

ارزیابی فیزیکی و شیمیایی فناوری پلاسمای تخلیه سد دی‌الکتریک سطحی (SDBD) در غیرفعال‌سازی و حذف اسپوره‌های *Aspergillus flavus* در خلال پسته داخل بسته‌بندی

امیرحسین نویدیان^۱، سیدایمان حسینی^{۱*}، حمیدرضا صمدلویی^۲

۱. گروه فیزیک پلاسما و ذرات بنیادی، دانشکده فیزیک، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود؛ ایران

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود؛ ایران

پست الکترونیکی: imanhosseini@shahroodut.ac.ir

چکیده

پلاسمای تخلیه سد دی‌الکتریک سطحی (SDBD) یک فناوری نوین غیرحرارتی است که قادر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن در فشار اتمسفر و بدون نیاز به گازهای نجیب در بسته‌بندی مواد غذایی می‌باشد. در این مطالعه، نمونه‌های داخل پسته که به اسپوره‌های *Aspergillus flavus* آلوده شده بودند، با استفاده از پلاسمای SDBD در ولتاژ ۶/۸ کیلوولت و فرکانس ۷/۴ کیلوهرتز به مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه در گاز هوا درون بسته‌بندی تیمار شدند. در این تحقیق میزان کاهش بار میکروبی، خصوصیات فیزیکی پلاسما مانند جریان-ولتاژ اندازه‌گیری شد و مقدار توان پلاسما محاسبه گردید و با استفاده از طیفسنجی تابشی (OES) عناصر فعال تولید شده در پلاسما مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان تولید ازن و گونه‌های فعال واکنشی نیتروژن (NOX) اندازه‌گیری گردید و تغییرات در ویژگی‌های مورفولوژی سطحی (FESEM)، کاهش وزن و پارامترهای حسی و رنگی نیز مورد تحلیل قرار گرفتند. آنالیز طیفسنجی نشر نوری (OES) حضور گونه‌های فعال نظیر نیتروژن برانگیخته (N_2^*)، رادیکال هیدروکسیل ($OH\cdot$) و اکسیژن اتمی (O) را تأیید کرد. همچنین میزان تولید ازن و گونه‌های فعال واکنشی نیتروژن (NOX) و کاهش وزن پسته اندازه‌گیری گردید. تیمار به مدت ۳۰ دقیقه باعث کاهش ۴ لگاریتمی (۹۹٪) در جمعیت اسپوره‌های آ. فلاووس شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM) تخریب کامل دیواره سلولی اسپورها و تخلیه سیتوپلاسم اسپور را پس از ۳۰ دقیقه تیمار نشان می‌دهد. ارزیابی حسی با استفاده از مقیاس هدونیک ۹ درجه‌ای نشان داد که تیمار تا ۱۰ دقیقه تأثیر نامطلوبی بر ویژگی‌های حسی پسته ندارد. با این حال، افزایش زمان به ۲۰ و ۳۰ دقیقه در حالی که بو و طعم محصول همچنان حفظ می‌شود، منجر به کاهش معنی‌دار امتیاز رنگ می‌گردد. فناوری SDBD با قابلیت استریل‌سازی مؤثر، هزینه پایین و حفظ کیفیت حسی در زمان‌های کوتاه درمان، روشی امیدوارکننده برای افزایش ایمنی و ماندگاری پسته و سایر محصولات کشاورزی به شمار می‌رود.

واژه‌های کلیدی: پلاسما سرد، تخلیه سد دی‌الکتریک سطحی، اسپریلوس فلاووس، پلاسما، استریل‌سازی، خلال پسته

۱. مقدمه

بیماری‌ها است. با رشد سریع جمعیت جهان، تولید غذاهای گیاهی و حیوانی به طور قابل توجهی افزایش یافته تا به نیاز روزافزون مصرف‌کنندگان پاسخ دهد. با این حال، تضمین ایمنی

یکی از مهم‌ترین چالش‌های امنیت و ایمنی غذایی آلودگی محصولات کشاورزی به عوامل میکروبی به ویژه قارچ‌های

غذا در تمام زنجیره تأمین همچنان از اهمیت بالایی برخوردار است. تخمین زده شده است، تقریباً ۱۴ درصد از مواد غذایی تولید شده قبل از رسیدن به خرده‌فروشی یا مصرف‌کنندگان به دلیل آلودگی میکروبی مواد غذایی از بین می‌رود [۱]. از جمله عوامل خسارت بار، قارچ‌های بیماری‌زای هستند که نه تنها کیفیت غذا را کاهش می‌دهند، بلکه متابولیت‌های ثانویه سمی مانند مایکو توکسین تولید می‌کنند [۲، ۳].

