گیری صفات مختلف با استفاده از نرم افزار جامپ و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی انجام شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد نوع آماده‌سازی نمونه تأثیر معنی‌داری بر غلظت بیشتر شاخص‌های فیتوشیمیایی داشت. تیمار پودر شده همراه با حلال بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۹/۲۱ درصد) و بالاترین مقادیر فلاون‌ها و فلاونول‌ها (۰/۸۱ میلی‌گرم معادل کورنستین بر گرم نمونه خشک)، ترکیبات فنلی (۹۳/۳۶ میلی‌گرم معادل گالیک‌اسید بر گرم نمونه خشک) و فلاونوئیدهای کل (۱۰/۳۷ میلی‌گرم معادل کورنستین بر گرم نمونه خشک) را نشان داد؛ درحالی‌که کمترین مقادیر اغلب ترکیبات در نمونه پودر شده بدون حلال مشاهده شد. اضافه کردن حلال باعث افزایش ۳۴/۹۴ درصدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اضافه کردن و افزایش ۲۶/۳۷ درصدی در میزان ترکیبات فنلی عصره گردید. همچنین بالاترین میزان تانن (۶/۸۰ میلی‌گرم معادل کاتکین بر گرم نمونه خشک) مربوط به تیمار پودر شده بدون حلال بود. درحالی‌که کمترین میزان (۳/۴۱ میلی‌گرم) مربوط به نمونه پودر شده بدون حلال بود که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد و نمونه پودر شده با حلال نداشت. در رابطه با تانن، برخلاف سایر صفات اندازه‌گیری شده، پودر کردن نمونه‌ها بدون اضافه کردن حلال باعث افزایش ۹۹/۴۱ درصدی میزان ترکیبات تاننی گردید. این نتایج بیانگر آن است که پودر شدن همراه با حضور حلال در مرحله پیش‌تیمار پلاسما، آزادسازی و استخراج اغلب متابولیت‌های ثانویه را تقویت می‌کند؛ در حالی‌که پاسخ تانن‌ها به این شرایط متفاوت بود.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد که جهت استخراج متابولیت‌های ثانویه موجود در عصره مرزنجوش مانند ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، ترکیبات تاننی و کربوهیدرات کل، کاربرد پیش‌تیمار پلاسمای سرد و آماده‌سازی نمونه به شکل پودر شده همراه با حلال، مطلوب‌ترین گزینه می‌باشد. این راهکار می‌تواند به‌عنوان یک روش سبز و کارآمد در استخراج عصره‌های گیاهی با فعالیت زیستی بالا مورد توجه قرار گیرد؛ با این حال برای تعمیم نتایج به مقیاس صنعتی، نیاز به بهینه‌سازی دقیق پارامترهای پلاسما و استخراج و بررسی کیفیت و پایداری عصره وجود دارد. انتخاب شرایط آماده‌سازی نمونه در فرایندهای مبتنی بر پلاسما نقش تعیین‌کننده‌ای در ترکیب و کیفیت عصره مرزنجوش دارد.

واژه‌های کلیدی: پلاسما، ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی-اکسیدانی، متابولیت‌های ثانویه.

نحوه استاندارد:

محتشمی، س.، دلوی-اصفهانی، م (۱۴۰۵). تأثیر شرایط آماده‌سازی نمونه بر کارایی پیش‌تیمار پلاسمای سرد در استخراج ترکیبات زیست‌فعال از گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare*). مجله پژوهش در متابولیت‌های گیاهی، دوره ۴، شماره ۱، صفحات: ۴۹-۶۱.
Doi:10.22034/jrpsm.2026.565335.1103

مقدمه

مرزنجوش (*Origanum vulgare*) یکی از گیاهان دارویی مهم از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) می باشد که در مناطق مدیترانه ای و ایران کشت می شود. پیکره رویشی این گیاه منابع مهمی از اسانس، فلاونوئیدها و فنول ها می باشد. این گیاه به علت دارا بودن ترکیب تیمول، دارای خواصی شبیه به آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) بوده و در طب سنتی از آن به عنوان دارویی مقوی، قاعده آور، ضدنفخ، ملین، مدر، مقوی معده و آرام بخش اعصاب استفاده می شود (Mohtashami, 2026). ترکیبات موجود در اسانس و عصاره های مرزنجوش خواص ضدباکتریال، ضدقارچی، ضدالتهابی، آنتی اکسیدانی و برخی فعالیت های ضدسرطانی و ضدافسردگی یا آرام بخشی را نشان داده اند؛ از این رو مرزنجوش در داروسازی سنتی و مدرن، صنایع غذایی (به عنوان نگهدارنده طبیعی و طعم دهنده)، آرایشی-بهداشتی و تولید محصولات گیاهی و نوتراسوتیکال (Nutraceutical) کاربرد دارد. این گیاه معمولاً به عنوان یک گیاه طعم دهنده در تولید و صنعت مواد غذایی و برای طعم دادن به سالادها، سوپ ها، ماهی، پیتزا، گوشت های فرآوری شده و سایر مواد خوراکی استفاده می شود. علاوه بر این، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی این گیاه برای توسعه غذاهای فراسودمند و افزودنی های طبیعی مورد توجه قرار گرفته اند (Jafari Khorsand et al., 2022).

استخراج موثر و انتخاب پذیر ترکیبات فرآر و غیرفرآر از ماتریکس گیاهی همواره با چالش هایی از جمله تغییرات ترکیب بر اثر حرارت، زمان طولانی استخراج، مصرف زیاد حلال های آلی و ریسک تخریب بیومولکول های حساس همراه است. بنابراین توسعه روش های سبز و غیرگرمایی که بازده استخراج را بالا برده و در عین حال بیواکتیویته را حفظ کنند، برای صنایع غذایی و دارویی حیاتی است. پلاسما به عنوان چهارمین حالت ماده تعریف می شود. در واقع پلاسما حالتی از ماده است که در آن یک گاز خنثی مانند هوا، نیتروژن، اکسیژن، هلیوم، آرگون و ... تحت تأثیر میدان الکتریکی قوی یونیزه شده و به مجموعه ای از الکترون های آزاد، یون های مثبت و منفی، رادیکال ها، گونه های برانگیخته و فوتون های فرابنفش تبدیل می شود. پلاسماها به طور کلی به دو گروه حرارتی و غیرحرارتی یا سرد طبقه بندی می شوند. پلاسما سرد، در دماهای نزدیک به محیط عمل می کند و به دلیل تولید گونه های واکنشی متعدد بدون ایجاد گرمای موضعی بالا، مورد توجه قرار گرفته است. به دلیل مزایایی مانند مصرف انرژی پایین، کارایی بالا، عدم نیاز به شرایط خلأ و سازگاری زیست محیطی، پلاسماهای سرد به ابزاری نوظهور و ارزشمند در حوزه های مختلف از جمله صنایع غذایی و دارویی، ضدعفونی و ایمنی زیستی، بهداشت و

محیط زیست و کاربردهای زیست پزشکی تبدیل شده اند (Rzazian et al., 2026; Mohtashami, 2026).

