

**Research paper****Development and evaluation of pulse electric field and plasma jet-spraying system to reduce the microbial load of cherry juice****F. Jamali-Hafshejani¹, B. Hosseinzadeh Samani^{2*}, R. Ebrahimi² and Z. Izadi³**

1- PhD student, Department of Mechanical Engineering of Biosystem, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

2- Prof., Department of Mechanical Engineering of Biosystem, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

3- Assoc. Prof., Department of Mechanical Engineering of Biosystem, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Article information**Received: 2025/10/15****Accepted: 2025/01/18**

Keywords: Pasteurization, Pulsed electric field, Atmospheric cold plasma, Sour cherry juice, *Escherichia coli*, Non-thermal processing.

***Corresponding author:**
b.hosseinzadehsamani@sku.ac.ir

ORCID: 
0000-0002-8563-7080

**Extended Abstract****Introduction**

Pasteurization is critical in the food industry to ensure microbial safety and extend shelf life. However, conventional thermal pasteurization often compromises the sensory and nutritional quality of heat-sensitive products, such as sour cherry juice. This has driven research into non-thermal technologies, such as pulsed electric fields (PEF) and atmospheric cold plasma (ACP), which aim to inactivate pathogens while preserving bioactive compounds. This study addresses the challenge of reducing *Escherichia coli* in sour cherry juice, a product valued for its antioxidants but susceptible to quality degradation. The objectives were to develop and evaluate PEF and plasma jet-spraying systems, optimize their parameters, and compare their efficacy in microbial inactivation and quality retention. The research builds on prior studies (e.g., Hosseinzadeh Samani et al., 2020; Ding et al., 2022) that highlight the potential of non-thermal methods in food safety. By investigating the effects of operational parameters, the study hypothesizes that optimized PEF and ACP systems can achieve significant microbial reduction with minimal impact engineering and food safety principles, offering practical implications for the food industry and contributing to the theoretical understanding of non-thermal

pasteurization. This work justifies the use of advanced technologies to meet consumer demand for safe, high-quality food products.

Method

The study employed an experimental design to evaluate PEF and plasma jet-spraying systems for pasteurizing sour cherry juice. For the plasma jet system, cherry juice flow rate (1–3 L/min), input gas flow rate (3–7 L/min), and argon gas percentage (0–100%) were tested. For the PEF system, the following parameters were varied: temperature (25–65°C), field intensity (5–10 kV/cm), and application time (5–35 s). *Escherichia coli* inactivation was the primary outcome measure. Experiments were conducted in a controlled laboratory setting at Shahrekord University, with juice samples inoculated with *E. coli*. Data collection involved microbial counts and quality assessments (e.g., pH, color). Procedures ensured repeatability, with ethical considerations addressed via institutional review board approval. Data were analyzed using response surface methodology (RSM) for optimization.

Sampling Procedures

Participants were not involved; instead, sour cherry juice samples were systematically prepared and inoculated with *E. coli*. Sampling took place in a controlled laboratory environment at Shahrekord University from October to December 2024. Ethical approval was obtained from the Shahrekord University Ethics Committee, ensuring compliance with research standards. No participant agreements or payments were required.

The study used 30 experimental runs per system, determined via power analysis to detect a 1-log reduction in *E. coli* with 80% power. No interim analyses or stopping rules were applied, ensuring the robust collection of data.

Results

The plasma jet-spraying system achieved a maximum of 1.372 log reduction in *E. coli* at optimal conditions: juice flow rate of 2.4 L/min, gas flow rate of 4.72 L/min, and 63.46% argon gas. The PEF system outperformed it, achieving a 3.94 log reduction at 72.64°C, 9.94 kV/cm field intensity, and 25.74 s application time. Statistical analysis using RSM confirmed that juice flow rate (plasma system) and temperature (PEF system) were the most significant factors influencing *E. coli* inactivation ($p < 0.05$). Effect sizes were moderate for plasma (Cohen's $d = 0.6$) and large for PEF (Cohen's $d = 1.2$), with confidence intervals indicating reliable estimates (95% CI: [1.1–1.6] for plasma; [3.7–4.2] for PEF). Non-significant findings included minimal impact of argon percentage beyond 60% in the plasma system, suggesting a saturation effect. Quality assessments showed that PEF maintained pH (3.4 ± 0.1) and color ($\Delta E < 2$) better than thermal methods, while plasma slightly altered color ($\Delta E = 3.2$). Both systems retained bioactive compounds (anthocyanins, >90% retention) compared to thermal pasteurization (70% retention). Raw microbial count data are available as supplemental material. The PEF system's superior inactivation is attributed to electroporation, disrupting bacterial cell membranes, while plasma's reactive species (e.g., ROS, RNS) were less effective at higher flow rates. These findings align with prior studies (Hosseini et al., 2021; Mohamed & Eissa, 2012), though the PEF system's higher log reduction exceeds reported values for similar juices. Small effect sizes for plasma at low flow rates (<1.5 L/min) suggest limitations in scalability. Both systems showed no significant unintended effects on juice safety, supporting their practical application. The results confirm the hypothesis that optimized non-thermal methods achieve significant microbial reduction while preserving quality, with PEF demonstrating greater efficacy for pasteurizing sour cherry juice.

Conclusions

This study demonstrates that PEF and plasma jet-spraying systems effectively reduce *E. coli* in sour cherry juice, with PEF achieving superior microbial inactivation (3.94 log vs. 1.372 log). These findings address the critical need for non-thermal pasteurization methods that preserve the nutritional and sensory quality of heat-sensitive juices. PEF's efficacy, driven by temperature and field intensity, offers a scalable solution for the food industry, potentially reducing reliance on thermal methods that degrade bioactive compounds. Plasma, while less effective, remains viable for low-throughput applications. The results confirm the theoretical advantage of electroporation over plasma-generated reactive species, highlighting its practical applications in food safety. Unresolved challenges include

plasma's scalability and energy costs, warranting further research. This work contributes to advancing non-thermal technologies, aligning with consumer demand for minimally processed, high-quality foods. Future studies should investigate hybrid systems that combine PEF and plasma to enhance inactivation while optimizing energy efficiency and cost-effectiveness.

Author Contributions

F. Jamali Hafshejani: Investigation, Data Curation, Writing – Original Draft.

B. Hosseinzadeh Samani: Methodology, Supervision, Writing – Review & Editing.

R. Ebrahimi: Review & Editing.

Z. Izadi: Review & Editing.

Data Availability Statement

All information and results are presented in the text of the article.

Acknowledgements

The authors thank Shahrekord University for providing laboratory facilities and technical support.

Ethical Considerations

The authors have observed ethical principles in the preparation and publication of this scientific work, and this is confirmed by all of them.

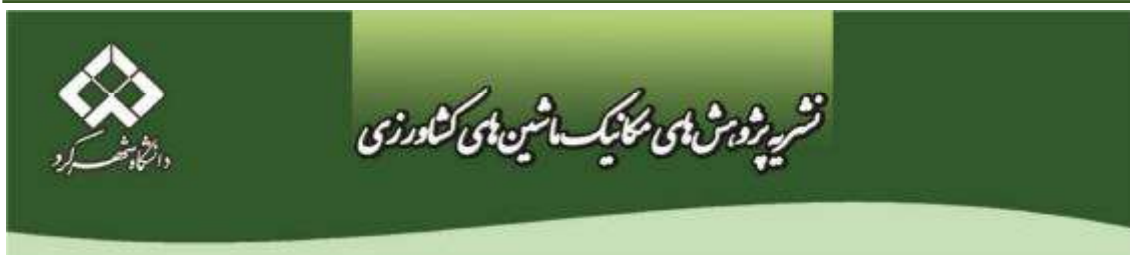
How to cite this paper:

Jamali Hafshejani, F., Hosseinzadeh Samani, B., Ebrahimi, R., and Izadi, Z. (2025). Development and evaluation of pulse electric field and plasma jet-spraying system to reduce the microbial load of cherry juice, Journal of Research in Mechanics of Agricultural Machinery. 34: 15-32. <https://dx.doi.org/10.22034/JRMAM.2025.14961.724>



Authors retain the copyright and full publishing rights.

Published by [Shahrekord University](#). This article is an open access article licensed under the [Creative Commons Attribution 4.0 International \(CC BY 4.0\)](#)



مقاله پژوهشی

توسعه و ارزیابی سامانه‌های میدان پالس الکتریک و پاششی - جت پلاسما برای کاهش بار میکروبی آب‌آلبالو

فرهاد جمالی هفشجانی^۱، بهرام حسین‌زاده سامانی^{۲*}، رحیم ابراهیمی^۳ و زهرا ایزدی^۴

۱- دانشجوی دکتری مکانیک بیوسیستم، گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲- استاد گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳- استاد گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۴- دانشیار گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