در میان مختلف مایکو توکسین‌ها، آفلاتوکسین‌ها به دلیل اثر سرطان‌زایی و آسیب کبدی، به عنوان خطرناک‌ترین سم قارچی شناخته می‌شوند. این سموم عمدتاً توسط آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیتیکوس (*Aspergillus flavus* و *Aspergillus parasiticus*) تولید می‌شوند.

پسته، یکی از ارزشمندترین و پرمصرف‌ترین آجیل‌های درختی که در ایران، ایالات متحده، ترکیه، سوریه و یونان تولید می‌شود، به دلیل محتوای بالای مواد غذایی مناسب رشد قارچ‌های بیماری‌زا به شدت به آلودگی قارچ آ. فلاووس آسیب‌پذیر است [۴]. بنابراین، نیاز به استراتژی‌های استریل‌سازی مؤثری وجود دارد که کیفیت محصول را حفظ کند.

حداکثر سطح مجاز آفلاتوکسین در غلات و مغزها ۴ ppb برای اروپا و ۲۰ ppb برای سازمان غذا و داروی آمریکا است. مقدار آفلاتوکسین در پسته‌های ایرانی در بیش از ۱۶٪ نمونه‌ها بالاتر از استانداردهای اتحادیه اروپا است. به دلیل افزایش رقابت در بازار جهانی پسته، هرگونه آلودگی که از استانداردهای تعیین شده فراتر رود، منجر به جایگزینی پسته‌های ایرانی با محصولات کشورهای دیگر می‌شود [۵].

مقررات سخت‌گیرانه ملی و بین‌المللی برای سطح آلودگی این سموم اعمال می‌شود. به‌عنوان مثال، در ایالات متحده، محصولاتی که کمتر از ۲۰ ppb آفلاتوکسین کل و ۱۵ ppb آفلاتوکسین B₁ دارند، مجوز خرید، فروش، واردات و صادرات دریافت می‌کنند [۶-۸].

روش‌های مختلف فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی برای کنترل آلودگی قارچی و سطح آفلاتوکسین در محصولات غذایی مورد استفاده قرار گرفته است. این روش‌ها شامل استریل‌سازی حرارتی، نگهداری در دماهای پایین، پرتودهی، و تیمارهای

بیولوژیکی هستند [۹]. اگرچه این تکنیک‌ها می‌توانند بار قارچی را کاهش دهند، اما معایب قابل توجهی نیز دارند. تیمارهای حرارتی ممکن است بر خواص غذایی و حسی تأثیر منفی بگذارند. همچنین روش‌های شیمیایی باقیمانده‌های سمی بجا می‌گذارند؛ از طرفی فناوری‌های پیشرفته نیاز به تجهیزات پرهزینه داشته و دسترسی به آن‌ها دشوار است. علاوه بر این، هیچ‌یک از این روش‌های متداول نمی‌تواند به‌طور کامل باعث حذف مایکو توکسین‌ها در محصولات کشاورزی شود [۱۰]. بنابراین، نیاز مبرمی به فناوری‌های جایگزین، غیرحرارتی، دوستدار محیط زیست و مقرون به صرفه وجود دارد.

پلازما سرد (CP)، که به عنوان پلازما غیرحرارتی نیز شناخته می‌شود، اخیراً توجه زیادی را به عنوان یک روش نوین برای استریل‌سازی سرد مواد غذایی شناخته شده است [۹]. پلازما یک گاز یونیزه نیمه‌خنثی است که از ذرات باردار، الکترون‌ها، گونه‌های واکنشی اکسیژن و نیتروژن (RONS)، رادیکال‌ها و پرتوی فرابنفش تشکیل شده و در دمای اتاق، امکان غیرفعال‌سازی قارچ‌ها و تجزیه مایکو توکسین‌ها را فراهم می‌آورد بدون اینکه آسیب حرارتی قابل توجهی به ساختار غذایی وارد شود [۱۲].

پیکربندی‌های مختلف برای تولید پلازما توسعه یافته است، از جمله تخلیه کرونا، جت‌های پلازما، تخلیه آرک و راکتورهای تخلیه سد دی الکتریک [11] (DBD). از میان این روش‌ها، سیستم‌های تخلیه سد دی الکتریک به دلیل پایداری، مقیاس‌پذیری و قابلیت عملکرد در فشار اتمسفری به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

در پیکربندی‌های مختلف DBD، تخلیه سد دی الکتریک سطحی (SDBD) به عنوان یکی از امیدوارکننده‌ترین روش‌ها شناخته شده است که مزایای آن عبارتند از: (۱) پردازش در ولتاژهای نسبتاً پایین اعمال شده (۲) کارایی بالا در تولید گونه‌های واکنشی (۳) چگالی بالای میکرو تخلیه (۴) عملکرد در هوای محیط بدون نیاز به افزودن گاز نجیب (۵) سازگاری با هندسه‌های مختلف بسته‌بندی [۱۲، ۱۳].