پیش تیمار با پلاسما (به ویژه پلاسمای سرد در فشار اتمسفری) نشان داده است که می تواند استخراج ترکیبات زیست فعال گیاهان دارویی را به طور قابل توجهی بهبود بخشد. پلاسما با تولید گونه های واکنش پذیر اکسیژن و نیتروژن (ROS/RNS) ایجاد تغییرات میکروساختاری در دیواره و ماتریکس سلولی (خراش خوردگی سطحی و اختلال پیوندهای پلی ساکاریدی/لیگنین) و افزایش نفوذپذیری بافت، شرایطی فراهم می آورد که نفوذ حلال به داخل بافت و آزادسازی پلی فنول ها، فلاونوئیدها و اسانس ها آسان تر و سریع تر شود (Maleki-Bohlooli et al., 2025; Rzazian et al., 2025). در مطالعات آزمایشی روی برگ چای سبز نشان داده است که با استفاده از پلاسمای سرد DBD نیتروژن و توان ۱۵ وات برای ۱۵ دقیقه، مقدار ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب حدود ۴۱/۱۴ درصد و ۴۱/۰۶ درصد افزایش یافته و محتوای کاتچین نیز بیش از ۱۰۳ درصد افزایش را تجربه کرده است (Keshavarzi et al., 2020). Heydari et al. (2023) نشان داده اند که در مطالعات مختلف روی ماتریکس های گیاهی متفاوت (سبزی، میوه، گیاهان دارویی و ...)، استفاده از پلاسمای سرد معمولاً باعث افزایش محتوای فنول کل، ظرفیت آنتی اکسیدانی و در برخی موارد افزایش بازده اسانس و ترکیبات فرآر شده است؛ با این حال، بسته به گونه گیاهی، ترکیب شیمیایی و شرایط پلاسما، نتایج می تواند متفاوت باشد.

اگرچه گزارش شده است که پیش تیمارهای پلاسمای سرد می توانند بازده استخراج و محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره ها را افزایش دهند اما در عمل، بهره برداری موفق وابسته به پارامترهای عملیاتی (ولتاژ یا توان، زمان تابش، نوع گاز و فاصله الکترودی) است و ترکیب بهینه باید برای هر ماتریکس گیاهی تعیین شود. از سوی دیگر، تولید ROS و RNS می تواند در شرایط نامطلوب به اکسیداسیون یا تخریب بخشی از ترکیبات حساس منجر شود؛ بنابراین ارزیابی تعادل بین افزایش بازده و حفظ سالم ترکیبات زیست فعال ضروری است (Heydari et al., 2023). مطالعات محدودی در ارتباط با تأثیر پلاسمای سرد بر استخراج مواد موثره گیاهان دارویی انجام شده است که در همه آنها به بررسی متغیرهایی وابسته به شرایط دستگاه و تولید پلاسما از جمله ولتاژ یا توان، زمان تابش، نوع گاز و فاصله الکترودی پرداخته شده است، اما تاکنون مطالعه ای مبنی بر نوع آماده سازی نمونه های گیاهان دارویی جهت اعمال پیش تیمار پلاسما بر روی آنها انجام نشده است. لذا با

و سپس در دستگاه پلاسمای سرد DBD با ولتاژ ۲۰ کیلوولت به مدت ۳ دقیقه قرار داده شد. برای نمونه خشک پودر نشده بدون اضافه کردن حلال، ۵ گرم از پیکره رویشی خشک گیاه مرزنجوش را برداشته و در دستگاه پلاسمای سرد DBD با ولتاژ ۲۰ کیلوولت به مدت ۳ دقیقه قرار داده شد. برای نمونه شاهد ۵ گرم از پیکره رویشی خشک گیاه مرزنجوش را وزن کرده و هیچ‌گونه پیش‌تیمار پلاسمای بر روی آن اعمال نشد. پس از اعمال پیش‌تیمار پلاسمای، نمونه‌های خشک پودر نشده و شاهد به وسیله آسیاب برقی پودر شدند. سپس جهت عصاره‌گیری از نمونه‌ها به همه آن‌ها به جز نمونه خشک پودر شده‌ای که قبلاً حلال به آن افزوده شده بود، میزان ۲۵ میلی‌لیتر حلال متانول ۷۰ درصد افزوده گردید. برای نمونه خشک پودر شده‌ای که قبلاً حلال به آن افزوده شده بود، به جای ۲۵ میلی‌لیتر حلال، ۱۵ میلی‌لیتر حلال به آن اضافه شد. سپس عصاره‌گیری از همه نمونه‌ها به روش زیر انجام شد.

عصاره‌گیری: فرآیند استخراج ترکیبات بر اساس پروتکل عمومی ارائه‌شده توسط Wojdylo *et al* (2007) و با اصلاحات اندک انجام گرفت. در این روش، به همه نمونه‌ها مقدار ۲۵ میلی‌لیتر متانول ۷۰ درصد افزوده شد تا نسبت نهایی حلال به ماده گیاهی حدود پنج به یک برقرار شود. نمونه‌ها به مدت ۲۰ ساعت روی شیکر با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه قرار داده شدند. پس از استخراج، محلول‌ها جهت ته‌نشینی ذرات جامد به مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند و فاز مایع رویشی جمع‌آوری گردید. بخش جداسازی‌شده به عنوان عصاره نهایی مورد استفاده قرار گرفت و در ادامه برای سنجش شاخص‌های فیتوشیمیایی شامل ارزیابی پتانسیل آنتی‌اکسیدانی، مقدار ترکیبات فنلی کل، فلاون‌ها و فلاونول‌ها، فلاونوئید کل، تانن، و همچنین کربوهیدرات کل به کار گرفته شد (Mohtashami & Ghani, 2025).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی: برای ارزیابی توان آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها، آزمون مهار کردن رادیکال آزاد DPPH (2,2-diphenylpicrylhydrazyl) به روش Oke *et al* (2009) با اندکی تغییرات مورد استفاده قرار گرفت. در این روش، ۲۰ میکرولیتر از عصاره هر تیمار درون لوله‌های آزمایش قرار داده شد و سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر محلول DPPH با غلظت ۰/۰۴ درصد به آن افزوده گردید. برای نمونه شاهد، به جای عصاره گیاهی، حجم مشابهی متانول اضافه شد. پس از اختلاط اولیه به وسیله شیکر انگشتی به مدت حدود پنج ثانیه، محلول‌ها در دمای محیط و شرایط تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند تا واکنش کامل شود. در ادامه، میزان جذب نوری محلول‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با

توجه به اهمیت این موضوع، در این مقاله، تأثیر شرایط نمونه‌های گیاهی جهت اعمال پیش‌تیمار پلاسمای و تأثیر آن بر بازده استخراج عصاره و ترکیبات فیتوشیمیایی مرزنجوش مورد بررسی قرار گرفت. هدف، تعیین شرایط بهینه‌ای بود که بیشترین افزایش در بازده استخراج و حفظ ترکیبات زیست‌فعال را فراهم سازد و هم‌زمان اطلاعاتی کاربردی برای به‌کارگیری پلاسمای در فرآیندهای صنعتی استخراج عصاره‌های گیاهی ارائه دهد.

