

تغییرات کیفی و فیزیکی آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) تحت تأثیر پلاسمای سرد

فاطمه شکوهی^۱، محمدتقی عبادی^{۲*}، حمید قمی^۳، مهدی عیاری^۴

^۱دانشجو کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

^۲استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

^۳دانشیار گروه مهندسی پلاسما، پژوهشکده لیزر و پلاسما، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

^۴استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: mt.ebadi@modares.ac.ir

چکیده

گیاهان دارویی و معطر نقش مهمی در پیش‌گیری از بیماری‌ها و تضمین سلامت جامعه دارند. ۳۱۵ گونه از جنس *Thymus* در جهان وجود دارد و یکی از مهم‌ترین آن‌ها آویشن باغی (*Thymus vulgaris*) است. از پلاسمای سرد در چندین زمینه از جمله ضدعفونی کردن گیاهان دارویی و معطر استفاده می‌شود. با این حال، مطالعات کمی در مورد تأثیر پلاسمای سرد بر ویژگی‌های کیفی و فیزیکی گیاهان دارویی و معطر وجود دارد. در این تحقیق، برگ‌های آویشن در ولتاژهای مختلف (۱۷، ۱۹، ۲۱ و ۲۳ کیلوولت) و مدت زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۱۲۰ و ۳۰۰ ثانیه در معرض پلاسمای سرد قرار گرفتند. اسانس تمام نمونه‌های تیمار شده با استفاده از تقطیر با آب جدا شد و ترکیبات آن به ترتیب از طریق کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC/MS) و کروماتوگرافی گازی (GC) از نظر کیفی و کمی مشخص شدند. نتایج نشان داد که با افزایش شدت ولتاژ از ۱۷ به ۲۳ (کیلو ولت)، زاویه تماس کاهش یافته و راندمان استخراج اسانس ۰.۸ به ۱.۰۴ درصد افزایش. ترکیبات اصلی اسانس شامل تیمول، لینالول و کارواکرول بودند و تیمارهای پلاسمای سرد تأثیر منفی بر آن‌ها نداشتند. به طور کلی، می‌توان نتیجه گرفت که پلاسمای سرد می‌تواند کارایی استخراج اسانس را بهبود بخشد و آب‌دوستی را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: اسانس، آویشن باغی، پلاسمای سرد، تیمول، درجه آب‌دوستی

مقدمه

آویشن (*Thymus*) بزرگ‌ترین جنس از خانواده Lamiaceae است. این جنس شامل ۳۱۵ گونه است و آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) یکی از مهم‌ترین گونه‌ها است (Cronquist, 1968). آویشن باغی گیاهی چندساله و معطر است که معمولاً در صنایع آرایشی، دارویی و غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در طب سنتی، برای درمان سرماخوردگی، دندان درد، روماتیسم، آسم و سردرد از این گیاه دمنوش‌های گیاهی تهیه می‌کنند (Uysal et al., 2015). اسانس عامل برجسته و فعال گیاه آویشن است که دارای ترکیبات مختلفی از جمله تیمول، گاما ترپینن، پارا-سیمن، کارواکرول و لینالول است. تیمول کارواکرول و لینالول شناخته‌ترین ترکیب شیمیایی در اسانس آویشن باغی است. اسانس آویشن باغی دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد قارچ است. و در قطره‌های ضد سرفه، دهان‌شویه‌ها، مرطوب‌کننده‌ها، خمیردندان، مواد شوینده و عطرها استفاده می‌شود (Bilia et al., 2013). پلاسما یک گاز کاملاً یا جزئی یونیزه شده است که به عنوان حالت چهارم ماده در نظر گرفته می‌شود. پلاسما ترکیبی از ذرات خنثی، الکترون، یون، رادیکال و تابش است و به دو دسته پلاسمای سرد و پلاسمای گرم تقسیم بندی می‌شود. پلاسمای سرد می‌تواند تحت فشار اتمسفر یا شرایط خلأ ایجاد شود (Ebadi et al., 2019). این فناوری جدید دارای قابلیت استفاده به عنوان فرآیند پیش‌تیمار برای بهبود کارایی استخراج از طریق اصلاح ویژگی‌های سطح و بهبود سرعت انتقال گرما و جرم است (Pragna et al., 2019). با این حال مطالعات کمی در مورد اثر تیمار پلاسمای سرد بر عملکرد اسانس گزارش شده است و هیچ مطالعه‌ای در مورد اثر پیش تیمار پلاسمای سرد بر روی تغییرات کیفی و فیزیکی آویشن باغی وجود ندارد (Pragna et al., 2019). بنابراین هدف اصلی از این مطالعه بررسی تأثیر تیمار پلاسمای سرد بر تغییرات راندمان استخراج و اجزای اسانس آویشن باغی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