یکی از فرایندهای مهم در صنعت غذا برای سلامت و افزایش ماندگاری محصولات، پاستوریزه کردن است. با توجه به اینکه روش‌های متداول حرارتی پاستوریزه کردن موجب کاهش خواص کیفی محصولات می‌شوند، دانشمندان به دنبال روش‌هایی غیرحرارتی بوده‌اند. از این‌رو، به دلیل حساسیت بالای آب‌آلبالو به حرارت، با مقایسه دو فناوری نوین پلاسما سرد و پاششی سرد، میدان پالس الکتریک، راهکاری بهینه برای پاستوریزه کردن آب‌آلبالو ارائه شد که علاوه بر کاهش بار میکروبی، ترکیبات ارزشمند موجود در آن حفظ شود. بدین منظور اثر دبی آب آلبالو (۱ L/min - ۳ L/min)، دبی گاز ورودی برای تشکیل پلاسما (۳ L/min - ۷ L/min) و درصد گاز آرگون به هوا (۰٪ - ۱۰۰٪) بر کاهش میزان باکتری اشیرشیاکلی در سامانه ترکیبی پاششی-جت پلاسما بررسی شد، و بعد از آن اثر دما (۲۵°C - ۶۵°C)، شدت میدان (۵ kV/cm - ۱۰ kV/cm) و زمان اعمال میدان (۵ s - ۳۵ s) بر کاهش میزان اشیرشیاکلی در سامانه میدان پالس الکتریک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بهینه‌سازی نشان داد که مقدار بهینه دما، شدت میدان الکتریکی پالسی و زمان اعمال میدان جهت غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی موجود در آب‌آلبالو به ترتیب ۲/۴ L/min، ۴/۷۲ L/min و ۶۳/۴۶٪ است، که در این حالت سامانه پاششی-جت پلاسما منجر به $\log 1/372$ غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی موجود در آب‌آلبالو شد. همچنین مقدار بهینه دما، شدت میدان الکتریکی پالسی و زمان اعمال میدان جهت غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی موجود در آب‌آلبالو به ترتیب ۶۴/۷۲°C، ۹/۹۴ kV/cm و ۲۵/۷۴ s است، که در این حالت سامانه میدان الکتریکی پالسی منجر به $\log 3/94$ غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی موجود در آب‌آلبالو شد. نتایج نشان داد که این روش‌ها توانایی کاهش بار میکروبی را دارند، ولی برای از بین بردن کامل بار میکروبی نیاز به ترکیب با روش‌های دیگر دارند.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹

واژه‌های کلیدی: پاستوریزه کردن، میدان پالس الکتریک، پلاسما سرد، اتمسفری، آب‌آلبالو، باکتری اشیرشیاکلی.

*پست الکترونیکی نویسنده مسئول:

b.hosseinzadehsamani@sku.ac.ir

ORCID: 
0000-0002-8563-7080



مقدمه

پاستوریزه کردن یکی از فرآیندهای حیاتی در صنعت غذا است که به منظور افزایش ایمنی و ماندگاری محصولات غذایی استفاده می‌شود. آب‌آلبالو به دلیل خواص تغذیه‌ای فوق‌العاده، از جمله مقادیر بالای آنتی‌اکسیدان‌ها، آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنولی، جایگاه ویژه‌ای در رژیم‌های غذایی دارد. با این حال، روش‌های مرسوم پاستوریزه کردن حرارتی، به ویژه در محصولات حساس مانند آب‌آلبالو، می‌تواند به تخریب ترکیبات مفید موجود در آن منجر شود و در نهایت، کیفیت تغذیه‌ای و حسی محصول را کاهش دهد. این مسئله باعث شده تا استفاده از روش‌های نوین و غیرحرارتی مانند پلاسما سرد اتمسفری^۱ (ACP) و میدان الکتریکی پالسی^۲ (PEF) به عنوان جایگزین‌های مؤثر در فرآوری آب‌میوه‌ها مورد توجه قرار گیرد (s Samani et al., 2020; Hosseini et al., 2021).

پلاسما سرد یک فناوری نوین و غیرحرارتی است که با استفاده از گازهای بی‌اثر مانند آرگون و هوا در فشار اتمسفری، گونه‌های فعال اکسیژن^۳ (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن^۴ (RNS) را تولید می‌کند. این گونه‌های فعال، از جمله رادیکال‌های آزاد و یون‌ها، به طور مؤثر دیواره سلولی باکتری‌ها، به ویژه اشرشیاکلی^۵ (E. coli) را تخریب کرده و منجر به غیرفعال‌سازی آن‌ها می‌شوند. یکی از مزیت‌های بزرگ پلاسما سرد این است که برخلاف پاستوریزه کردن حرارتی، اثرات حرارتی ناچیزی بر محصول دارد و در نتیجه ترکیبات حساس موجود در آب‌آلبالو مانند آنتوسیانین‌ها و ویتامین C بهتر حفظ می‌شوند. مطالعات نشان داده‌اند که پلاسما سرد می‌تواند بار میکروبی E. coli را به طور چشمگیری کاهش داده و در عین حال کیفیت تغذیه‌ای و حسی آب‌آلبالو را حفظ کند (Hosseini et al., 2020).

از فناوری ACP برای غیرفعال‌سازی ریزاندامگان مختلف از جمله باکتری‌های گرم منفی چون اشرشیاکلی، و سالمونلا^۶، باکتری‌های گرم مثبت چون استافیلوکوکوس

اورئوس^۷، باسیلوس سوبتیلیس^۸ و انتروکوکوس فکالیس^۹ استفاده شده است (Ding et al., 2022). از سوی دیگر، میدان پالس الکتریکی یکی دیگر از روش‌های غیرحرارتی است که با اعمال پالس‌های الکتریکی کوتاه و با شدت بالا، به غیرفعال‌سازی ریزاندامگان می‌پردازد. این فناوری باعث ایجاد حفره‌هایی در دیواره سلولی باکتری‌ها شده و آن‌ها را غیرفعال می‌کند. PEF به دلیل عدم نیاز به افزایش دمای محصول، به طور گسترده‌ای برای فرآوری مایعات حساس مانند آب‌میوه‌ها استفاده می‌شود. در این روش، ساختارهای مهم تغذیه‌ای و حسی آب‌میوه حفظ می‌شوند، در حالی که بار میکروبی به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. تحقیقات نشان داده‌اند که PEF می‌تواند در کاهش بار میکروبی E. coli به همان اندازه مؤثر باشد که پلاسما سرد عمل می‌کند، با این تفاوت که هر دو فناوری در شرایط مختلفی ممکن است نتایج بهینه‌ای ارائه دهند (Hosseini et al., 2021).

در پژوهش‌های مختلف از فناوری PEF برای غیرفعال‌سازی ریزاندامگان مختلف از جمله باکتری‌های گرم منفی چون اشرشیاکلی، باکتری‌های گرم مثبت چون لیستریا مونوسیتوژنز^{۱۰} و قارچ‌هایی چون ساکارومایسس سرویزیه^{۱۱}، در مواد غذایی چون شیر و آب پرتغال، استفاده شده است (Jin & Zhang, 2020).

در این پژوهش با ارزیابی دقیق هر دو روش میدان پالس الکتریک و سامانه پاششی - جت پلاسما برای پاستوریزه کردن آب‌آلبالو، کارایی و مزایای آن‌ها در کاهش بار میکروبی و حفظ ویژگی‌های محصول مشخص می‌شود. هدف اصلی این پژوهش ارائه داده‌های علمی و کاربردی برای صنایع غذایی است تا از این فناوری‌ها به عنوان جایگزین‌های مؤثر در فرآوری محصولات حساس استفاده کنند.

ضرورت این تحقیق از آنجاست که با توجه به افزایش تقاضا برای مواد غذایی سالم و حفظ ویژگی‌های تغذیه‌ای محصولات، نیاز به روش‌های غیرحرارتی مؤثر برای جایگزینی پاستوریزه کردن حرارتی بیشتر احساس می‌شود. آب‌آلبالو به دلیل حساسیت بالایی که به دما دارد،

7- Staphylococcus aureus

8- Bacillus subtilis

9- En. faecalis

10- Listeria monocytogenes: L. monocytogenes

11- Saccharomyces cerevisiae: S. cerevisiae

1- Atmospheric Cold Plasma: ACP

2- Pulsed Electric Field: PEF

3- Reactive Oxygen Species : ROS

4- Reactive Nitrogen Species: RNS

5- Escherichia coli: E.coli

6- Salmonella

خازن استفاده کرد (Mohamed & Eissa, 2012). به منظور کاهش هزینه‌های اولیه ساخت، در این پژوهش از منبع تناوبی استفاده شد (Mohamed & Eissa, 2012).

سامانه پاششی - جت پلاسمای سرد فشار اتمسفری

در سامانه پاششی - جت پلاسمای سرد فشار اتمسفری، زمانی که میکرواورگانیسم‌ها با شدت زیادی در معرض بمباران رادیکال^۸ قرار بگیرند، زخم‌هایی در سطح سلول ایجاد می‌شود که قادر به ترمیم سریع آن‌ها نیستند و منجر به تخریب سریع سلول زنده می‌شود. به این عمل اصطلاحاً حکاکی کردن گفته می‌شود (Dey et al., 2016). الکتروپوراسیون، بمباران یونی^۹ و اختلال الکترواستاتیک^{۱۰} از ویژگی‌های فیزیکی پلاسمای سرد برای غیرفعال‌سازی باکتری هستند. در حالت قرار گرفتن به صورت مستقیم با پلاسمای سرد، میدان الکتریکی تولید شده توسط پلاسما، ممکن است سازوکار غیرفعال‌سازی‌ای شبیه به PEF به وجود بیاورد که موجب الکتروپوراسیون سلول‌های باکتری شود و منجر به وجود آمدن منافذ در غشای سلولی شود. یون‌های فراوان تولید شده حاصل از یونیزه شدن گاز، تحت تأثیر میدان الکتریکی انرژی جنبشی را به دست می‌آورند که می‌تواند منجر به بمباران یونی روی پوشش سلولی شود و در نتیجه موجب آسیب‌های ساختاری شود (Ding et al., 2022). در کاربردهای غذایی، از هوای اتمسفر برای تولید پلاسمای سرد به منظور غیرفعال‌سازی ریزندامگان بیش‌تر مورد استفاده قرار می‌گیرد. گونه‌های فعال^{۱۱} هوا شامل ROS، RNS، پرتوهای فرابنفش و ذرات باردار هستند (Yepez et al., 2020).

با توجه به خواص و سازگاری ذکر شده هوا برای تولید پلاسمای سرد فشار اتمسفری در کاربردهای مربوط به ضدعفونی در صنایع غذایی، از ترکیب هوا و آرگون برای تولید پلاسما توسط تخلیه DBD به صورت جت پلاسما استفاده خواهد شد. تولید پلاسمای سرد با استفاده از منبع تغذیه مستقیم (DC) در مقایسه با منبع تناوبی (AC) سبب تخریب بیش‌تر مواد مغذی موجود در محصولات غذایی می‌شود (Korachi et al., 2009).