مواد و روش‌ها

پیکره رویشی گیاهان مرزنجوش در اردیبهشت ماه ۱۴۰۳ مصادف با مرحله گل‌دهی کامل، از سطح حدود ۱۰ سانتی‌متری خاک از مزرعه گیاهان دارویی دانشگاه جهرم (شهرستان جهرم، استان فارس: ۲۸ درجه و ۵۳ دقیقه عرض جغرافیایی، ۱۰۸۲ متر ارتفاع از سطح دریا) برداشت و در شرایط سایه در دمای آزمایشگاه ($30 \pm 2^\circ\text{C}$) خشک شدند. پس از خشک شدن (گذشت پنج روز)، نمونه‌ها در سه حالت متفاوت، تحت تأثیر پیش‌تیمار پلاسمای سرد تخلیه سد دی‌الکتریک (DBD) قرار گرفتند به‌طوری که هوای اتمسفر به عنوان گاز حامل بود و از ولتاژ ۲۰ کیلوولت و زمان سه دقیقه استفاده شد. سپس از نمونه‌های پیش‌تیمار شده عصاره‌گیری انجام شد و برخی از مواد موثره این گیاه مانند فعالیت آنتی-اکسیدانی، میزان ترکیبات فنلی کل، فلاون‌ها و فلاونول‌ها، فلاونوئید کل، میزان تانن و کربوهیدرات کل اندازه‌گیری شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها و پیش‌تیمار پلاسمای: در این پژوهش جهت اعمال تیمارها، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار اجرا گردید. تیمارها شامل چهار حالت مختلف نمونه‌های گیاهی جهت اعمال پیش‌تیمار پلاسمای، شامل نمونه خشک پودر شده بدون اضافه کردن حلال، نمونه خشک پودر نشده بدون اضافه کردن حلال، نمونه خشک پودر شده با اضافه کردن حلال و شاهد یا بدون اعمال پیش‌تیمار پلاسمای بود.

اعمال پیش‌تیمار پلاسمای جهت بررسی اثر آن بر ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره، بدین صورت بود که برای حالت نمونه خشک پودر شده بدون اضافه کردن حلال، مقداری از پیکره رویشی خشک گیاه مرزنجوش به وسیله آسیاب برقی پودر شد و سپس ۵ گرم از آن را برداشته و در دستگاه پلاسمای سرد DBD با ولتاژ ۲۰ کیلوولت به مدت ۳ دقیقه قرار داده شد. برای نمونه خشک پودر شده با اضافه کردن حلال، مقداری از پیکره رویشی خشک گیاه مرزنجوش به وسیله آسیاب برقی پودر شد و سپس ۵ گرم از آن را برداشته و ۱۰ میلی‌لیتر حلال متانول ۷۰ درصد به آن اضافه گردید

پس از آماده سازی، جذب نوری محلول ها در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری گردید. نهایتاً، مقادیر به دست آمده با بهره گیری از منحنی استاندارد حاصل از غلظت های مختلف کوثرستین به غلظت تبدیل شد و نتایج به صورت میلی گرم معادل کوثرستین در گرم وزن خشک گیاه گزارش گردید (Ghani et al., 2022).

اندازه گیری میزان تانن: برای تعیین محتوای تانن کل، از روش رنگ سنجی مبتنی بر معرف وانیلین - اسید کلریدریک استفاده گردید. در این فرایند، مقدار ۵۰۰ میکرولیتر از هر عصاره در لوله آزمایش قرار داده شد و سپس ۳ میلی لیتر محلول وانیلین ۴ درصد به آن افزوده و به طور یکنواخت مخلوط شد. پس از آن، ۱/۵ میلی لیتر اسید کلریدریک اضافه و محلول مجدداً به خوبی همگن گردید. مخلوط تهیه شده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط و در شرایط تاریکی نگهداری شد. در گام بعد، جذب نمونه ها در طول موج ۵۰۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. مقادیر جذب به کمک منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت های مختلف کاتکین محاسبه و نتایج به صورت میلی گرم معادل کاتکین در هر گرم وزن خشک نمونه گزارش گردید (Mohtashami et al., 2025).

اندازه گیری کربوهیدرات کل: برای تعیین مقدار کربوهیدرات کل از معرف آنترون استفاده گردید. بدین صورت که ابتدا مقدار ۰/۱ میلی لیتر از عصاره هر نمونه به داخل لوله آزمایش انتقال یافت و سپس ۳ میلی لیتر محلول آنترون به آن افزوده شد. نمونه های تهیه شده به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب در حال جوش قرار گرفتند و پس از آن جهت خنک سازی در آب سرد گذاشته شدند. جذب محلول ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. مقدار نهایی کربوهیدرات، با بهره گیری از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت های مختلف گلوکز خالص محاسبه و نتایج به صورت میلی گرم معادل گلوکز در گرم وزن خشک بیان گردید (Ghani et al., 2022).

آنالیز آماری: در این پژوهش، آزمایشی به صورت طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار اجرا گردید. داده های بدست آمده از اندازه گیری صفات مختلف با استفاده از نرم افزار JMP نسخه ۸ و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون توکی (Tukey) در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) تأثیر تیمارها بر کلیه صفات اندازه گیری شده ($p < 0.01$) معنی دار گردید که نتایج آن به تفصیل در ادامه آمده است.

استفاده از اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد و درصد مهار رادیکال آزاد به عنوان شاخص فعالیت آنتی اکسیدانی بر اساس رابطه ۱ زیر محاسبه گردید:

رابطه ۱: $100 \times \text{عدد جذب شاهد} / (\text{عدد جذب نمونه} - \text{عدد جذب شاهد}) = \text{درصد فعالیت آنتی اکسیدانی}$

اندازه گیری ترکیبات فنلی کل: برای سنجش میزان ترکیبات فنلی کل از روش فولین-سیوکالتئو بهره گیری شد. بدین منظور، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره هر تیمار با معرف فولین ۵۰ درصد مخلوط گردید. سپس ۲ میلی لیتر آب مقطر به محلول افزوده شد و پس از گذشت حدود سه دقیقه، یک میلی لیتر محلول ۲۰ درصد کربنات سدیم اضافه و محتویات به وسیله شیکر انگشتی به مدت حدود ۱۰ ثانیه یکنواخت شد تا واکنش به طور کامل انجام گیرد. محلول های تهیه شده به مدت یک ساعت در دمای محیط و در تاریکی قرار داده شدند و پس از آن مقدار جذب نوری در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. اندازه گیری ها با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت های مختلف گالیک اسید کمی سازی گردید و نتایج به صورت میلی گرم معادل گالیک اسید در هر گرم وزن خشک نمونه بیان شد (Wojdylo et al., 2007).

اندازه گیری میزان فلاون ها و فلاونول ها: برای تعیین مقدار فلاون ها و فلاونول ها، ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره هر تیمار در داخل لوله آزمایش منتقل گردید. سپس مقدار ۲ میلی لیتر متانول و پس از آن ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۵ درصد کلرید آلومینیوم افزوده شد و در نهایت، حجم مخلوط با متانول به ۵ میلی لیتر رسانده شد. محلول های تهیه شده به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و در دمای اتاق قرار گرفتند و پس از آن میزان جذب نوری نمونه ها در طول موج ۴۲۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. غلظت فلاون ها و فلاونول ها با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شده از غلظت های مختلف کوثرستین محاسبه و نتایج به صورت میلی گرم معادل کوثرستین بر گرم وزن خشک بیان گردید (Popova et al., 2004).