جهت تیمار نمونه‌ها با پلاسمای سرد، ۱۵ گرم از برگ آویشن باغی را با ترازوی دیجیتال مدل EK 6610i وزن کرده و در پاکت کاغذی قرار داده شد.

تیمار پلاسمای

به منظور اعمال تیمار تخلیه سد دی الکتریک، سطح الکتروود زیرین با شیشه پوشانده و نمونه‌ها بر روی آن قرار داده شدند. فاصله بین سطح شیشه و الکتروود روئین ۱۰ میلی‌متر بود. در این چیدمان از سازوکار مودولاسیون میدان‌های الکتریکی بهره گرفته شد، به طوری که الکتروود بالا به ولتاژ ۱۰ کیلوولت با فرکانس ۶ کیلوهرتز و الکتروود پایین به ولتاژ ۱۵ کیلوولت با فرکانس ۵۰ هرتز متصل شده بود. پارامترهای متغیر برای این آزمایش‌ها اختلاف پتانسیل بین دو الکتروود و زمان اعمال تیمار بود. اختلاف پتانسیل‌ها عبارت بودند از: ۱۷-۱۹-۲۱ و ۲۳ کیلوولت و زمان‌های ۳۰-۶۰-۱۲۰ و ۳۰۰ ثانیه انتخاب شدند. لازم به ذکر است که تیمارها در حضور گاز اکسیژن انجام شد.

زاویه تماس آب

جذب آب با استفاده از دستگاه زاویه تماس آب مدل HD-U805 (Dongguan Haida Equipment Co., China) مشخص شد. حجم آب مقطر مورد استفاده ۵ میکرولیتر بود و تصاویر با سرعت ۱۵ فریم در ۱۰ ثانیه ثبت شد. زاویه تماس آب با استفاده از نرم افزار image J نسخه ۲/۱ اندازه‌گیری شد (Pankaj *et al.*, 2015).

آنالیز رنگ

در این آزمایش، شاخص قهوه‌ای شدن (BI) و تغییرات کل رنگ (ΔE) به عنوان معیار برای تجزیه و تحلیل تغییرات رنگ با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج هانتربل (ColorFlex) اندازه‌گیری شد. رنگ‌سنج با کاغذ سفید کالیبره شده و مقادیر L (شاخص روشنی-تیرگی رنگ)، a (شاخص قرمزی-سبزی) و b (شاخص زردی-آبی) اندازه‌گیری شد. دو صفت ذکر شده با معادلات زیر اندازه‌گیری شد:

$$\Delta E = \sqrt{[\Delta L * 2 + \Delta a * 2 + \Delta b * 2]}$$

$$BI = (100 (x - 0.31)/0.17), x = (a+1.75L)/(5.645L+a-3.012b)$$

بررسی کرک‌های ترش‌حی

برای بررسی وضعیت کرک‌های ترش‌حی در نمونه‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (ESCAN, model: VEGA 3, Czech Republic)، برگ‌های سالم به مدت ۱۵ دقیقه با اتانول شسته شدند. سپس، نمونه‌های خشک شده با ۱۰ میکرولیتر لایه طلا پوشانده شدند و تصاویر با شتاب ۲۰ کیلوولت و بزرگ‌نمایی ۱۴۰ ثبت شد.