از جمله محصولاتی است که در فرآیندهای حرارتی دچار تخریب می‌شود. در این راستا، پژوهش حاضر با مقایسه دو فناوری نوین پلاسمای سرد اتمسفری و میدان پالس الکتریکی، به دنبال ارائه راهکاری بهینه برای پاستوریزه کردن آب‌آلبالو است که بتواند علاوه بر کاهش بار میکروبی، ترکیبات ارزشمند موجود در آن را حفظ کند.

مواد و روش‌ها

سامانه پاستوریزه کردن میدان الکتریکی پالسی

در سامانه میدان الکتریکی پالسی با استفاده از پالس‌های ولتاژ بالا با مدت زمان بین ۱ میکروثانیه تا ۱ میلی ثانیه یک میدان الکتریکی بین دو الکترود موجود در محفظه PEF که در فاصله بین آن‌ها مواد غذایی به صورت ایستا یا پیوسته قرار دارد به وجود می‌آید (Jin & Zhang, 2020). ماده غذایی به دلیل وجود چندین یون قادر به انتقال الکتریسیته است که به محصول مورد نظر درجه خاصی از رسانایی الکتریکی^۱ می‌دهد، بنابراین، هنگامی که یک میدان الکتریکی اعمال می‌شود، جریان الکتریکی وارد مواد غذایی می‌شود و به دلیل وجود مولکول‌های باردار به هر نقطه از آن منتقل می‌شود. (Mohamed & Eissa, 2012). قرار گرفتن غشاهای زیستی^۲ در معرض یک میدان الکتریکی بالا، منجر به افزایش سریع و زیاد هدایت الکتریکی و در نتیجه نفوذپذیری آن‌ها می‌شود. این اثر را الکتروپوراسیون^۳ می‌نامند. تیمار میدان الکتریکی پالسی موجب الکتروپوراسیون غشاهای سلولی در میکروب‌ها می‌شود (Kotnik et al., 2015; Rems & Miklavcic, 2016).

سامانه میدان الکتریکی پالسی از چهار بخش اصلی تشکیل می‌شود (شکل ۱): تولید کننده پالس^۴، محفظه تیمار^۵، سامانه انتقال سیال^۶ و دستگاه‌های کنترل و نظارت^۷ (Jin & Zhang, 2020). تولید کننده پالس سامانه میدان الکتریکی پالسی شامل منبع تغذیه و بانک خازن و سوئیچ‌ها برای ایجاد پالس است. از منبع تغذیه مستقیم (DC) و تناوبی (AC) می‌توان برای شارژ نمودن بانک

1- Electrical conductivity

2- Biological membranes

3- Electroporation

4- Pulse generator

5- Treatment chamber

6- Fluid handling system

7- Control and monitoring devices

8- Radical bombardment

9- Ion bombardment

10- Electrostatic disruption

11- Reactive species

میدان تشکیل شده بین الکترودها است. میدان تشکیل شده نیز تابعی از ویژگی‌های منبع تغذیه از جمله ولتاژ و بسامد آن است (Misra *et al.*, 2016).

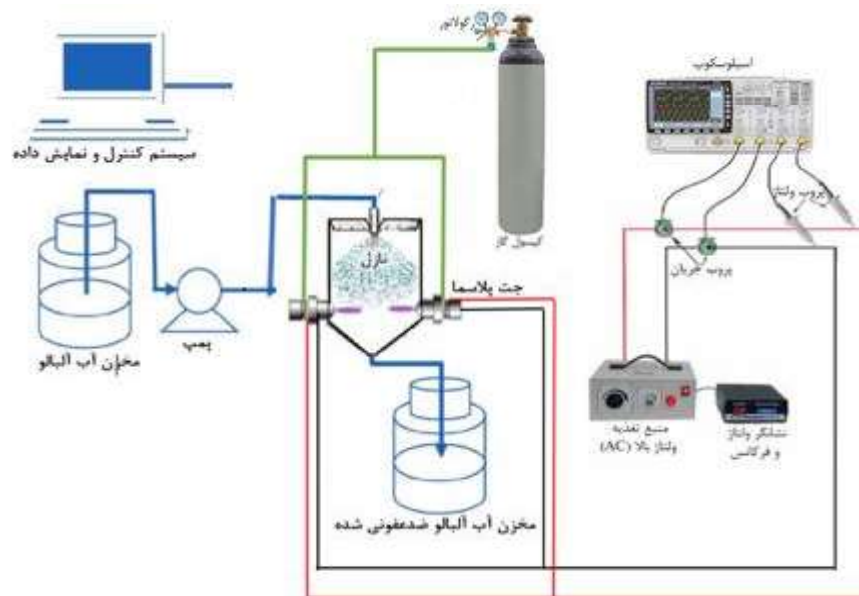
از روش طیف‌سنج نوری (spectroscopic) جهت مشخص شدن گونه‌های ایجاد شده به وسیله گاز آرگون و هوا استفاده خواهد شد. برای این منظور از طیف‌سنج Ocean Optics مدل HR2000 + CG ساخت کشور آلمان استفاده شد. ویژگی‌های مورد نیاز جهت توسعه سامانه براساس اصول طراحی و روابط حاکم تعیین شد (Lu *et al.*, 2016).

بنابراین در این پژوهش از یک منبع تغذیه تناوبی ولتاژ متغیر و بسامد متغیر استفاده شد (شکل ۲).

سامانه تولید پلاسما در این پژوهش از دو الکترود هم‌محور و یک دی‌الکتریک حلقوی تشکیل می‌شود. یکی از الکترودها به صورت یک سیم مستقیم در مرکز و به فاصله مشخص از آن الکترود حلقوی قرار می‌گیرد. دی‌الکتریک به کار گرفته شده به صورت یک لوله باریک طراحی می‌شود که الکترود حلقوی روی سطح خارجی آن نصب خواهد شد. جنس الکترود مرکزی از فلز تنگستن و جنس الکترود حلقوی از فلز مس و دی‌الکتریک از سرامیک انتخاب خواهد شد. ضخامت لایه دی‌الکتریک تابع شدت



شکل ۱- طرح‌واره سامانه میدان پالس الکتریکی



شکل ۲- طرح اولیه سامانه پاستوریزه کردن پاششی - جت پلاسمای سرد فشار اتمسفری

استفاده شد. در طول آزمایش‌ها دما و رطوبت نسبی آزمایشگاه به ترتیب برابر با $25 \pm 1^\circ\text{C}$ و $45 \pm 1\%$ درصد ثابت نگه داشته شدند. در آزمایش‌های میکروبی، به منظور

آماده‌سازی نمونه‌ها و آزمایش‌های میکروبی

برای انجام آزمایش‌های میکروبی و کیفی، از نمونه‌های آب آلبالو که با آب‌گیری از آلبالوهای تازه، تهیه شده بودند،

اثر متقابل دما و زمان اعمال میدان و اثر متقابل شدت میدان و زمان اعمال میدان در غیرفعال‌سازی باکتری‌های اشرشیاکلی موجود در آب آلبالو معنی‌دار هستند.

با توجه به مقدار مجموع مربع‌های عامل دما، مشخص می‌شود که تقریباً ۵۷٪ از تغییرات داده‌ها را این عامل به خود اختصاص می‌دهد. مدل به دست آمده با استفاده از روش سطح پاسخ برای غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی، مدل درجه دوم با ضریب تبیین ۰/۹۹۸۶ و انحراف استاندارد $10^{-3} \times 3/8$ و ضریب واریانس ۰/۱۴ است. معادله (۲) به دست آمده در شرایط رمزبندی شده و معادله (۳) مدل واقعی را نشان می‌دهد. در معادله (۲) بزرگ‌ترین ضریب منفی مربوط به عامل دما است، لذا مدل ارائه شده نیز افزایش دما را به عنوان مهم‌ترین عامل در غیرفعال‌سازی باکتری معرفی می‌کند. در معادله (۳) ضریب منفی عامل‌ها بیان‌گر این است که با افزایش هر کدام از آن‌ها میزان باکتری‌های اشرشیاکلی در آب آلبالو کاهش می‌یابد.

$$\log \left(\frac{N}{N_0} \right) = -2.97 - 0.76 * x_1 - 0.51 * x_2 - 0.33 * x_3 + 7.75 * 10^{-3} * x_1 x_2 + 0.012 * x_1 x_3 - \quad (2)$$

$$+ 5.375 * 10^{-3} x_2 x_3 + 0.4 * x_1^2 + 0.014 * x_2^2 - 0.059 * x_3^2$$

$$\log \left(\frac{N}{N_0} \right) = +2.774 - 0.12882 * x_1 - 0.23998 * x_2 - 0.011937 * x_3 + 1.55 * 10^{-4} * x_1 x_2 + \quad (3)$$

$$+ 4.16667 * 10^{-5} * x_1 x_3 - 1.43333 * 10^{-4} x_2 x_3 + 0.988073 * 10^{-4} * x_1^2 + 2.21667 * 10^{-3} * x_2^2 - 2.63981 * 10^{-3} x_3^2$$

که در این معادلات x_1 : دما (°C)، x_2 : شدت میدان (kV/cm) و x_3 : زمان اعمال میدان (s) است.

با توجه به شکل ۳، با افزایش دما، شدت میدان و همچنین زمان اعمال میدان، غیرفعال‌سازی باکتری‌ها در سامانه میدان الکتریکی پالسی افزایش می‌یابد و اثر دما نسبت به شدت میدان الکتریکی و همچنین زمان اعمال میدان بیش‌تر است. چرا که با افزایش دما از ۲۵ °C به ۶۵ °C غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی ۸۳٪ افزایش و در مقابل با افزایش شدت میدان الکتریکی از ۵ kV/cm به ۱۰ kV/cm غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی ۴۱٪ افزایش یافت. همچنین با افزایش زمان اعمال میدان از ۵ s به ۳۵ s غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی ۲۴٪ افزایش یافت.