اندازه گیری فلاونوئیدها: برای سنجش محتوای فلاونوئید کل، از روش تغییر یافته منی چینی (Menichini et al., 2009) استفاده شد. ابتدا یک میلی لیتر از عصاره هر نمونه به درون لوله آزمایش منتقل شد. سپس ۳۰۰ میکرولیتر محلول ۵ درصد نیتريت سدیم افزوده گردید. پس از گذشت پنج دقیقه، ۶۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد به مخلوط اضافه شد و شش دقیقه بعد، مقدار ۴ میلی لیتر محلول سود نیم نرمال به آن افزوده شد. در ادامه با استفاده از متانول، حجم نهایی نمونه ها به ۱۰ میلی لیتر تنظیم شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تاثیر وضعیت‌های مختلف آماده‌سازی نمونه در پیش تیمار پلاسما سرد بر ویژگی‌های بیوشیمیایی عصاره گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare*)

Table 1. Analysis of variance (mean squares) for the effects of different sample preparation conditions in cold plasma pretreatment on the biochemical characteristics of *Origanum vulgare* extract

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی Df	فعالیت آنتی- اکسیدانی Antioxidant activity	فنل کل Total phenol	فلاون و فلاونول Flavone and flavonol	فلاونوئید کل Total flavonoid	میزان تانن Tannin content	کربوهیدرات کل Total carbohydrate
تیمار Time	3	312.86**	209.71**	0.032**	4389.8**	7.41**	5066.19**
خطا Error	11	3.46	7.20	0.002	50.11	0.10	314.42
ضریب تغییرات (%) CV (%)	-	13.27	9.24	14.77	19.23	32.36	22.13

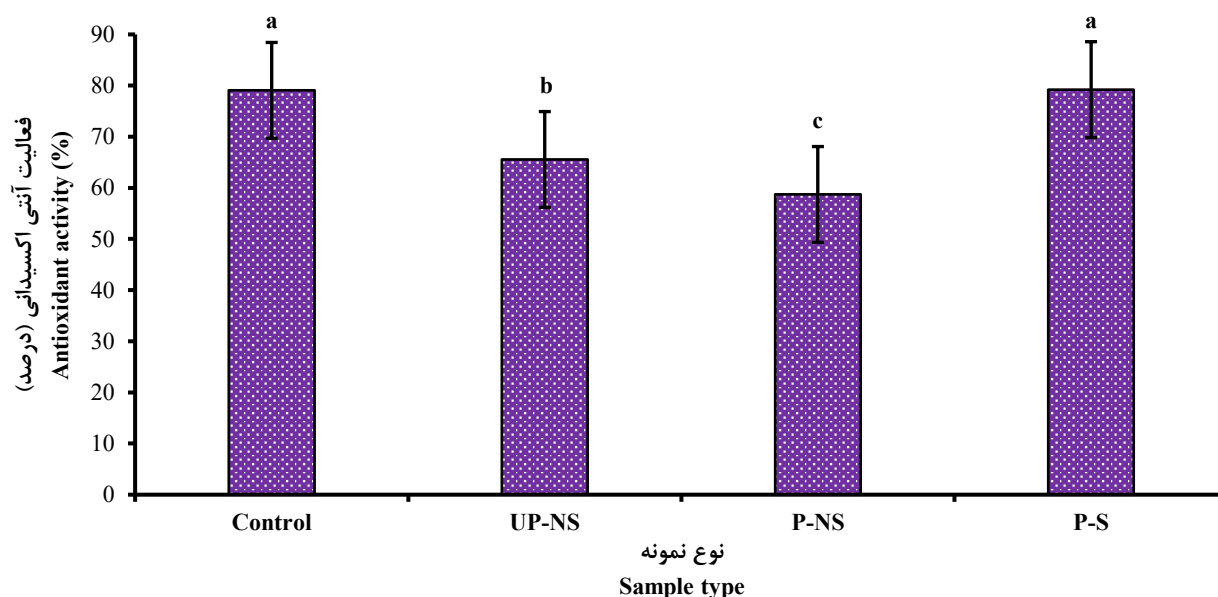
ns و ** و *** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم معنی‌داری.

*, ** ns: Significant at 5% and 1% probability level and no significant, respectively.

میزان فلاون‌ها و فلاونول‌ها و فلاونوئیدهای کل: بیشترین میزان فلاون‌ها و فلاونول‌ها (۰/۸۱ میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم نمونه خشک) مربوط به نمونه پودر شده با حلال بود که در مقایسه با شاهد ۱۵/۷۱ درصد بیشتر بود. همچنین بین نمونه شاهد و نمونه پودر نشده بدون حلال اختلاف معنی‌داری از این نظر وجود نداشت. درحالی‌که کمترین میزان (۰/۵۵ میلی گرم) مربوط به نمونه پودر شده بدون حلال بود. اضافه کردن حلال به نمونه پودر شده باعث افزایش استخراج فلاون‌ها و فلاونول‌ها (۴۷/۲۷ درصد) نسبت به نمونه پودر شده بدون حلال گردید (شکل ۳). بیشترین میزان فلاونوئید کل (۱۰/۳۷ میلی گرم معادل کوئرستین بر گرم نمونه خشک) مربوط به نمونه پودر شده با حلال بود که اختلاف معنی-داری با نمونه شاهد و نمونه پودر نشده بدون حلال نداشت. درحالی-که کمترین میزان (۶/۲۸ میلی گرم) در نمونه پودر شده بدون اضافه کردن حلال، باعث کاهش ۶۵/۱۸ درصدی میزان فلاونوئیدها گردید. همچنین این نتایج نشان می‌دهد که تاثیر پیش تیمار پلاسما بر نمونه‌های پودر نشده و بدون حلال بسیار جزئی یا بدون تاثیر می-باشد (شکل ۳).

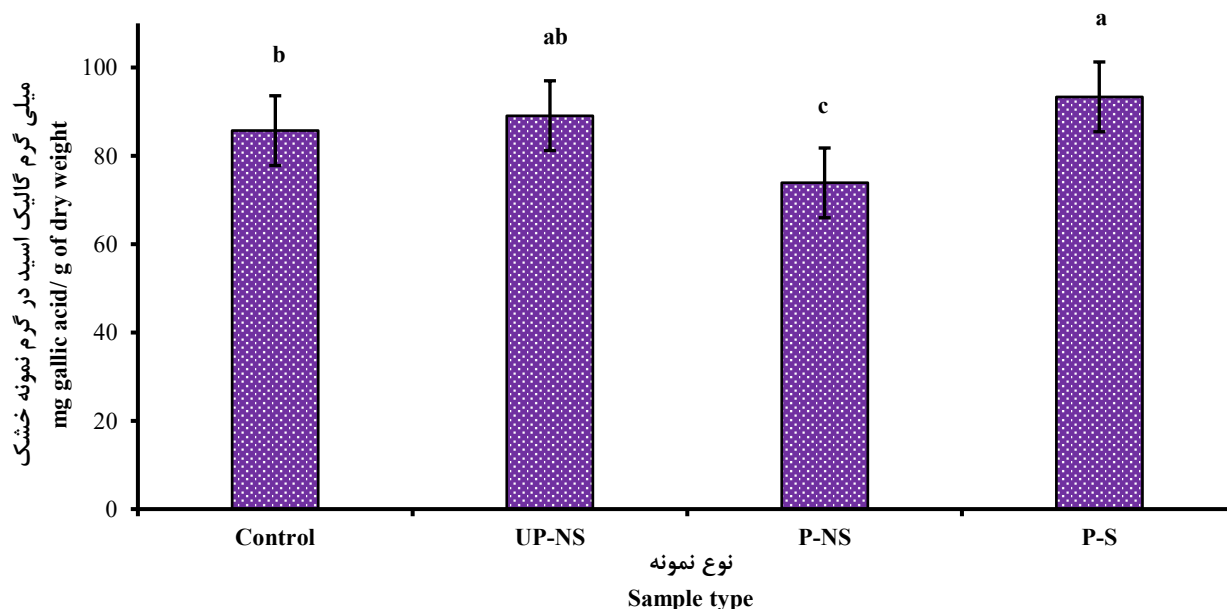
میزان فعالیت آنتی اکسیدانی: تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره مرزنجوش تحت تاثیر آماده سازی نمونه‌ها در پیش تیمار پلاسما سرد قرار گرفت. به طوری که بالاترین میزان فعالیت آنتی-اکسیدانی (۷۹/۲۱ درصد) مربوط به نمونه پودر شده با حلال بود که اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت. درحالی‌که کمترین میزان (۵۸/۷۰ درصد) مربوط به نمونه پودر شده بدون حلال بود. اضافه کردن حلال باعث افزایش ۳۴/۹۴ درصدی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گردید (شکل ۱).