استخراج اسانس

اسانس را با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب استخراج گردید. ۱۵ گرم آویشن باغی را در داخل بالن یک لیتری ریخته و ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به بالن اضافه شد. سه ساعت بعد از به جوش آمدن آب، اسانس‌گیری پایان یافت. سپس اسانس‌ها در شیشه‌های مخصوص اسانس جمع‌آوری گردید و نمونه‌های اسانس توسط سولفات سدیم خشک، آب‌گیری شدند.

کروماتوگرافی گازی

از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) مدل ۷۸۹۰B ساخت شرکت Agilent، با ستون HP-5 (۳۰ متر \times ۰/۳۲ میلی‌متر \times ۰/۲۵ میکرومتر) برای تجزیه اسانس‌ها استفاده شد. دما با سرعت ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه افزایش یافت و در ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد

ثابت نگه داشته شد. دمای تنظیم شده انژکتور و آشکارساز به ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی گراد بودند. از گاز هلیوم به عنوان حامل با سرعت ۱/۱ میلی متر در دقیقه استفاده شد.

کروماتوگرافی گازی متصل به طیفسنج جرمی

شناسایی اجزای اسانس با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیفسنج جرمی (GC-MS) مدل TRACE MS از نوع Quadrupole و ستون HP-5MS (۶۰ متر × ۰/۲۵ میلی متر × قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر) انجام شد و از همان برنامه درجه حرارت GC استفاده شد. شناسایی طیفها به کمک محاسبه شاخص بازداری و مطابقت هر ترکیب با منابع از طریق تزریق هیدروکربن های نرمال (C8-C24) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانسها به دست آمد. همچنین مقایسه آن ها با کتابخانه دستگاه که شامل Adams، Wiley و Main library بود نیز صورت پذیرفت (Adams, 2007).

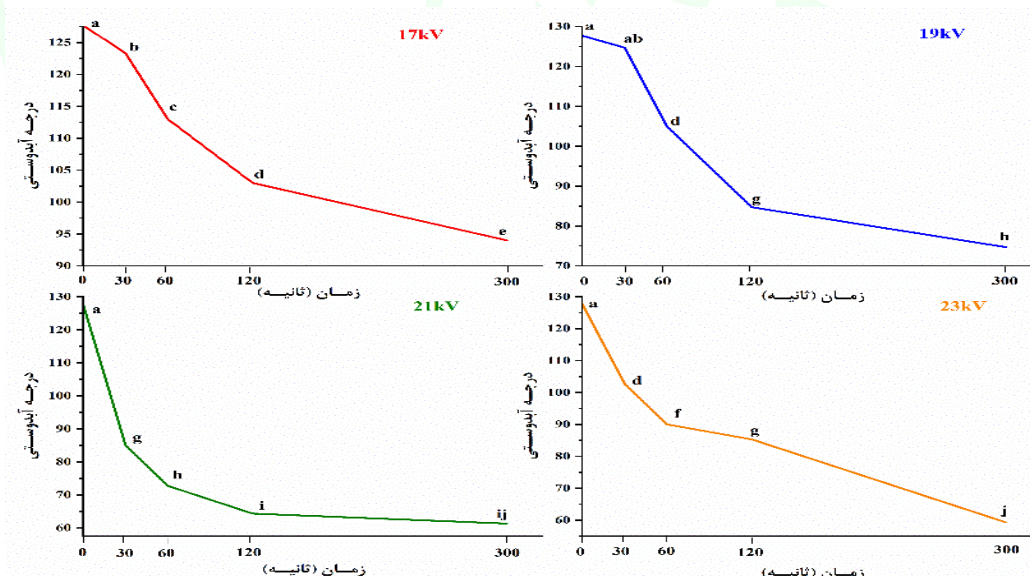
آنالیز داده ها

آزمایشات بر اساس طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری توسط نرم افزار SAS 9.1 انجام شد و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح معنی داری ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