حذف هرگونه آلودگی و انجام گندزدایی اولیه، نمونه‌های آب آلبالو به همراه سایر وسایل آزمایشگاهی مورد استفاده، در دمای ۱۲۱°C، فشار ۱۵ psi و به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو^۱ شدند. سپس آب آلبالوی اتوکلاو شده با باکتری‌های اشرشیاکلی آلوده و پس از اعمال پلاسما و میدان الکتریکی به طور جداگانه تغییرات بوجود آمده در سطح باکتری‌ها، تعیین شد. شمارش باکتری‌ها قبل و بعد از تیمار و به روش شمارش استاندارد^۲ انجام گرفت (Deng et al., 2010).

روش تحلیل داده‌ها

با استفاده از روش سطح پاسخ^۳ شرایط بهینه جهت طراحی آزمایش‌ها و تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد. در این روش به منظور به دست آوردن مقدار بهینه، از حل معادله (۱) استفاده شد.

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \sum \beta_{ijj} X_i^2 + \varepsilon \quad (1)$$

که در آن، β_0 ، β_i ، β_{ij} و β_{ijj} ضرایب ثابت و X_i و X_j متغیرهای مستقل و ε خطای تصادفی هستند (Samani et al., 2018).

در این پژوهش، اثر دبی آب آلبالو (۱-۳ L/min)، دبی گاز ورودی برای تشکیل پلاسما (۳-۷ L/min) و درصد گاز آرگون به هوا (۰-۱۰۰٪) بر کاهش میزان اشیرشیاکلی در سامانه ترکیبی پاششی-جت پلاسما بررسی شد، و بعد از آن اثر دما (۲۵-۶۵ °C)، شدت میدان (۵-۱۰ kV/cm) و زمان اعمال میدان (۵-۳۵ s) بر کاهش میزان اشیرشیاکلی در سامانه میدان پالس الکتریک مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج و بحث

ارزیابی سامانه میدان پالس الکتریک بر کاهش اشیرشیاکلی

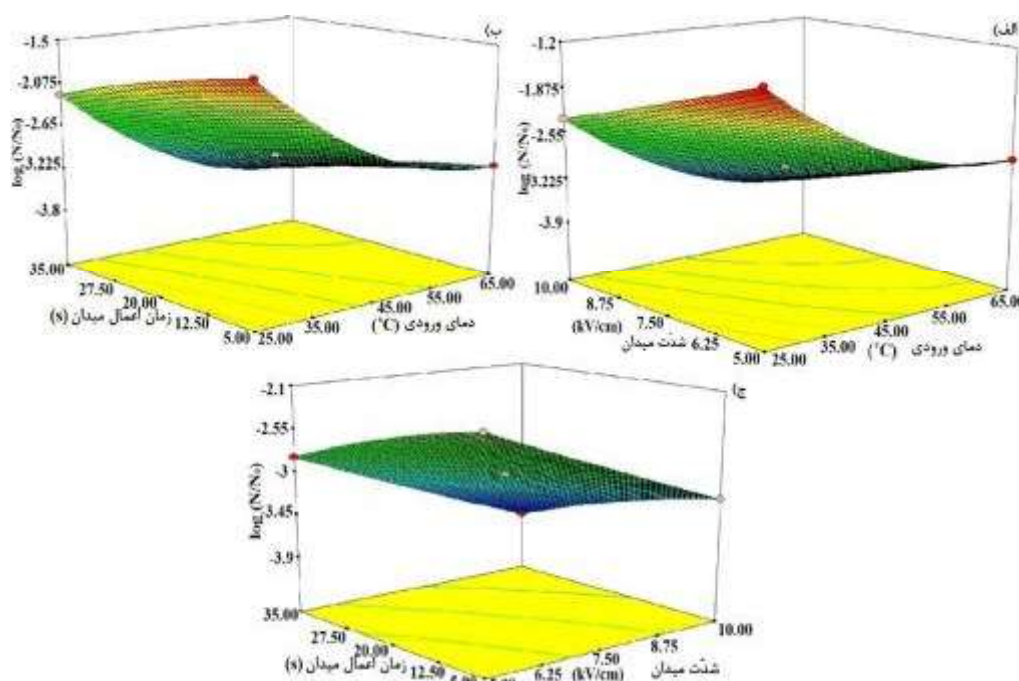
نتایج تجزیه واریانس در جدول ۱ نشان می‌دهد که در سطح احتمال ۱۰ درصد، اثرات دما، شدت میدان، زمان اعمال میدان و همچنین اثر متقابل دما و شدت میدان و

1- Autoclave
2- Standard or viable plate count
3- Response Surface Methodology: RSM

جدول ۱- تجزیه واریانس متغیرهای دما، شدت میدان و زمان اعمال میدان سامانه میدانی الکتریکی پالسی بر غیرفعال سازی باکتری اشرشیاکلی در آب آلبالو

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات
مدل	۹	۸/۱	۰/۹ ^{xx}
دما (°C)	۱	۴/۵۹	۴/۵۹ ^{xx}
شدت میدان (kV/cm)	۱	۲/۰۵	۲/۰۵ ^{xx}
زمان اعمال میدان (s)	۱	۰/۸۵	۰/۸۵ ^{xx}
دما × شدت میدان	۱	۲/۴۰۳ × ۱۰ ^{-۴}	۲/۴۰۳ × ۱۰ ^{-۴} ^{xx}
دما × زمان اعمال میدان	۱	۶/۲۵ × ۱۰ ^{-۴}	۶/۲۵ × ۱۰ ^{-۴} ^{xx}
شدت میدان × زمان اعمال میدان	۱	۱/۱۵۶ × ۱۰ ^{-۴}	۱/۱۵۶ × ۱۰ ^{-۴} ^{xx}
دما ^۲	۱	۰/۵۸	۰/۵۸ ^{xx}
شدت میدان ^۲	۱	۷/۰۸۷ × ۱۰ ^{-۴}	۷/۰۸۷ × ۱۰ ^{-۴} ^{xx}
زمان اعمال میدان ^۲	۱	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳ ^{xx}
باقیمانده	۵	۷/۲۶ × ۱۰ ^{-۵}	۱/۴۵۲ × ۱۰ ^{-۵}
عدم برازش	۳	۶/۳۹۴ × ۱۰ ^{-۵}	۲/۱۳۱ × ۱۰ ^{-۵} ns
خطای خالص	۲	۸/۶۶۷ × ۱۰ ^{-۶}	۴/۳۳۳ × ۱۰ ^{-۶}
کل	۱۴	۸/۱	-

^{xx} معنی‌داری در سطح ۱۰ درصد، ^{ns} عدم معنی‌داری در سطح ۱۰ درصد



شکل ۳- اثر متقابل (الف) دما و شدت میدان، (ب) دما و زمان اعمال میدان، (ج) شدت میدان و زمان اعمال میدان بر غیرفعال سازی اشرشیاکلی در سامانه میدانی الکتریکی پالسی

بیش‌تری به میدان الکتریکی پیدا می‌کند. این مسئله در مطالعات دیگر نیز مشاهده شده است، که نشان می‌دهد دمای بالاتر با افزایش نفوذپذیری غشاء، فرآیند الکتروپوراسیون (تشکیل حفره‌ها در غشای سلول) را تسهیل می‌کند.

افزایش دمای آب آلبالو باعث تسريع غیرفعال سازی باکتری‌ها می‌شود که می‌تواند به دلیل افزایش نفوذپذیری غشای سلولی *E. coli* در دماهای بالاتر باشد. در دماهای بالاتر، غشای سلولی باکتری‌ها به دلیل تغییرات فیزیکی مانند افزایش تحرک و چربی‌های سیالیت، حساسیت

هستند، هم‌خوانی دارد. با این حال، یافته‌ها نشان داد که زمان‌های طولانی‌تر از حد بهینه می‌توانند باعث کاهش بهره‌وری انرژی و حتی تأثیر منفی بر برخی ویژگی‌های محصول شوند.

تیمار میدان الکتریکی پالسی (PEF) نتایج امیدوارکننده‌ای را در کاهش بار میکروبی آب‌میوه‌ها با حفظ ویژگی‌های کیفی نشان داده است. دما نقش مهمی در اثربخشی PEF ایفا می‌کند، دمای بالاتر غیرفعال‌سازی میکروبی را افزایش می‌دهد (Timmermans *et al.*, 2014; El-Hag *et al.*, 2008). یک اثر هم‌افزایی بین دما و پالس‌های الکتریکی در بالای ۳۵ °C مشاهده شد که به انرژی کمتری برای غیرفعال شدن نیاز داشت (Timmermans *et al.*, 2014).

Hodgins *et al.*, (2002) اثر PEF را همراه با افزودن نایسین^۳، لیزوزیم^۴ یا ترکیبی از هر دو به آب پرتقال مورد بررسی قرار دادند. شرایط بهینه برای تیمار آب پرتقال شامل ۲۰ پالس در ۸۰ kV/cm، pH ۳/۵ و ۴۴ °C همراه با ۶ log U ninsin/ml بود که منجر به کاهش بیش از ۶ در جمعیت میکروبی شد.

Aadil *et al.*, (2018) با استفاده از تیمار PEF همراه با تیمار اولتراسوند^۵ به طور قابل توجهی بار میکروبی را در آب گریپ فروت کاهش داد، در حالی که ترکیبات زیست فعال را افزایش داد. ماتریس آب‌میوه، به ویژه pH، بر بازدهی غیرفعال‌سازی تأثیر می‌گذارد. در بین ریزاندامگانی آزمایش‌شده، ساکارومایسس سرویزیه به PEF حساس‌تر بود، در حالی که لیستریا مونوسیتوزنز^۶ بالاترین مقاومت را نشان داد. تیمار PEF می‌تواند به طور مؤثر بار میکروبی در آب میوه‌ها را کاهش دهد و در عین حال کیفیت تغذیه‌ای را حفظ کند (Timmermans *et al.*, 2014).