میزان ترکیبات فنلی کل: مقدار ترکیبات فنلی کل به عنوان یکی از مهمترین ترکیبات موجود در عصاره گیاه مرزنجوش، تحت تاثیر نوع نمونه در شرایط پیش تیمار پلاسما قرار گرفت. به طوری که بالاترین میزان ترکیبات فنلی (۹۳/۳۶ میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم نمونه خشک) در نمونه پودر شده با حلال اندازه گیری شده که اختلاف معنی‌داری با نمونه پودر نشده بدون حلال از نظر آماری نداشت. درحالی‌که کمترین میزان (۷۳/۸۸ میلی گرم) در نمونه پودر شده بدون حلال اندازه گیری شد. اضافه کردن حلال به نمونه‌های پودر شده باعث افزایش ۲۶/۳۷ درصدی در میزان ترکیبات فنلی گردید (شکل ۲).



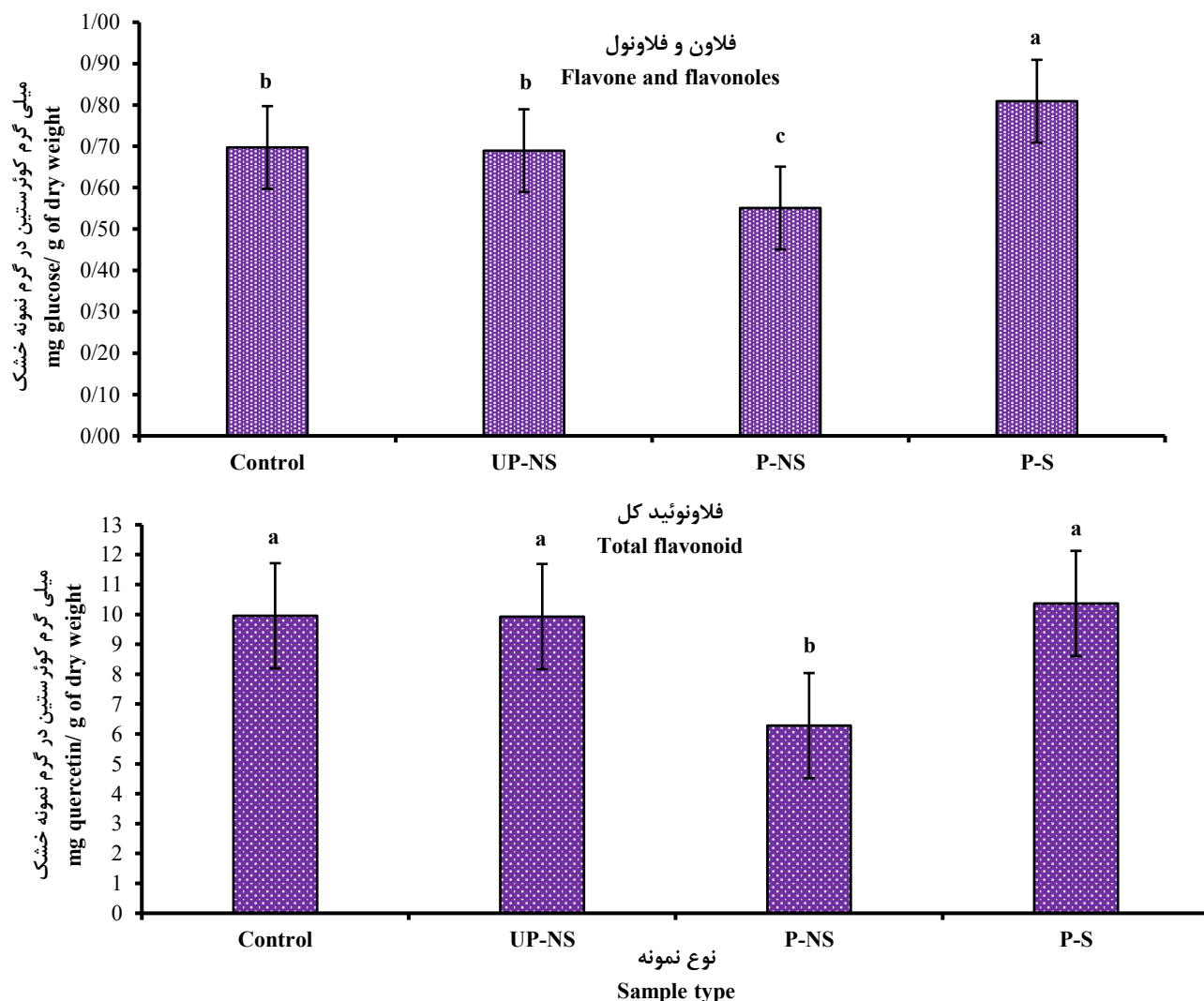
شکل ۱- تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره نمونه‌های مختلف مرزنجوش تحت تأثیر پیش تیمار پلاسمای سرد (Control: نمونه شاهد بدون اعمال پیش تیمار پلاسمای سرد، UP-NS: نمونه پودرنشده بدون حلال، P-NS: نمونه پودرنشده بدون حلال، P-S: نمونه پودرنشده با حلال). حروف مشابه بر اساس آزمون HSD در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهند.

Figure 1. Changes in the antioxidant activity of different *Origanum vulgare* sample extracts under cold plasma pretreatment (Control: sample without cold plasma pretreatment, UP-NS: unpowdered sample without solvent, P-NS: powdered sample without solvent, P-S: powdered sample with solvent). Bars sharing the same letter are not significantly different according to the HSD test at the 5% probability level.



شکل ۲- تغییر در مقادیر ترکیبات فنلی در عصاره مرزنجوش (*Origanum vulgare*) در وضعیت‌های مختلف آماده‌سازی نمونه و تحت تأثیر پیش تیمار پلاسمای سرد (Control: نمونه شاهد بدون اعمال پیش تیمار پلاسمای سرد، UP-NS: نمونه پودرنشده بدون حلال، P-NS: نمونه پودرنشده بدون حلال، P-S: نمونه پودرنشده با حلال). حروف مشابه بر اساس آزمون HSD در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهند.