درجه آب دوستی

نتایج نشان داد که استفاده از پلاسمای سرد باعث افزایش میزان آب دوستی (ترشوندگی) نمونه می شود. همان طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، در هر ولتاژ با افزایش مدت زمان تیمار ترشوندگی نمونه افزایش یافت. در تمامی ولتاژهای اعمال شده، در زمان ۳۰ ثانیه بیشترین میزان ترشوندگی (کاهش زاویه تماس آب) مشاهده شد و بیشترین میزان آب گریز بودن در زمان ۳۰ ثانیه ثبت شد. این پدیده ممکن است به دلیل افزایش گروه های حاوی اکسیژن و نیتروژن در سطح نمونه باشد (Bormashenko *et al.*, 2012).

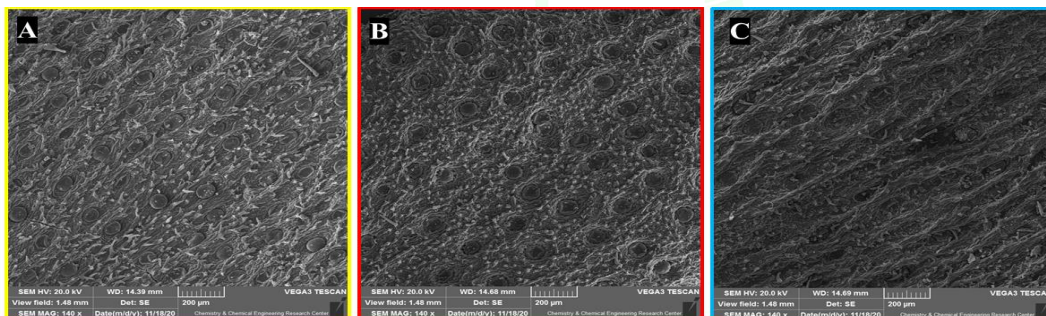


شکل ۱: تأثیر تیمارهای مختلف پلاسمای سرد بر درجه آب دوستی آویشن باغی.

کرک های ترشخی سطح برگ

کرک های ترشخی مکان های فعال بیوستت ترکیبات اسانس هستند. بنابراین وارد شدن هرگونه آسیب به آن ها منجر به تغییر در مقدار اسانس و اجزای آن می شود. شکل ۲ عکس میکروسکوپ الکترونی کرک های ترشخی آویشن تحت تیمار پلاسمای سرد

را نشان می‌دهد. افزایش ولتاژ تخلیه و زمان اعمال تیمار می‌تواند منجر به چین و چروک و یا شکستگی در کرک‌های ترش‌چی شود (Rezaei et al., 2021).

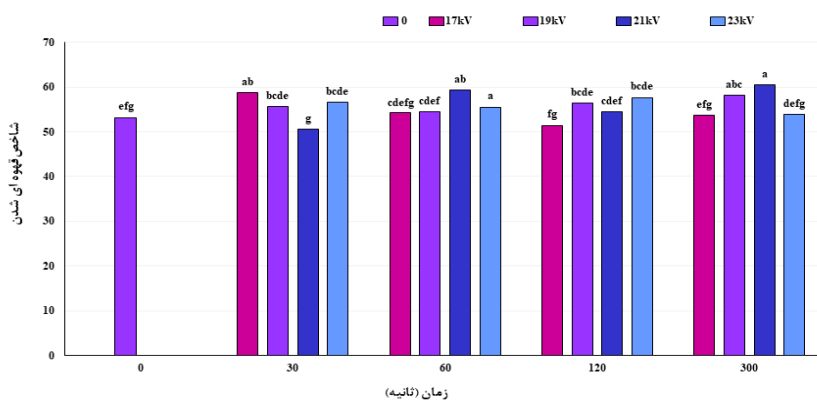


شکل ۲: تصاویر SEM از سطح برگ آویشن: (A) نمونه شاهد (بزرگ‌نمایی ۱۴۰)، (B) تیمار برگ با پلاسمای سرد (ولتاژ ۱۷ کیلوولت و زمان ۳۰ ثانیه) (بزرگ‌نمایی ۱۴۰)، (C) تیمار برگ با پلاسمای سرد (ولتاژ ۲۳ کیلوولت و زمان ۳۰۰ ثانیه) (بزرگ‌نمایی ۱۴۰).