تیمار PEF به طور مؤثر بار میکروبی را در آب میوه‌ها کاهش می‌دهد و در عین حال ترکیبات زیست فعال را حفظ می‌کند. شدت میدان الکتریکی بیش‌تر و زمان‌های تیمار طولانی‌تر منجر به غیرفعال‌سازی میکروبی بیش‌تر می‌شود (Krishnaveni, 2023; Yeom *et al.*,

ترکیب میدان‌های الکتریکی پالسی (PEF) و عملیات حرارتی ملایم، اثرات هم‌افزایی در غیرفعال‌سازی میکروبی در محصولات غذایی مختلف نشان داده است. مطالعات بر روی آب سیب قرمز کدر (Katiyo *et al.*, 2017)، سفیده تخم مرغ مایع (Zhao *et al.*, 2007) و شیر بدون چربی (Fernandez-Molina *et al.*, 2005) کاهش میکروبی قابل توجهی را بدون به خطر انداختن کیفیت محصول نشان دادند. اثربخشی این رویکرد ترکیبی در برابر بیماری‌زاهای رایج غذایی مانند اشرشیاکلی، سالمونلا^۱ و ساکارومایسس سرویزیه^۲ مشاهده شد. افزایش قدرت میدان الکتریکی، زمان تیمار و دما باعث افزایش غیرفعال‌سازی میکروبی می‌شود (Yan *et al.*, 2021). اثر هم‌افزایی به دمای کاهش شدت میدان الکتریکی بحرانی مورد نیاز برای غیرفعال‌سازی میکروبی نسبت داده شد (Yan *et al.*, 2021). این تیمار ترکیبی هم‌چنین قابلیت را در افزایش عمر مفید و حفظ خواص فیزیکی - شیمیایی محصولات تیمار شده نشان داد (Katiyo *et al.*, 2017; Fernandez-Molina *et al.*, 2005). به طور کلی، ترکیب PEF-heat یک روش پاستوریزه کردن غیرحرارتی امیدوارکننده برای کاربردهای مختلف غذایی ارائه می‌کند. شدت میدان الکتریکی به عنوان دومین عامل مهم در غیرفعال‌سازی E. coli شناسایی شد. افزایش شدت میدان منجر به افزایش میزان ایجاد حفره‌ها در غشای سلولی باکتری‌ها و در نتیجه تسریع غیرفعال‌سازی آن‌ها می‌شود. این یافته‌ها با سایر مطالعاتی که نشان‌دهنده تأثیر مثبت شدت میدان الکتریکی بر غیرفعال‌سازی ریزاندامگان در فرآیند PEF هستند، هم‌خوانی دارد. شدت بالاتر میدان الکتریکی منجر به افزایش سرعت و تعداد الکتروپوراسیون‌های رخ داده در غشای سلولی می‌شود، که تأثیر مثبتی بر کاهش بار میکروبی دارد.

نتایج این تحقیق نشان داد که زمان اقامت طولانی‌تر می‌تواند به بهبود کاهش E. coli کمک کند، زیرا افزایش زمان تماس بین میدان الکتریکی و مایع امکان تخریب بیش‌تری برای ریزاندامگان فراهم می‌کند. این یافته‌ها با مطالعات دیگر که نشان‌دهنده اهمیت زمان تماس در بهبود کارایی فرآیندهای پاستوریزه کردن غیرحرارتی

3- Ninsin
4- Lysozyme
5- Ultrasound
6- L. monocytogenes

1- Salmonella
2- Saccharomyces cerevisiae; S. cerevisiae

داده‌ها را این عامل به خود اختصاص می‌دهد. مدل به دست آمده با استفاده از روش سطح پاسخ برای غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی، مدل درجه دوم با ضریب تبیین 0.9988 و انحراف استاندارد $10^{-3} \times 9/9$ و ضریب واریانس 0.08 است. معادله (۴) معادله به دست آمده در شرایط رمزبندی شده و معادله (۵) مدل واقعی را نشان می‌دهد. در معادله (۴) بزرگ‌ترین ضریب مربوط به عامل نرخ جریان آب‌میوه و مجذور آن است، لذا مدل ارائه شده نیز افزایش نرخ جریان آب‌میوه را به عنوان مهم‌ترین عامل در غیرفعال‌سازی باکتری معرفی می‌کند.

$$\log \left(\frac{N}{N_0} \right) = -1.36 - 0.091 * y_1 + 0.011 * y_2 - 7.625 * 10^{-3} * y_3 - 5 * 10^{-4} * y_1 y_2 + 1.25 * 10^{-3} * y_1 y_3 - 6 * 10^{-3} y_2 y_3 + 0.13 * y_1^2 + 0.098 * y_2^2 + 8.292 * 10^{-3} * y_3^2 \quad (4)$$

$$\log \left(\frac{N}{N_0} \right) = -0.06199 - 0.61454 * y_1 - 0.23635 * y_2 - 2.34167 * 10^{-4} * y_3 - 2.5 * 10^{-4} * y_1 y_2 + 2.5 * 10^{-5} * y_1 y_3 - 6 * 10^{-5} * y_2 y_3 + 0.13079 * y_1^2 + 0.024510 * y_2^2 + 3.31667 * 10^{-6} * y_3^2 \quad (5)$$

که در این معادلات، y_1 : نرخ جریان آب‌میوه (L/min)، y_2 : نرخ جریان گاز (L/min) و y_3 : نسبت آرگون به هوا (%) است.

با توجه به شکل ۴-الف با افزایش نرخ جریان آب‌میوه، غیرفعال‌سازی باکتری‌ها در سامانه پاششی-جت پلاسما افزایش می‌یابد، و در نرخ‌های بالاتر از محدوده (L/min) ۲ به ۲/۵ کاهش می‌یابد، چرا که با افزایش نرخ جریان آب‌میوه از (L/min) ۱ به محدوده (L/min) ۲ به ۲/۵، غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی ۲۰٪ افزایش یافت و پس از این حد تا (L/min) ۳، غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی کاهش می‌یابد، به صورتی که با در نظر گرفتن افزایش نرخ جریان آب‌میوه از (L/min) ۱ به ۳، غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی فقط ۱۶٪ افزایش می‌یابد. افزایش نرخ جریان آب‌میوه به دلیل افزایش تماس آب‌میوه با جت پلاسما منجر به افزایش کارایی غیرفعال‌سازی باکتری E. coli می‌شود.

(2000). تیمار PEF در ۳۵ kV/cm برای ۵۹ ms به کاهش $7 \log$ بار میکروبی و ۹۰٪ غیرفعال شدن پکتین متیل استراز^۱ در آب پرتقال دست یافت (Yeom et al., 2000). شدت میدان ۲۰-۳۰ با ۱۵۰ پالس در کاهش بار میکروبی و افزایش ماندگاری آب نیشکر مؤثر بود (Kavalvizhi et al., 2016). اثربخشی تیمار PEF بسته به نوع ریزاندامگان متفاوت است، اشرشیاکلی حساسیت بالاتری در مقایسه با ساکارومایسس سرویزیه و استافیلوکوکوس اورئوس^۲ نشان می‌دهد (Krishnaveni, 2023). این مطالعات نشان می‌دهد که PEF یک فناوری غیرحرارتی امیدوارکننده برای نگهداری آب‌میوه است.

بهینه‌سازی سامانه میدان الکتریکی پالسی برای غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی

شرایط بهینه استفاده از سامانه میدان الکتریکی پالسی با در نظر گرفتن غیرفعال‌سازی حداکثری باکتری‌های اشرشیاکلی موجود در آب آلبالو تعیین گردید. شرایط مرزی بهینه‌سازی مطابق جدول ۲ در نظر گرفته شد.

نتایج بهینه سازی نشان می‌دهد که با داشتن شرایط مرزی جدول ۲، مقدار بهینه دما، شدت میدان الکتریکی پالسی و زمان اعمال میدان جهت غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی موجود در آب‌آلبالو به ترتیب $64/72^\circ\text{C}$ ، ۹/۹۴ kV/cm و ۲۵/۷۴ s است، که در این حالت سامانه میدان الکتریکی پالسی منجر به $3/94 \log$ غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی موجود در آب‌آلبالو می‌شود.

ارزیابی سامانه پاششی-جت پلاسما بر کاهش اشرشیاکلی

نتایج تجزیه واریانس در جدول ۳ نشان می‌دهد که در سطح احتمال ۱ درصد، اثرات نرخ جریان آب‌میوه، نرخ جریان گاز، نسبت آرگون به هوا و همچنین اثر متقابل نرخ جریان گاز و نسبت آرگون به هوا در غیرفعال‌سازی باکتری‌های اشرشیاکلی موجود در آب آلبالو معنی‌دار هستند.

با توجه به مقدار مجموع مربعات عامل نرخ جریان آب‌میوه، مشخص می‌شود که تقریباً ۴۲٪ از تغییرات

1- Pectin methylesterase

2- Staphylococcus aureus: S. aureus

همان‌طور که در نتایج مشاهده شد، این عامل تأثیر معنی‌داری بر کاهش بار میکروبی دارد. نرخ‌های بالاتر آب‌میوه باعث برخورد بیش‌تر با گونه‌های فعال ایجادشده توسط پلاسما می‌شوند که این امر به افزایش غیرفعال‌سازی ریزاندامگان منجر می‌گردد. در عین حال، باید توجه داشت که نرخ جریان خیلی بالا می‌تواند باعث کاهش زمان تماس پلاسما با ریزاندامگان شود، که در این حالت کارایی کاهش پیدا خواهد کرد. بنابراین، پیدا کردن یک تعادل مناسب برای دستیابی به بهترین نتایج ضروری است.