Figure 2- Change in phenolic compound content of *Origanum vulgare* extract under different sample preparation conditions and cold plasma pretreatment (Control: sample without cold plasma pretreatment, UP-NS: unpowdered sample without solvent, P-NS: powdered sample without solvent, P-S: powdered sample with solvent). Bars sharing the same letter are not significantly different according to the HSD test at the 5% probability level.

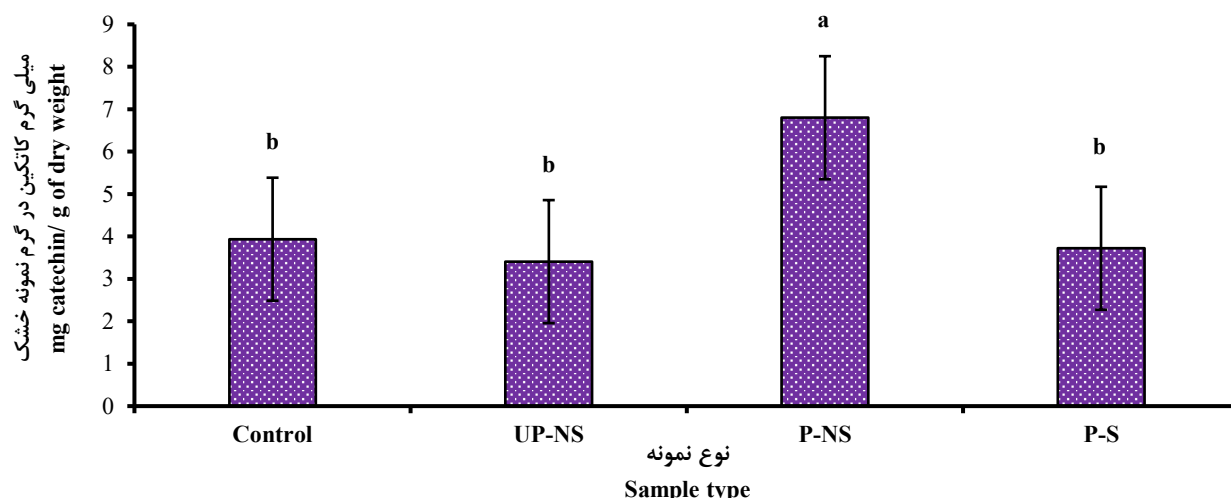


شکل ۳- تأثیر پیش‌تیمار پلاسمای سرد در وضعیت‌های مختلف آماده‌سازی نمونه بر میزان فلاون و فلاونول و فلاونوئید کل عصاره مرزنجوش (*Origanum vulgare*) (Control: نمونه شاهد بدون اعمال پیش‌تیمار پلاسمای سرد، UP-NS: نمونه پودر نشده بدون حلال، P-NS: نمونه پودر شده بدون حلال، P-S: نمونه پودر شده با حلال). حروف مشابه بر اساس آزمون HSD در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌دهند.

Figure 3- Flavone and flavonol, and total flavonoid content in *Origanum vulgare* extract under different sample preparation conditions with cold plasma pretreatment (Control: sample without cold plasma pretreatment, UP-NS: unpowdered sample without solvent, P-NS: powdered sample without solvent, P-S: powdered sample with solvent). Bars sharing the same letter are not significantly different according to the HSD test at the 5% probability level.

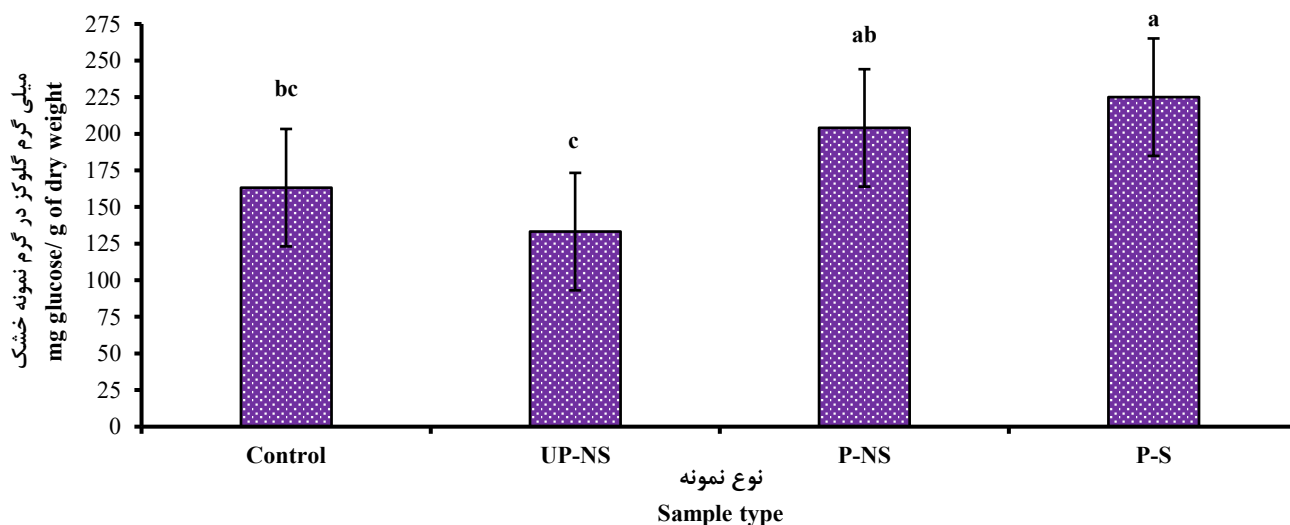
میزان کربوهیدرات کل: بیشترین میزان کربوهیدرات کل (۲۲۵ میلی‌گرم معادل گلوکز بر گرم نمونه خشک) مربوط به نمونه پودر شده با حلال بود که اختلاف معنی‌داری با نمونه پودر شده بدون حلال نداشت. درحالی‌که کمترین میزان (۱۳۳/۲۰ میلی‌گرم) مربوط به نمونه پودر نشده بدون حلال بود که اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت. از نظر میزان کربوهیدرات اختلاف بین کمترین و بیشترین تیمار به میزان ۶۸/۹۲ درصد بود (شکل ۵).

میزان تانن‌ها: بالاترین میزان تانن (۶/۸۰ میلی‌گرم معادل کاتکین بر گرم نمونه خشک) مربوط به تیمار پودر شده بدون حلال بود. درحالی‌که کمترین میزان (۳/۴۱ میلی‌گرم) مربوط به نمونه پودر شده بدون حلال بود که اختلاف معنی‌داری با تیمارهای شاهد و نمونه پودر شده با حلال نداشت. در رابطه با تانن، برخلاف سایر صفات اندازه‌گیری شده، پودر کردن نمونه‌ها بدون اضافه کردن حلال باعث افزایش ۹۹/۴۱ درصدی میزان ترکیبات تاننی گردید (شکل ۴).



شکل ۴- تأثیر پیش تیمار پلاسمای سرد تحت تأثیر شرایط مختل آماده سازی نمونه بر میزان تانن عصاره گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare*) (Control: نمونه شاهد بدون اعمال پیش تیمار پلاسما، UP-NS: نمونه پودرنشده بدون حلال، P-NS: نمونه پودر شده بدون حلال، P-S: نمونه پودر شده با حلال). حروف مشابه بر اساس آزمون HSD در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی داری را نشان نمی دهند.