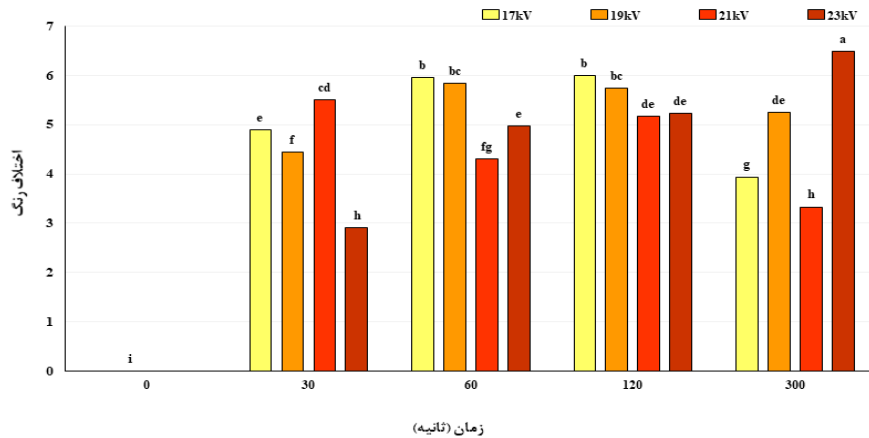
ویژگی‌های رنگ

شکل ۳ شاخص قهوه‌ای شدن را نشان می‌دهد. بالاترین مقدار BI در ولتاژ ۲۱ کیلوولت و زمان ۳۰۰ ثانیه با مقدار ۶۰/۴۶ اندازه‌گیری شد و کم‌ترین میزان (۵۰/۵۱) در ولتاژ ۲۱ کیلوولت و زمان ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. به‌طور کلی بین نمونه‌های تیمار شده اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد.

شکل ۴ میزان شاخص اختلاف رنگ (EΔ) در ولتاژهای مختلف و زمان‌های مختلف اعمال شده را نشان می‌دهد. بیش‌ترین میزان اختلاف رنگ (۶/۴۸) در ولتاژ ۲۳ کیلوولت زمان ۳۰۰ ثانیه و کم‌ترین میزان اختلاف رنگ (۲/۹۱) در ولتاژ ۲۳ کیلوولت زمان ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. قهوه‌ای شدن در سبزیجات و میوه‌ها عمدتاً از طریق اکسیداسیون آنزیمی ترکیبات فنلی توسط پلی فنول اکسیداز صورت می‌گیرد. از این رو، پلاسمای سرد ممکن است پلی فنل اکسیداز را در برگ آویشن غیر فعال نکند (Kim et al., 2017).