یک مزیت مهم SDBD نسبت به سیستم‌های پلاسمایی دیگر (مانند جت‌های پلازما) مکانیزم تیمار غیرمستقیم آن است. در

سیستم‌های پلاسمای مستقیم، پلازما به طور مستقیم با سطح مواد غذایی در تماس بوده و ممکن است منجر به گرم شدن موضعی، حکاکی سطحی، آسیب‌های ساختاری یا تغییرات نامطلوب در خواص فیزیکوشیمیایی و حسی شود. در عوض، SDBD می‌تواند گونه‌های واکنشی بدون تماس مستقیم پلازما درون بسته‌بندی تولید کند، و آسیب‌های ساختاری را به حداقل برساند و کیفیت غذا حفظ شود [۱۲، ۱۴].

از دیگر مزایای مهم SDBD قابلیت آن برای استریل‌سازی درون بسته بندی است. در پردازش ماده غذایی قبل از بسته بندی، آلودگی می‌تواند مجدداً در طی حمل و نقل و بسته بندی، حتی پس از استریل شدن موفق، رخ دهد. سیستم‌های SDBD می‌توانند با پیکربندی بسته بندی ادغام شوند و این امکان را فراهم می‌آورد تا بعد از بسته بندی، استریل‌سازی انجام شود و در نتیجه خطر آلودگی مجدد کاهش دهد و عمر مفید محصول افزایش یابد.

اگرچه مطالعات قبلی پتانسیل ضد قارچی پلازما DBD را بر روی مواد غذایی تأیید کرده‌اند، اما تعداد کمی بر روی پیکربندی SDBD و بویژه پردازش مواد غذایی پس از بسته بندی نهایی متمرکز شده است. همچنین با توجه به اهمیت اقتصادی استراتژیک بسته و چالش آلودگی قارچ آ. فلاووس در صادرات، نیاز حیاتی به یک فناوری استریل‌سازی مؤثر، مقیاس پذیر و با حفظ کیفیت مواد غذایی حس می‌شود.

بنابراین، در این مطالعه برای اولین بار فناوری پلازما تخلیه سد دی الکتریک سطحی غیرحرارتی (SDBD) به عنوان یک فناوری بالقوه برای غیرفعال‌سازی آ. فلاووس بر روی بسته پس از بسته بندی نهایی مورد مطالعه قرار گرفته است. برای استریل‌سازی اسپورهای آ. فلاووس و کاهش آفلاتوکسین B₁ در بسته برخلاف بسیاری از مطالعات قبلی که به گازهای نجیب متکی بودند، در این تحقیق از گاز هوا به عنوان گاز کاری استفاده می‌شود که به‌طور قابل توجهی هزینه‌های عملیاتی را کاهش می‌دهد و قابلیت کاربرد صنعتی را افزایش می‌دهد.

پسته‌ها در زمان‌های مختلف (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) تیمار، و سپس در دوره‌های ۰، ۳ و ۳ روز پس از کشت قارچ در دمای

اتاق نگهداری شد تا تأثیرات پلازما در کاهش و حذف قارچ آ. فلاووس ارزیابی شود. همچنین علاوه بر بررسی میزان کاهش بار میکروبی، خصوصیات فیزیکی پلازما مانند جریان-ولتاژ اندازه گیری شد و مقدار توان پلازما محاسبه گردید. با استفاده از طیف سنجی تابشی (OES) عناصر فعال تولید شده در پلازما مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان تولید ازن و گونه‌های فعال واکنشی نیتروژن (NOX) اندازه‌گیری گردید و تغییرات در ویژگی‌های مورفولوژی سطحی (FESEM)، کاهش وزن و پارامترهای حسی و رنگی نیز مورد تحلیل قرار گرفتند تا حفظ کیفیت ارزیابی شود.

این مطالعه هدف دارد با تولید پلازما بر پایه هوا و تولنایی احتمالی استریل‌اسیون پس از بسته بندی، راه‌حلی مقیاس‌پذیر و اقتصادی برای ارتقاء ایمنی و کیفیت صادراتی پسته‌ها ارائه دهد، در حالی که اثرات منفی بر ویژگی‌های محصول را به حداقل برساند.