Figure 4- Effect of cold plasma pretreatment under different sample preparation conditions on tannin content in *Origanum vulgare* extract (Control: sample without cold plasma pretreatment, UP-NS: unpowdered sample without solvent, P-NS: powdered sample without solvent, P-S: powdered sample with solvent). Bars sharing the same letter are not significantly different according to the HSD test at the 5% probability level.



شکل ۵- تغییرات میزان کربوهیدرات کل در مرزنجوش (*Origanum vulgare*) تحت تأثیر آماده سازی نوع نمونه (Control: نمونه شاهد بدون اعمال پیش تیمار پلاسما، UP-NS: نمونه پودرنشده بدون حلال، P-NS: نمونه پودر شده بدون حلال، P-S: نمونه پودر شده با حلال). حروف مشابه بر اساس آزمون HSD در سطح احتمال ۵ درصد، اختلاف معنی داری را نشان نمی دهند.

Figure 5- Changes in total carbohydrate content of *Origanum vulgare* under different sample preparation conditions The control sample was without plasma pretreatment (Control: sample without cold plasma pretreatment, UP-NS: unpowdered sample without solvent, P-NS: powdered sample without solvent, P-S: powdered sample with solvent). Bars sharing the same letter are not significantly different according to the HSD test at the 5% probability level.

داشت. $(p < 0.01)$ میزان فلاونوئید کل با میزان تانن ارتباط منفی و معنی دار $(p < 0.01)$ و با میزان ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی-اکسیدانی ارتباط مثبت و معنی داری $(p < 0.01)$ داشت. میزان تانن با میزان ترکیبات فنلی کل در سطح احتمال یک درصد و فعالیت آنتی-اکسیدانی در سطح احتمال پنج درصد ارتباط منفی و معنی-

همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی: نتایج مربوط به همبستگی بین صفات بیوشیمیایی عصاره مرزنجوش تحت تأثیر نوع نمونه در پیش تیمار پلاسما در جدول ۲ آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود، میزان فلاون ها و فلاونول ها با میزان فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی-اکسیدانی ارتباط مثبت و معنی داری

داری داشت. همچنین بین ترکیبات فنلی کل و فعالیت آنتی-اکسیدانی رابطه مثبت و معنی‌داری ($p < 0.05$) وجود داشت.

جدول ۲- همبستگی بین صفات بیوشیمیایی عصاره مرزنجوش (*Origanum vulgare*) تحت تاثیر نوع نمونه در پیش تیمار پلاسما

Table 2. Correlation among biochemical traits of *Origanum vulgare* extract under different sample types in plasma pretreatment

	فنل کل	کربوهیدرات کل	میزان تانن	فلاونوئید کل	فلاون و فلاونول
	Total phenol	Total carbohydrate	Tannin content	Total flavonoid	Flavone and flavonol
Total flavonoid				1	0.832**
Tannin content			1	-0.953**	-0.801**
Total carbohydrate		1	0.390ns	-0.281ns	0.098ns
Total phenol	1	-0.088ns	-0.882**	0.871**	0.876**
Antioxidant activity	0.717*	0.134ns	-0.652*	0.792**	0.756**

*, **, و ns به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم معنی‌داری.

*, **, ns: Significant at 5% and 1% probability level and no significant, respectively.

مابع شوند و با ماتریکس گیاهی در تماس مستقیم قرار گیرند. این تماس مستقیم با مایع فعال شده سبب تخریب جزئی دیواره سلولی، کاهش اتصال ترکیبات به ماتریکس و آزادسازی آن‌ها می‌گردد؛ در نتیجه ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی راحت‌تر در عصاره قابل استخراج خواهند بود. این مکانیسم در مطالعات مروری اخیر به‌عنوان مزیت اصلی پلاسمای سرد برای استخراج سبز (Green extraction) مطرح شده است (Heydari *et al.*, 2023). (۳) توازن بین آزادسازی ترکیبات و تخریب اکسیداتیو: تولید ROS/RNS می‌تواند دو نتیجه متفاوت داشته باشد: (الف) آزادسازی ترکیبات داخلی و (ب) تخریب اکسیداتیو برخی ترکیبات حساس (مانند بعضی فلاونوئیدها یا فنول‌های ساده). در پژوهش حاضر که تیمار نمونه پودر شده بدون حلال کمترین استخراج مفید را نشان داده است، می‌تواند ناشی از این باشد که در غیاب حلال، ترکیبات آزاد شده توسط پلاسما مجدداً با ماتریکس ترکیب شده یا تحت اکسیداسیون قرار گرفته‌اند و پس از استخراج بازگردانده نشده‌اند. این نکته توسط Heydari *et al.* (2023) نیز به‌عنوان یکی از محدودیت‌های پلاسمای سرد ذکر شده است که اگر شرایط فرایند (توان یا ولتاژ، زمان، گاز کاری) بهینه نباشد، ممکن است محتوای فنولی پس از پیش تیمار پلاسمای سرد کاهش پیدا کند. مقادیر بالاتر کربوهیدرات کل در نمونه پودر شده به همراه حلال نسبت به نمونه پودر نشده بدون حلال نشان می‌دهد که ترکیب پلاسما، پودر شدن و حضور حلال می‌تواند ماتریکس سلولی را تا حدی تجزیه یا نفوذپذیر کند و اجزای قندی و پلی‌ساکاریدی را آزاد نماید. این یافته با گزارش‌هایی از افزایش بازیابی مواد محلول پس از پیش تیمار پلاسمای سرد در ضایعات گیاهی از جمله تفاله قهوه مطابقت دارد (Kyriakoudi *et al.*, 2024).

برخلاف سایر ترکیبات، تانن‌ها در نمونه پودر شده بدون حلال بیشترین مقدار را نشان دادند. این اختلاف می‌تواند به تفاوت در

نتایج این مطالعه نشان داد که اثربخشی پیش تیمار پلاسمای سرد بر استخراج ترکیبات زیست‌فعال از پیکره رویشی گیاه مرزنجوش به‌طور معنی‌داری به روش آماده‌سازی نمونه بستگی دارد. تیمار نمونه پودر شده با افزودن حلال بیشترین استخراج ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی، کربوهیدرات و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را ایجاد کرد، در حالی که نمونه پودر شده بدون حلال در بیشتر شاخص‌ها پایین‌ترین بازده را نشان داد. این الگو را می‌توان از طریق چند مکانیسم فیزیکوشیمیایی توضیح داد: (۱) تأثیر خردشدگی یا پودر شدن و سطح ویژه: کاهش اندازه ذرات با پودر کردن منجر به افزایش سطح ویژه و افزایش تماس بین ماتریکس گیاهی و حلال می‌شود. این افزایش سطح ویژه انتقال جرم (diffusion) را تسهیل کرده و در نتیجه احتمال آزادسازی ترکیبات داخل سلولی (مانند فنول‌ها و فلاونوئیدها) در استخراج را بالا می‌برد (Prasedya *et al.*, 2021; Amiri *et al.*, 2025). به‌خصوص وقتی که پس از پلاسما، نمونه‌های پودر نشده آسیاب می‌شوند، ترکیبی از آثار پلاسما (تضعیف دیواره سلولی) و خردشدگی مکانیکی ممکن است منجر به آزادسازی بیشتر ترکیبات شود؛ اما داده‌های این تحقیق نشان داد که عملکرد در نمونه‌های پودر شده به همراه حلال بهتر است، که خود گویای اهمیت حضور فاز مایع در زمان استخراج است. این نقش پودرشدگی در بهبود استخراج مشابه یافته‌هایی است که در فناوری‌های دیگر مانند اولتراسوند (Mohtashami, 2024) دیده شده‌اند؛ اما در مورد پلاسما، خردشدگی یا پودر شدن به تنهایی کافی نیست. (۲) نقش مایع فعال شده توسط پلاسما (Plasma-Activated Liquid) یا PAL و تعامل پلاسما-مایع: یکی از مهم‌ترین دلایل افزایش بازده در تیمار نمونه پودر شده با حلال، احتمال تشکیل PAL است؛ یعنی گونه‌های واکنش‌پذیر تولید شده توسط پلاسما (ROS/RNS، رادیکال‌ها، یون‌ها و فوتون‌ها) وقتی در حضور حلال قرار می‌گیرند، می‌توانند وارد فاز