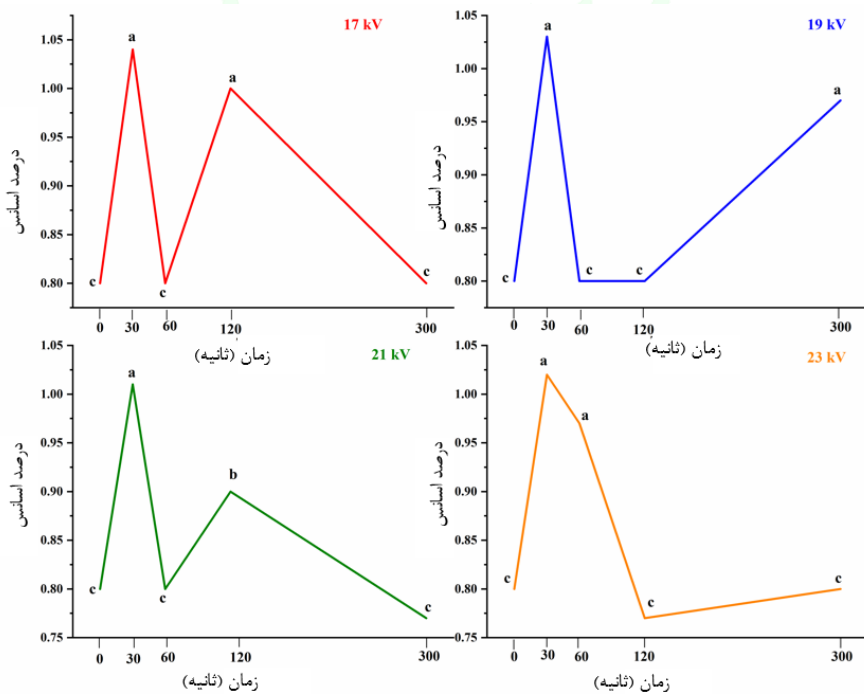
شکل ۳: بررسی شاخص قهوه‌ای شدن در تیمارهای مورد مطالعه.



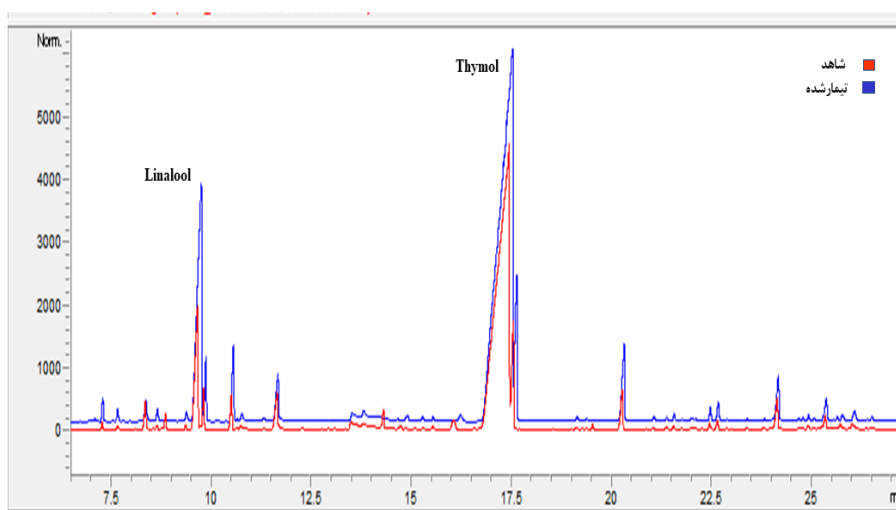
شکل ۴: میزان اختلاف رنگ با نمونه شاهد در تیمارهای مورد مطالعه.

درصد اسانس

در شکل ۵ تأثیر تیمارهای مختلف پلاسمای سرد بر کارایی استخراج اسانس به صورت درصد اسانس ارائه شده است. همان طور که مشاهده می‌کنید در تمامی ولتاژها بیشترین مقدار اسانس در زمان ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. بیشترین مقدار اسانس (۱/۰۴ درصد) در ولتاژهای ۱۷ و ۱۹ کیلوولت در زمان ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد و کمترین مقدار اسانس (۱/۲ درصد) در تمامی ولتاژهای اعمال شده در زمان ۳۰۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. این نتایج مطابق با نتایج محققین دیگر بود. تصاویر میکروسکوپ الکترونی فرورفتگی در سطح محصول پس از تیمار با پلاسمای سرد را نشان داد و اعتقاد بر این است که این تغییرات سطحی مسیرهایی را برای استخراج سریع اسانس فراهم می‌کند (Kodama et al., 2014).



شکل ۵: تأثیر تیمارهای مختلف پلاسمای سرد بر درصد اسانس (V/W) آویشن باغی.