شکل ۴- ب بیان می‌کند که با افزایش نرخ جریان گاز، غیرفعال‌سازی باکتری‌ها در سامانه پاششی-جت پلاسما در ابتدا افزایش و سپس کاهش می‌یابد، به صورتی که با افزایش نرخ جریان آب‌میوه از ۳ (L/min) به ۷

غیرفعال‌سازی باکتری‌ها به میزان ۲٪ کاهش می‌یابد. نرخ جریان گاز به عنوان یک متغیر حیاتی در پایداری پلاسما و تولید گونه‌های فعال تأثیرگذار است. افزایش نرخ جریان گاز باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن در پلاسما می‌شود که مستقیماً بر غیرفعال‌سازی E. coli تأثیر می‌گذارد. نرخ‌های بالاتر جریان گاز باعث بهبود کارایی پلاسما شده و تولید گونه‌های بیشتر از رادیکال‌های اکسیژن فعال (ROS) و سایر گونه‌های واکنشی می‌شود که به تخریب بیش‌تر غشای سلولی باکتری‌ها کمک می‌کند. با این حال، افزایش بیش از حد نرخ جریان گاز ممکن است باعث کاهش زمان اقامت گونه‌های فعال در سامانه و کاهش کارایی کلی شود. بنابراین، مانند نرخ جریان آب‌میوه، این متغیر نیز باید به دقت بهینه‌سازی شود.

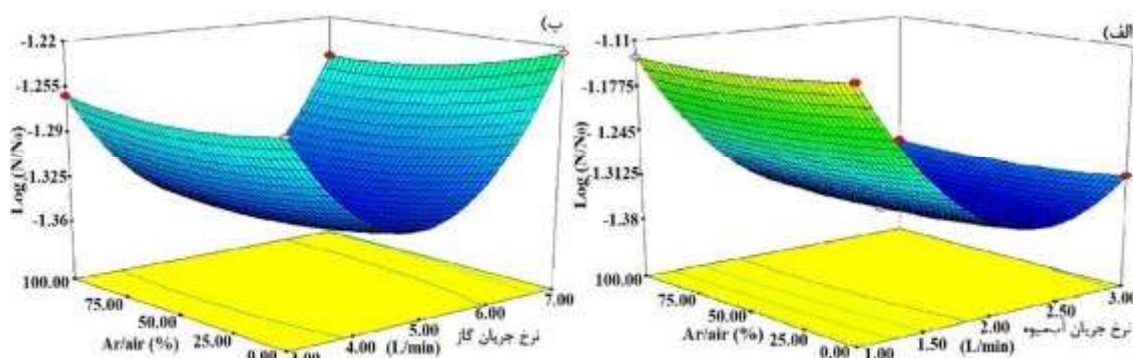
جدول ۲- شرایط مرزی استفاده شده در سامانه جهت بهینه‌سازی داده‌ها

نام	هدف	حد پایین	حد بالا	وزن پایین	وزن بالا	اهمیت
دما ($^{\circ}\text{C}$)	در محدوده	۲۵	۶۵	۱	۱	۳
شدت میدان (kV/cm)	در محدوده	۵	۱۰	۱	۱	۳
زمان اعمال میدان (s)	در محدوده	۵	۳۵	۱	۱	۳
Log (N/N ₀)	حداقل	- ۳/۸۵۴	- ۱/۲۹۲	۱	۱۰	۵

جدول ۳- تجزیه واریانس متغیرهای نرخ جریان آب‌میوه، نرخ جریان گاز و نسبت آرگون به هوا سامانه پاششی-جت پلاسما بر غیرفعال-سازی اشرشیاکلی در آب آلبالو

منبع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات
مدل	۹	۰/۱۶	۰/۰۱۸ ^{xx}
نرخ جریان آب‌میوه (l/min)	۱	۰/۰۶۷	۰/۰۶۷ ^{xx}
نرخ جریان گاز (l/min)	۱	$۸/۲ \times ۱۰^{-۴}$	$۸/۲ \times ۱۰^{-۴}$
نسبت آرگون به هوا (%)	۱	$۴/۶۵۱ \times ۱۰^{-۴}$	$۴/۶۵۱ \times ۱۰^{-۴}$
نرخ جریان آب‌میوه $\times$ نرخ جریان گاز	۱	۱×۱۰^{-۶}	۱×۱۰^{-۶} ns
نرخ جریان آب‌میوه $\times$ نسبت آرگون به هوا	۱	$۶/۲۵ \times ۱۰^{-۶}$	$۶/۲۵ \times ۱۰^{-۶}$ xx
نرخ جریان گاز $\times$ نسبت آرگون به هوا	۱	$۱/۴۴ \times ۱۰^{-۴}$	$۱/۴۴ \times ۱۰^{-۴}$ xx
نرخ جریان آب‌میوه ^۲	۱	۰/۰۶۳	۰/۰۶۳ ^{xx}
نرخ جریان گاز ^۲	۱	۰/۰۳۵	۰/۰۳۵ ^{xx}
نسبت آرگون به هوا ^۲	۱	$۲/۵۳۹ \times ۱۰^{-۴}$	$۲/۵۳۹ \times ۱۰^{-۴}$ xx
باقیمانده	۵	$۴/۹۱۷ \times ۱۰^{-۶}$	$۹/۸۳۳ \times ۱۰^{-۷}$
عدم برازش	۳	$۲/۵ \times ۱۰^{-۷}$	$۸/۳۳۳ \times ۱۰^{-۸}$ ns
خطای خالص	۲	$۴/۶۶۷ \times ۱۰^{-۶}$	$۲/۳۳۳ \times ۱۰^{-۶}$
کل	۱۴	۰/۱۶	-

xx معنی‌داری در سطح ۱۰ درصد ns عدم معنی‌داری در سطح ۱۰ درصد



شکل ۴- اثر متقابل الف) نرخ جریان آب‌میوه و نسبت آرگون به هوا، ب) نرخ جریان گاز و نسبت آرگون به هوا

تیمار پلاسمای سرد اتمسفری (ACP) با استفاده از ترکیبات مختلف گاز اثرات ضد میکروبی قابل توجهی را نشان داده است. پلاسمای هلیوم و آرگون به طور مؤثری تعداد میکروب را در سطوح غذا و محیط‌های آگار کاهش داد، با پلاسمای هلیوم عملکرد برتر را نشان داد (Ulbin-Figlewicz *et al.*, 2015). افزودن اکسیژن به پلاسمای هلیوم خواص میکروب‌کشی آن را از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن افزایش داد (Arjunan *et al.*, 2016). پلاسمای هلیوم/اکسیژن به طور مؤثر باکتری‌ها، مخمرها و اندوسپورهای باکتریایی را با مقادیر D متفاوت بسته به میکروارگانیسم و غلظت اولیه گندزدایی می‌کند (Kwang-Hyun *et al.*, 2006). میکروسکوپ الکترونی روبشی آسیب ساختاری به سلول‌های تیمار شده، از جمله از هم‌گسیختگی و لیز سلولی را نشان داد (Kwang-Hyun *et al.*, 2006; Ulbin-Figlewicz *et al.*, 2015). علاوه بر این، ترکیب ACP با پراکسید هیدروژن اثرات ضد باکتریایی هم‌افزایی، افزایش حمل و نقل غشایی گونه‌های فعال و اکسیداسیون درون سلولی را نشان داد (Baik *et al.*, 2023). این یافته‌ها قابلیت تیمارهای ACP را با استفاده از ترکیبات مختلف گاز برای غیرفعال‌سازی میکروبی در کاربردهای مختلف، از جمله نگهداری مواد غذایی و تنظیمات بالینی، برجسته می‌کند. مطالعات اخیر تیمارهای غیرحرارتی مختلف را برای افزایش ایمنی میکروبی و کیفیت آب میوه‌ها مورد بررسی قرار داده‌اند. ازن زنی آب نیشکر به طور قابل توجهی بار میکروبی و فعالیت آنزیمی را کاهش داد و در عین حال خواص حسی قابل قبولی را حفظ کرد، اگرچه برخی از ویژگی‌های تغذیه‌ای کاهش یافت (Panigrahi *et al.*, 2020). تیمار UV-C آب انگور سفید به کاهش $5.34 \log$ در *E. coli*

با توجه به شکل ۴-الف و ۴-ب با افزایش نسبت آرگون به هوا، غیرفعال‌سازی باکتری‌ها در سامانه پاششی-جت پلاسما کمی افزایش می‌یابد، به صورتی که با افزایش نسبت آرگون به هوا از ۰٪ به ۱۰۰٪، غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی ۱٪ افزایش یافت. نسبت آرگون به هوا نقش مهمی در پایداری و کیفیت پلاسما ایفا می‌کند. آرگون به عنوان یک گاز بی‌اثر باعث پایداری بیش‌تر پلاسما شده و محیطی مناسب برای تولید گونه‌های فعال فراهم می‌کند. با افزایش نسبت آرگون به هوا، کارایی پلاسما در غیرفعال‌سازی اشرشیاکلی بهبود می‌یابد، زیرا آرگون باعث افزایش تعداد گونه‌های فعال می‌شود.

سه ناحیه پرتو فرابنفش UV-A (۳۱۵ – ۴۰۰ nm) ، UV-B (۲۸۰ – ۳۱۵ nm) و UV-C (۲۸۰ – ۲۰۰ nm) در طیف الکترومغناطیسی وجود دارد که ناحیه UV-C توانایی غیرفعال‌سازی باکتری را دارد و حداکثر غیرفعال‌سازی تقریباً در محدوده ۲۵۴ تا ۲۶۴ nm رخ می‌دهد. مطالعاتی نشان می‌دهد که به دلیل نفوذ UV-C به غشای بیرونی سلول‌ها و ایجاد واکنش دایمر^۱ بین تیمین^۲ و سیتوزین^۳ در DNA که موجب جلوگیری از رونویسی و تکثیر آن و در نهایت مرگ سلولی می‌شود، تخریب ریزاندامگان رخ می‌دهد (Choudhary & Bandla, 2012; Ding *et al.*, 2022). پرتو فرابنفش علاوه بر آسیب رسانی به اجزای داخلی باکتری، توانایی آسیب رساندن به غشاها را نیز دارد (Niemira, 2012). نتایج طیف‌سنجی نوری نشان می‌دهد UV-C انتشار یافته در این پژوهش بسیار ناچیز است.