گونه‌های فعال پلاسما، آزادسازی متابولیت‌های ثانویه را تسهیل می‌کند. در مقابل، پاسخ متفاوت ترکیبات تاننی نشان داد که رفتار استخراجی این گروه از متابولیت‌ها وابسته به ویژگی‌های ساختاری و قطبیت آن‌ها بوده و نیازمند بررسی‌های تکمیلی است.

از منظر کاربردی، نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که پیش‌تیمار پلاسمای سرد، در صورت انتخاب صحیح شرایط آماده‌سازی نمونه، می‌تواند به‌عنوان یک فناوری نوین، کم‌مصرف و سازگار با محیط زیست در استخراج عصاره‌های غنی از آنتی‌اکسیدان مورد استفاده قرار گیرد و جایگزین یا مکمل روش‌های متداول استخراج در صنایع غذایی، دارویی و فرآورده‌های گیاهان دارویی باشد. با این حال، برای توسعه این رویکرد در مقیاس نیمه‌صنعتی و صنعتی، بهینه‌سازی دقیق پارامترهای پلاسما (از جمله زمان تیمار، توان مصرفی و فاصله منبع پلاسما)، ارزیابی بازده انرژی، بررسی پایداری ترکیبات در طول نگهداری و تحلیل اقتصادی فرآیند ضروری است. همچنین پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی، اثر این فناوری بر سایر گروه‌های متابولیتی و نیز بر ویژگی‌های کیفی و حسی عصاره‌ها مورد ارزیابی قرار گیرد تا امکان تجاری‌سازی این فناوری با اطمینان بیشتری فراهم شود.

حلالیت و ساختار مولکولی تانن‌ها نسبت به فنول‌های ساده یا فلاونوئیدها مرتبط باشد. تانن‌ها ممکن است با ماتریکس گیاهی به‌صورت کمپلکس‌های پلیمری یا اتصال قوی با پروتئین یا پلی‌ساکاریدها باشند؛ خرد شدن مکانیکی (پودر کردن) بدون حضور حلال می‌تواند این پیوندها را شکسته و باعث آزادسازی و تثبیت تانن‌ها تا زمان استخراج گردد. بنابراین، به نظر می‌رسد برای تانن‌ها حضور حلال در پیش‌تیمار لزوماً اولویت ندارد و خرد شدن مکانیکی کافی است (Maleki-Bohlooli et al., 2025).

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که شرایط آماده‌سازی نمونه نقش تعیین‌کننده‌ای در کارایی پیش‌تیمار پلاسمای سرد در استخراج ترکیبات زیست‌فعال از مرزنجوش (*Origanum vulgare*) دارد. به‌ویژه، پودر کردن نمونه همراه با حضور حلال در مرحله پیش‌تیمار، منجر به افزایش معنی‌دار در میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدها، فلاون‌ها و فلاونول‌ها و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره شد. این نتایج حاکی از آن است که هم‌افزایی بین افزایش سطح تماس ناشی از پودر شدن و نفوذپذیری بهتر حلال تحت اثر

منابع

- Amiri, M., Arab, M., & Mortazavian, A. M. (2025). The effect of cold plasma treatment on the phenolic and flavonoid content and antioxidant activity of whole buckwheat grain and flour. *Scientific Reports*, 15: 25132.
- Ghani, A., Amini, S., Mohtashami, S., & Neamati, S.H. (2022). Physicochemical and biochemical variations of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) populations: A comparison of Iranian and imported types. *Industrial Crops and Products*, 183: 114898.
- Heydari, M., Carbone, K., Gervasi, F., Parandi, E., Rouhi, M., Rostami, O., Abedi-Firoozjah, R., Kolahdouz-Nasiri, A., Garavand, F., & Mohammadi, R. (2023). Cold Plasma-Assisted Extraction of Phytochemicals: A Review. *Foods*, 12: 3181.
- Jafari Khorsand, G., Morshedloo, M. R., Mumivand, H., Emami Bistgani, Z., Maggi, F., & Khademi, A. (2022). Natural diversity in phenolic components and antioxidant properties of oregano (*Origanum vulgare* L.) accessions, grown under the same conditions. *Scientific Reports*, 12: 5813.
- Keshavarzi, M., Najafi, G., Ahmadi Gavlighi, H., 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: 3415–3422.
- Kyriakoudi, A., Loukri, A., Christaki, S., Oliinychenko, Y., Stratakis, A. Ch., & Mourtzinis, I. (2024). Impact of Cold Atmospheric Plasma Pretreatment on the Recovery of Phenolic Antioxidants from Spent Coffee Grounds. *Food Analytical Methods*, 17: 1484–1496.
- Maleki-Bohlooli, Z., Dalvi-Isfahan, M., Elmizadeh, A., Taghipour, L., & Mohtashami, S. (2025). Comparative effects of cold plasma and high-voltage electric field on physicochemical changes in persimmon during storage. *Applied Food Research*, 5(2): 101171.
- 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.
- Mohtashami, S. (2024). Enhancing the extraction yield of bioactive compounds from *Mentha mozaffarianii* Jamzad under ultrasound pre-treatment. *Journal of Research in Plant Metabolites*, 2(2): 87–106. (In persian)
- 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).
- Mohtashami, S., & Ghani, A. (2025). Phytochemical Investigation of *Anisoscadium orientale* DC.: A valuable Plant with Medicinal and Food Potentials. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 56(1): 103–124. (In persian with English abstract)
- Mohtashami, S., Gholami, H., Ghani, A., & Kamalizadeh, M. (2025). The effect of different levels of

phosphorus and zinc spraying on growth properties, oil content and biochemical characteristics of *Securigera securidaca*. *Journal of Horticultural Science*, 39(1): 123-137. (In Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88891.1362>

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.

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.

Prasedya, E. S., Frediansyah, A., Martyasari, N. W. R., Ilhami, B. K., Abidin, A. S., Padmi, H., Fahrurrozi, A. B. Juanssilfero, S. Widyastuti & Sunarwidhi, A. L. (2021). Effect of particle size on phytochemical composition and antioxidant properties of *Sargassum cristaeifolium* ethanol extract. *Scientific Reports*, 11: 17876.

Razazian, G., Dalvi-Isfahan, M., & Mohtashami, S. (2025). Cold Plasma Pretreatment Enhances Antioxidant Stability in Lime Fruit During Storage. *Food Science & Nutrition*, 13: e71091.

Wojdylo, A., Oszmianski, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs, *Food Chemistry*, 1005: 940-949.