شکل ۶: تصاویر کروماتوگرام جی‌سی مربوط به برگ‌های آویشن باغی قبل و بعد از تیمار با پلاسمای سرد.

اجزای اسانس

بر اساس تجزیه و تحلیل ترکیبات موجود در اسانس، ۱۲ ترکیب مختلف شناسایی شد (جدول ۱) تیمول، لینالول و کارواکرون اصلی‌ترین اجزای اسانس آویشن می‌باشند. تیمول عمده‌ترین ترکیب شناسایی شده در اسانس آویشن می‌باشد. به‌طور کلی تیمار پلاسمای سرد منجر به افزایش مقدار تیمول شده است. بیش‌ترین مقدار تیمول در ولتاژ ۱۷ کیلوولت (۷۱/۷ درصد) و کم‌ترین مقدار آن در ولتاژ ۱۹ کیلوولت اندازه‌گیری شد. لینالول به‌عنوان دومین ترکیب عمده شناسایی شده، بیش‌ترین مقدار آن در ولتاژ ۱۹ کیلوولت (۱۴/۷ درصد) اندازه‌گیری شد. عبادی و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که در اسانس به لیمو، بیش‌ترین مقدار سیترال به‌عنوان اجزای اصلی اسانس در نمونه شاهد و کم‌ترین مقدار آن در نمونه تیمار شده با پلاسمای سرد در سه دقیقه اندازه‌گیری شد (Ebadi *et al.*, 2019).

جدول ۱: مقایسه اجزای اسانس آویشن باغی قبل و بعد از تیمار با پلاسمای سرد

ردیف	نام	شاخص بازداری	پلاسمای سرد (کیلوولت)			
			شاهد	۱۷	۱۹	۲۱
۱	Cineole <1, 8->	۱۰۲۶	۰/۵	۰/۳	۰/۵	۰/۳
۲	Terpinolene	۱۰۸۶	۰/۶	۱/۱	۰/۷	۱/۱
۳	Linalool	۱۰۹۵	۱۴/۹	۸/۵	۱۴/۷	۷/۹
۴	Isoborneol	۱۱۵۵	۲/۳	۱/۵	۲/۱	۱/۵
۵	Terpineol <α->	۱۱۸۶	۱/۶	۱/۸	۱/۷	۲/۰
۶	Shisofuran	۱۱۹۸	۰/۵	۰/۵	۰/۴	۰/۵
۷	Carvone	۱۲۳۹	۱/۶	۰/۶	۰/۲	۰/۸
۸	Thymol	۱۲۸۹	۶۲/۸	۷۱/۷	۶۶/۲	۷۱/۶
۹	Carvacrol	۱۲۹۸	۴/۱	۴/۵	۴/۱	۴/۱
۱۰	Caryophyllene <(Z)->	۱۴۰۸	۲/۷	۲/۲	۲/۱	۱/۸
۱۱	Cadinene <α->	۱۵۳۷	۱/۳	۱/۵	۱/۳	۱/۶
۱۲	Caryophyllene oxide	۱۵۸۲	۱/۶	۰/۷	۰/۷	۰/۸
		جمع شناسایی شده	۹۴/۵	۹۴/۹	۹۴/۷	۹۴/۶

جمع‌بندی

تیمار با پلاسمای سرد ممکن است باعث تغییر در خصوصیات فیزیکی سطح محصول شود که منجر به تخریب بیشتر و آبدوستی سطح شده و نفوذ آب به سطح برگ را افزایش دهد. بر اساس تحقیق ارائه شده، راندمان استخراج اسانس، پس از تیمار با پلاسمای سرد از ۰/۸ به ۱/۰۴ درصد افزایش و تیمول به‌عنوان عمده‌ترین ترکیب شناسایی شده در اجزای اسانس حدود ۸ درصد افزایش یافت.