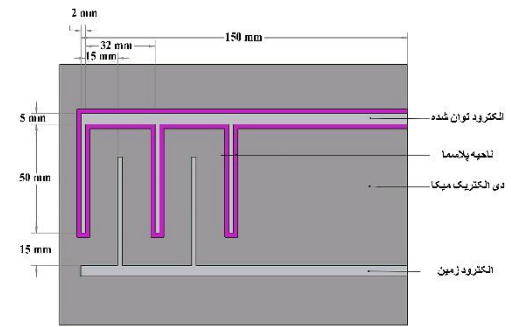
۲. مواد و روش‌ها

۲.۱. سیستم پلاسمایی

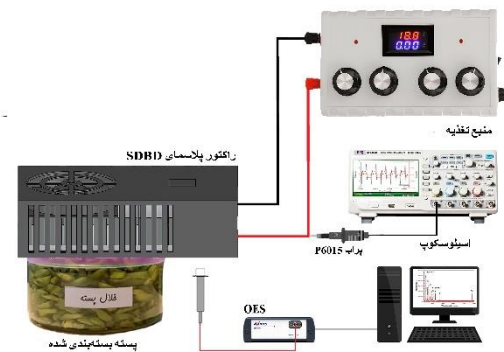
نوع پلاسمای غیرحرارتی فشار اتمسفری مورد استفاده در این مطالعه، یک پلاسمای تخلیه سد دی الکتریک سطحی بود (شکل الف). سیستم پلاسمای تخلیه سد دی الکتریک سطحی که روی یک جک عمودی نصب شده بود که قابلیت تنظیم ارتفاع داشت روی بسته بندی به صورت کاملاً چسبیده به سطح بسته بندی (بدون هیچ فاصله‌ای) قرار گرفت، همچنین فاصله سطح بسته بندی تا نمونه ۵ میلی متر بوده است. سیستم از الکترودهای ولتاژ بالا و زمین به جنس آلومینیوم به طول ۵ سانتی متر و ضخامت ۰/۲۵ سانتی متر (مساحت ناحیه فعال پلازما ۱۶/۵ سانتی متر مربع) به صورت شانه‌ای تو در تو

(الف)

کیلوولت و محدوده فرکانس از ۷/۴ تا ۲۰ کیلوهرتز استفاده گردید. برای اندازه گیری ولتاژ، جریان و فرکانس سیستم، از اسیلوسکوپ (۱۲۰۴C-GPS)، برای ولتاژ از پراب (۶۰۱۵-p) - (Textronix) و جریان از پراب جریان (۶۷۷-PA) استفاده شد.



(ب)



شکل ۱. سیستم SDBD الف. شماتیک سیستم و ب. چیدمان آزمایشگاهی

۲.۲. تهیه تانک اسپوری

سویه (PTCC NO. ۵۰۰۴) *Aspergillus flavus* از دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود تهیه شد. سویه بر روی محیط کشت Potato Dextrose Agar (PDA) به مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید تا اسپورها تشکیل شوند. اسپورها با استفاده از محلول ۰/۰۵ درصد تویین ۸۰ استخراج شد. سوسپانسیون اسپوری به مدت ۲ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید تا اسپورها آبدار شده و آماده تلقیح شوند.

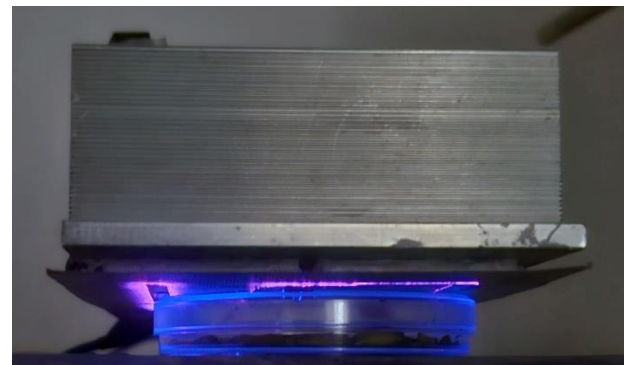
۲.۳. تلقیح اسپرژیلوس فلاووس روی پسته

مغز پسته خام مورد استفاده در این مطالعه از رقم اکبری می باشد. برای تلقیح آ. فلاووس، مقدار ۵ میلی گرم خلال پسته ابتدا به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه استریل شد تا از رشد احتمالی سایر میکروارگانیسم‌ها جلوگیری شود. از آنجا که نتیجه آزمایش با شمارش کلنی تعیین می‌شود، وجود قارچ‌های دیگر ممکن است باعث خطا در آزمایش شود. از سوسپانسیون اسپور تهیه شده، مقدار ۵۰ میکرولیتر به صورت نقطه‌ای بر روی سطح پسته ریخته شد تا کل سطح پوشش داده شود. این روش تلقیح نقطه‌ای برای شبیه‌سازی آلودگی طبیعی و ارزیابی دقیق‌تر اثرات تیمارهای بعدی مناسب است. لازم به ذکر است که برای شروع آزمایش، ۱۲ پتری‌دیش آماده شد. زمان‌های تیمار (۱۰، ۲۰، ۳۰ دقیقه) و سه بار تکرار بود.