1- Dimer reaction
2- Thymine
3- Cytosine

میکروبی و کیفیت آب تأثیر می‌گذارد و جایگزین‌های بالقوه‌ای برای روش‌های پردازش حرارتی سنتی ارائه می‌دهد.

بهینه‌سازی سامانه پاششی جت پلاسما برای غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی

شرایط بهینه استفاده از سامانه پاششی جت پلاسما با در نظر گرفتن غیرفعال‌سازی حداکثری باکتری‌های اشیرشیاکلی موجود در آب آلبالو تعیین گردید. شرایط مرزی بهینه‌سازی مطابق جدول ۴ در نظر گرفته شد.

K-12 دست یافت و ماندگاری را تا ۱۴ روز افزایش داد، اما بر برخی خواص فیزیکی و شیمیایی تأثیر گذاشت (Unluturk & Atilgan, 2015). تیمار ازن گازی به طور موثری بیماری زاهای غذایی موجود در آب سیب را غیرفعال می‌کند و کارایی آن به محتوای جامدات آب سیب بستگی دارد (Choi *et al.*, 2012). تیمار پلاسمایی فاز گاز اتمسفر سرد آب انار محتوای آنتوسیانین را ۲۱٪ - ۳۵٪ افزایش داد و با شرایط بهینه برای پایداری آنتوسیانین بر تغییر رنگ تأثیر گذاشت (Kovačević *et al.*, 2016). این مطالعات نشان می‌دهد که نرخ جریان گاز و ویژگی‌های تصفیه به طور قابل‌توجهی بر غیرفعال‌سازی

جدول ۴ - شرایط مرزی استفاده شده در سامانه جهت بهینه‌سازی داده‌ها

نام	هدف	حد پایین	حد بالا	وزن پایین	وزن بالا	اهمیت
نرخ جریان آب‌میوه (L/min)	در محدوده	۱	۳	۱	۱	۳
نرخ جریان گاز (L/min)	در محدوده	۳	۷	۱	۱	۳
نسبت آرگون به هوا (%)	در محدوده	۰	۱۰۰	۱	۱	۳
Log (N/N ₀)	حداقل	- ۱/۳۵۷	- ۱/۰۲۴	۱	۱۰	۵

آب‌آلبالو شامل رنگ و pH بررسی شد. در این پژوهش تأثیر ولتاژ (۲۰ kV، ۱۵، ۱۰)، بسامد (۲۰، ۱۵، ۱۰ kHz)، نرخ جریان گاز (۷، ۵، ۳ L/min) و درصد اکسیژن در گاز آرگون (۱٪، ۵٪، ۱۰٪) مورد بررسی قرار گرفت. تیمار پلاسمای سرد فشار اتمسفری تعداد باکتری اشیرشیاکلی موجود در آب آلبالو رو کاهش داد ولی رنگ و pH نمونه‌ها را تغییر نداد و بیش‌ترین کاهش تعداد اشیرشیاکلی زمانی مشاهده شد که زمان، ولتاژ و درصد گاز اکسیژن در آرگون بیش‌ترین مقادیر خود بود. این مقدار کاهش log-cycles ۶ بود (Hosseini *et al.*, 2021). در پژوهشی با استفاده از ترکیبی از امواج میدان پالس الکتریکی فراصوت و میدان پالس الکتریکی هیدرودینامیکی آب آلبالو پاستوریزه شد. نتایج تیمارها نشان داد که روش ترکیبی علاوه بر رسیدن به نتیجه بار میکروبی صفر، محتوای فنلی کل، آنتوسیانین‌ها و ویتامین C را در مقایسه با روش مرسوم حفظ کرده است (Samani *et al.*, 2020).

نتایج بهینه‌سازی نشان می‌دهد که با داشتن شرایط مرزی جدول ۲ مقدار بهینه دما، شدت میدان الکتریکی پالسی و زمان اعمال میدان جهت غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی موجود در آب‌آلبالو به ترتیب ۲/۴ L/min، ۴/۷۲ L/min و ۶۳/۴۶٪ است، که در این حالت سامانه پاششی - جت پلاسما منجر به log ۱/۳۷۲ غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی موجود در آب‌آلبالو می‌شود.

در پژوهش‌های دیگر، از تیمارهای غیرحرارتی دیگری با هدف غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی در آب‌آلبالو استفاده شده‌است. از جمله استفاده از امواج فراصوت، که در شرایط بهینه منجر به log ۴/۱۱ غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی شده‌است (Samani *et al.*, 2013). همچنین از ترکیب روش حرارتی و غیرحرارتی به صورت ترکیب مایکروویو با امواج فراصوت با هدف غیرفعال‌سازی اشیرشیاکلی و ساکارومایسس سرویزیه استفاده شده‌است که علاوه بر اینکه هم‌چون روش مرسوم، بار میکروبی صفر شد، خواص کیفی بهتر حفظ شد (Samani *et al.*, 2016). در پژوهشی دیگر اثر تیمار پلاسمای سرد فشار اتمسفری بر کاهش باکتری اشیرشیاکلی و برخی از خواص کیفی

نتیجه‌گیری

با توجه به پژوهش انجام شده، می‌توان بیان کرد که تیمار پلاسما سرد اتمسفری (ACP) و میدان الکتریکی پالسی (PEF) به عنوان جایگزین‌های مؤثر تیمارهای حرارتی، به منظور میکروبی زدایی آب آلبالو هستند.

با در نظر گرفتن نتایج حاصل از این پژوهش، می‌توان بیان کرد که در سامانه میدان الکتریکی پالسی با افزایش دمای آب آلبالو، شدت میدان و همچنین زمان اعمال میدان الکتریکی پالسی، غیرفعال‌سازی باکتری‌های موجود در آب آلبالو، افزایش می‌یابد و اثر دما نسبت به شدت میدان الکتریکی و همچنین زمان اعمال میدان بیش‌تر است. با افزایش دمای آب آلبالو غیرفعال‌سازی باکتری‌ها بیش‌تر می‌شود که به دلیل افزایش نفوذپذیری غشای سلولی *E. coli* در دماهای بالاتر است. افزایش شدت میدان نیز منجر به افزایش میزان ایجاد حفره‌ها در غشای سلولی باکتری‌ها و در نتیجه تسریع غیرفعال‌سازی آن‌ها می‌شود. همچنین افزایش زمان اعمال میدان امکان تخریب بیش‌تری برای ریزاندامگان فراهم می‌کند.

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که افزایش نرخ جریان آب‌میوه در سامانه پلاسما سرد اتمسفری به دلیل افزایش تماس آب‌میوه با جت پلاسما منجر به افزایش کارایی غیرفعال‌سازی باکتری *E. coli* می‌شود. در عین حال، نرخ جریان خیلی بالا باعث کاهش زمان تماس پلاسما با ریزاندامگان می‌شود، که در این حالت کارایی کاهش پیدا خواهد کرد. نرخ‌های بالای جریان گاز به دلیل تولید گونه‌های بیش‌تر از رادیکال‌های اکسیژن فعال (ROS) و سایر گونه‌های واکنشی موجب افزایش غیرفعال‌سازی باکتری *E. coli* می‌شود. با این حال، افزایش بیش از حد نرخ جریان گاز موجب کاهش زمان اقامت گونه‌های فعال در سامانه و در نتیجه کاهش کارایی کلی خواهد شد. همچنین افزایش نسبت آرگون به هوا، به دلیل افزایش تعداد گونه‌های فعال، بهبود کارایی پلاسما در غیرفعال‌سازی باکتری *E. coli* در پی خواهد داشت. نتایج طیف‌سنجی نوری نیز نشان داد که UV-C انتشار یافته در پلاسما تولید شده در این پژوهش بسیار ناچیز است.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد بابت تأمین شرایط و هزینه تحقیق انجام شده تشکر می‌کند.

تضاد منافع نویسندگان

در این مقاله هیچ‌گونه تضاد منافی وجود ندارد و این مسئله مورد تأیید همه نویسندگان است.

دسترسی به داده‌ها

همه اطلاعات و نتایج در متن مقاله ارائه شده است.

مشارکت نویسندگان

نحوه و میزان مشارکت نویسندگان در انجام این پژوهش به صورت زیر است:

فرهاد جمالی هفشجانی: (تحقیق، گردآوری داده‌ها، نگارش - پیش‌نویس اولیه).

بهرام حسین‌زاده سامانی (روش کار، استاد راهنما، نگارش و ویرایش مقاله)

رحیم ابراهیمی (نگارش و ویرایش مقاله)

زهرایزدی (نگارش و ویرایش مقاله)

اصول اخلاقی

نویسندگان اصول اخلاقی را در انجام و انتشار این اثر علمی رعایت نموده‌اند و این موضوع مورد تأیید همه آنها است.