منابع

- Adams, R.P. 2007. Identification of essential oil components by chromatography/mass spectrometry, 4th ed. New York, NY: Allured Publishing Corporation.
- Bilia, A.R., Guccione, C., Isacchi, B., Righeschi, C., Firenzuoli, F. and Bergonzi, M.C. 2014. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 1-14.
- Bormashenko, E., Gryniov, R., Bormashenko, Y. and Drori, E. 2012. Cold radiofrequency plasma treatment modifies wettability and germination speed of plant seeds. Scientific reports, 2(1): 1-8.
- Cronquist, A. 1968. The evolution and classification of flowering plants. Houghton Mifflin, Michigan.
- Ebadi, M.T., Abbasi, S., Harouni, A. and Sefidkon, F. 2019. Effect of cold plasma on essential oil content and composition of lemon verbena. Food science & nutrition, 7(4): 1166-1171.
- Kim, J.E., Oh, Y.J., Won, M.Y., Lee, K.S. and Min, S.C. 2017. Microbial decontamination of onion powder using microwave-powered cold plasma treatments. Food microbiology, 62: 112-123.
- Kodama, S., Thawatchaipracha, B. and Sekiguchi, H. 2014. Enhancement of essential oil extraction for steam distillation by DBD surface treatment. Plasma Processes and Polymers, 11(2), 126-132.
- Pragna, C.H., Gracy, T.R., Mahendran, R. and Anandharamakrishnan, C. 2019. Effects of microwave and cold plasma assisted Hydrodistillation on lemon Peel oil extraction. International Journal of Food Engineering, 15(10).
- Pankaj, S.K., Bueno-Ferrer, C., Misra, N.N., O'Neill, L., Tiwari, B.K., Bourke, P. and Cullen, P.J. 2015. Dielectric barrier discharge atmospheric air plasma treatment of high amylose corn starch films. LWT-Food Science and Technology, 63(2), 1076-1082.
- Rezaei, S., Ebadi, M.T., Ghobadian, B. and Ghomi, H. 2021. Optimization of DBD-Plasma Assisted Hydro-Distillation for Essential Oil Extraction of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Seed and Spearmint (*Mentha spicata* L.) Leaf. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 100-300.
- Uysal, B., Gencer, A. and Oksal, B.S. 2015. Comparative antibacterial, chemical and morphological study of essential oils of *Thymbra spicata* var. *spicata* leaves by solvent-free microwave extraction and hydro-distillation. International Journal of Food Properties, 18(11), 2349-2359.

Qualitative and Physical Changes of Garden Thyme (*Thymus vulgaris* L.) under the Influence of Cold Plasma

Fateme Shokoohi¹, Mohammad-Taghi Ebadi^{2*}, Hamid Qomi³, Mahdi Ayyari⁴

¹MSc student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

²Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

³Associate Professor of Physics in the Plasma Engineering, Laser and Plasma Research Institute, Shahid Beheshti University (SBU), Tehran, Iran

⁴Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

*Correspondence: mt.ebadi@modares.ac.ir

Abstract

Medicinal and aromatic crops (MACs) play an important role in disease prevention and ensuring the health of the community. There are 315 species of *Thymus* genus in the world and one of the most important of which is garden thyme (*Thymus vulgaris*). Cold plasma (CP) is used in several fields, including the sterilization of MACs. However, there are few studies about the effect of cold plasma on the qualitative and physical characteristics of MACs. In this research, thyme leaves were exposed to CP at different voltages (17, 19, 21 and 23 kV) and different durations (30, 60, 120 and 300 s). The essential oil of all treated samples was isolated by using hydro-distillation, and its constituents were identified qualitatively and quantitatively by gas chromatography–mass spectrometry (GC/MS) and gas chromatography (GC), respectively. The results showed that with increasing voltage intensity from 17 to 23 (kV), contact angle decreased and essential oil extraction efficiency increased by 33% but it was not significant compared to the control treatment. Major constituents of essential oil included thymol, linalool and carvacrol and CP treatments had no negative effect on them. In general, it can be concluded that CP could improve the essential oil extraction efficiency and it increased the hydrophilicity.

Keywords: Cold plasma, Contact angle, Essential oil, Garden Thyme, Thymol