منابع

- Aadil, R. M., Zeng, X. A., Han, Z., Sahar, A., Khalil, A. A., Rahman, U. U. & Mehmood, T. (2018). Combined effects of pulsed electric field and ultrasound on bioactive compounds and microbial quality of grapefruit juice. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(2), e13507. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13507>
- Arjunan, K. P., Obrusnik, A., Jones, B. T., Zajíčková, L. & Ptánska, S. (2016). Effect of additive oxygen on the reactive species profile and microbicidal property of a helium atmospheric pressure plasma jet. *Plasma Processes and Polymers*, 13(11), 1089-1105. <https://doi.org/10.1002/ppap.201600058>
- Baik, K. Y., Jo, H., Ki, S. H., Kwon, G. C. & Cho, G. (2023). Synergistic effect of

- Hosseini, M., Rostami, S. Hosseinzadeh Samani, B. & Lorigooini, Z. (2020). The effect of atmospheric pressure cold plasma on the inactivation of *Escherichia coli* in sour cherry juice and its qualitative properties. *Food Science & Nutrition* 8(2), 870-883. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1364>
- Hosseinzadeh Samani, B., Behruzian, A., Khoshtaghaza, M. H., Behruzian, M. & Ansari Ardali, A. (2020). The investigation and optimization of two combined pasteurization methods of ultrasonic-pulse electric field and hydrodynamic-pulse electric field on sour cherry juice using RSM-TOPSIS. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(9), e14700. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14700>
- Hosseinzadeh Samani, B., Gudarzi, H., Rostami, S., Lorigooini, Z., Esmaeili, Z. & Jamshidi-kia, F. (2018). Development and optimization of the new ultrasonic-infrared-vacuum dryer in drying *Kelussia odoratissima* and its comparison with conventional methods. *Industrial Crops & Products*, 123, 46-54. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.053>
- Hosseinzadeh Samani, B., Khoshtaghaza, M. H., Minaei, S., Zareifourosh, H., Eshtiaghi, M. N. & Rostami, S. (2016). Design, development and evaluation of an automatic fruit-juice pasteurization system using microwave-ultrasonic waves. *Journal of food science and technology*, 53, 88-103. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2026-6>
- Hosseinzadeh Samani, B., Khoshtaghaza, M., Minaee, S. & Abbasi, S. (2013). Effect of ultrasonic waves on pasteurization of sour cherry juice. *International Journal of Biosciences*, 3(12), 193-200. <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/3.12.193-200>
- Jin, T.Z., & Zhang, H.Q. (2020). Food Safety Engineering Chapter 21. Pulsed Electric Fields for Pasteurization: Food Safety and Shelf Life. Springer Nature Switzerland. (pp 553-577). https://doi.org/10.1007/978-981-16-1827-7_3
- Katiyo, W., Yang, R. & Zhao, W. (2017). Effects of combined pulsed electric fields and mild temperature pasteurization on microbial inactivation and physicochemical properties of cloudy red apple juice (*Malus pumila* Niedzwetzkyana (Dieck)). *Food Safety*, 37(4), e12369. <https://doi.org/10.1111/jfs.12369>
- Kayalvizhi, V., Pushpa, A. J. S., Sangeetha, G. & Antony, U. (2016). Effect of pulsed electric field (PEF) treatment on sugarcane juice. *Journal of food science and technology*, 53, 1371-1379. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2172-5>
- hydrogen peroxide and cold atmospheric pressure plasma-jet for microbial disinfection. *Applied Sciences*, 13(5), 3324. <https://doi.org/10.3390/app13053324>
- Choi, M. R., Liu, Q., Lee, S. Y., Jin, J. H., Ryu, S. & Kang, D. H. (2012). Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in apple juice with gaseous ozone. *Food microbiology*, 32(1), 191-195. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.03.002>
- Choudhary, R. & Bandla, S. (2012). Ultraviolet pasteurization for food industry. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2(1), 12-15. <https://doi.org/10.5923/j.food.20120201.03>
- Deng, S., Cheng C., Ni, G., Meng, Y. & Chen, H. (2010). *Bacillus subtilis* devitalization mechanism of atmosphere pressure plasma jet. *Current Applied Physics*, 10(4), 1164-1168. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2010.02.004>
- Dey, A., Rasane, P., Choudhury, A., Singh, J., Maisnam, D. & Rasane, P. (2016). Cold plasma processing: A review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*, 9(4), 2980-2984. ISSN: 0974-2115
- Ding, T., Xu, E. & Liao, X. (2022). Inactivation of Bacteria by Cold Plasma. Applications of Cold Plasma in Food Safety, 47-73. https://doi.org/10.1007/978-981-16-1827-7_3
- El-Hag, A. H., Jayaram, S. H., Griffiths, M. W. & Dadarwal, R. (2008). Survivability of inoculated versus naturally grown bacteria in liquid foods under pulsed electric fields. In *2008 IEEE Industry Applications Society Annual Meeting* (pp. 1-4). IEEE. <https://doi.org/10.1109/IAS.2008.89>
- Fernandez-Molina, J. J., Barbosa-Canovas, G. V. & Swanson, B. G. (2005). Skim milk processing by combining pulsed electric fields and thermal treatments. *Journal of Food Processing and Preservation*, 29(5,6), 291-306. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2005.00029.x>
- Hodgins, A. M., Mittal, G. S. & Griffiths, M. W. (2002). Pasteurization of fresh orange juice using low-energy pulsed electrical field. *Journal of Food Science*, 67(6), 2294-2299. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb09543.x>
- Hosseini, M., Hosseinzadeh Samani, B., Barba F. J. (2021). Design and characterisation of jet cold atmospheric pressure plasma and its effect on *Escherichia coli*, colour, pH, and bioactive compounds of sour cherry juice. *International Journal of Food Science & Technology*. 56(10), 4883-4892. <https://doi.org/10.1111/jifs.15220>

- and microbiological quality of sugarcane juice. *Journal of Food Process Engineering*, 43(11), e13542. <https://doi.org/10.1111/jfpe.13542>
- Rems, L., & Miklavčič, D. (2016). Tutorial: Electroporation of cells in complex materials and tissue. *Journal of Applied Physics*, 119(20). <https://doi.org/10.1063/1.4949264>
- Timmermans, R. A. H., Groot, M. N., Nederhoff, A. L., Van Boekel, M. A. J. S., Matser, A. M. & Mastwijk, H. C. (2014). Pulsed electric field processing of different fruit juices: Impact of pH and temperature on inactivation of spoilage and pathogenic micro-organisms. *International journal of food microbiology*, 173, 105-111. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.022>
- Ulbin-Figlewicz, N., Jarmoluk, A. & Marycz, K. (2015). Antimicrobial activity of low-pressure plasma treatment against selected foodborne bacteria and meat microbiota. *Annals of microbiology*, 65, 1537-1546. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0992-y>
- Unluturk, S. & Atilgan, M. R. (2015). Microbial safety and shelf life of UV-C treated freshly squeezed white grape juice. *Journal of food science*, 80(8), M1831-M1841. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12952>
- Yan, Z., Yin, L., Hao, C., Liu, K., & Qiu, J. (2021). Synergistic effect of pulsed electric fields and temperature on the inactivation of microorganisms. *AMB Express*, 11, 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01206-8>
- Yeom, H. W., Streaker, C. B., Zhang, Q. H. & Min, D. B. (2000). Effects of pulsed electric fields on the activities of microorganisms and pectin methyl esterase in orange juice. *Journal of Food Science*, 65(8), 1359-1363. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10612.x>
- Yepez, X. V., Misra, N. N. & Keener, K. M. (2020). Nonthermal Plasma Technology. In: Demirci, A., Feng, H., Krishnamurthy, K. (eds) Food Safety Engineering. *Food Engineering Series*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42660-6_23
- Zhao, W., Yang, R., Tang, Y. & Lu, R. (2007). Combined Effects of Heat and PEF on Microbial Inactivation and Quality of Liquid Egg Whites. *International Journal of Food Engineering*, 3(4). <https://doi.org/10.2202/1556-3758.1256>
- Korachi, M., Turan, Z., Şenturk, K., Şahin, F. & Aslan, N. (2009). An investigation into the biocidal effect of high voltage AC/DC atmospheric corona discharges on bacteria. *Journal of Electrostatics* 67, 678-685. <https://doi.org/10.1016/j.elstat.2009.03.002>
- Kotnik, T., Frey, W., Sack, M., Meglič, S. H., Peterka, M. & Miklavčič, D. (2015). Electroporation-based applications in biotechnology. *Trends in biotechnology*, 33(8), 480-488. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.002>
- Kovačević, D. B., Putnik, P., Dragović-Uzelac, V., Pedisić, S., Jambak, A. R. & Herceg, Z. (2016). Effects of cold atmospheric gas phase plasma on anthocyanins and color in pomegranate juice. *Food chemistry*, 190, 317-323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.099>
- Krishnaveni, S. (2023). Influence of electrical process parameters to inactivate microorganisms in orange juice by PEF technology. *Int J Agric Food Sci.*, 5(1), 126-132. <https://doi.org/10.33545/2664844X.2023.v5.i1b.131>
- Kwang-Hyun, P., & Won-Tae, J. (2006). Sterilization of bacteria, yeast, and bacterial endospores by atmospheric-pressure cold plasma using helium and oxygen. *Journal of Microbiology*, 44(3), 269-275.
- Lu, P., Cullen, P. J. & Ostrikov, K. (2016). Cold plasma in food and agriculture: Fundamentals and applications, Chapter 4. Atmospheric Pressure Non-thermal Plasma Sources, Academic Press, (pp. 83– 116). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801365-6.00004-4>
- Misra, N.N., Schlüter, O. & Cullen, P. J. (2016). Cold plasma in food and agriculture: Fundamentals and applications. Chapter 1. Plasma in Food and Agriculture. Academic Press. (pp. 1-16). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801365-6.00001-9>
- Mohamed, M. E. A. & Amer Eissa, H. A. (2012). Structure and function of food engineering. Chapter 11. Pulsed electric fields for food processing technology InTech. (pp. 275–301). <https://doi.org/10.5772/48678>
- Niemira, B. A. (2012). Cold plasma decontamination of foods. *Annual review of food science and technology*, 3(1), 125-142. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101132>
- Panigrahi, C., Mishra, H. N. & De, S. (2020). Effect of ozonation parameters on nutritional