۲.۴. بررسی تاثیر پلاسما بر روی اسپور استخراج شده

از قارچ

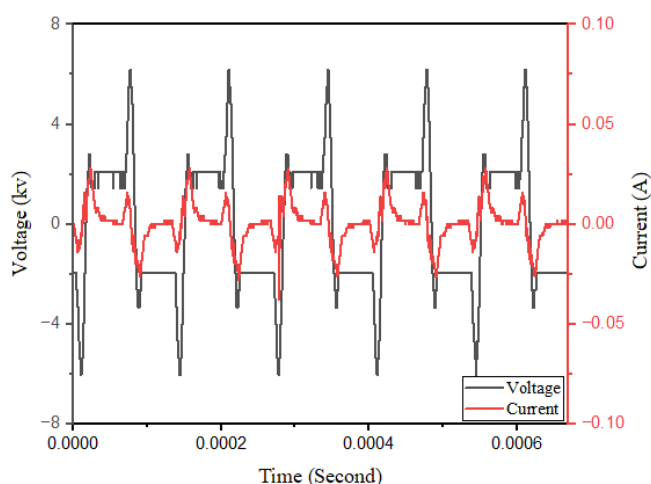
بلافاصله پس از تیمار پلاسما، پسته‌ها به یک لوله فالكون ۱۰ میلی‌لیتری دیگر منتقل شدند که حاوی Tween ۸۰ با غلظت ۰/۰۵ درصد بود. این غلظت Tween ۸۰ برای تسهیل جداسازی



شکل ۲. نمای روشن سیستم پلاسمایی

تشکیل شده است که فاصله بین الکتروودها ۱/۵ سانتی متر بود. الکتروودها روی صفحه‌ای از جنس میکا به ضخامت ۲ میلی متر چسبانده شده بودند. لایه دی‌الکترونیک میکا بود، زیرا میکا در برابر دما مقاومت بالایی دارد و مقاومت آن در برابر شکست در ولتاژ بالا نیز زیاد است. همچنین گاز مصرفی در این سیستم گاز هوا بوده است.

از یک منبع ولتاژ با فرکانس متغیر با محدوده ولتاژ از صفر تا ۲۰



شکل ۳. نمودار ولتاژ جریان (I-V)

شناسایی گونه‌های به‌دست‌آمده RONS از پلاسما استفاده شده است. طیف‌سنجی نشر نوری به‌عنوان یک تکنیک تشخیصی غیرتهاجمی برای توصیف گونه‌های واکنش‌پذیر تولید شده در طول تیمار پلاسمای SDBD در هوا، که در غیرفعال‌سازی میکروارگانیزم‌های تشکیل‌دهنده اسپور نقش دارند، عمل می‌کند [۱۵]. این روش، نشرهای تابشی را از حالت‌های مولکولی برانگیخته تشخیص می‌دهد و از طریق تجزیه و تحلیل شدت‌های نشر در طول موج‌های خاص، اطلاعاتی در مورد عناصر فعال تولید شده در پلاسما ارائه می‌دهد.

طیف نور پلاسما از طریق فیبر نوری به اسپکترومتر منتقل می‌گردد. برای این کار، فیبر نوری به‌صورت عمود بر محور نازل در فاصله عمودی ۲ سانتی‌متر از پلاسما قرار داده شده بود. شناسایی و بررسی گذارهای الکترونی برای گونه‌های واکنش‌پذیر گازی با استفاده از پایگاه داده طیف اتمی سایت موسسه ملی استاندارد و فناوری NIST انجام شده است [۱۶].

شکل ۴ طیف انتشار پلاسمای هوای تولید شده از طریق SDBD را در حضور نمونه‌های مغز پسته تحت تابش مستقیم در ۷ کیلوولت، در حضور هوا با رطوبت نسبی ۳۰٪ (RH) به مدت ۸۰۰ میلی‌ثانیه را نشان می‌دهد.

خطوط منتشر شده قابل‌توجهی در محدوده ۳۱۵ تا ۴۰۵ نانومتر مشاهده می‌گردد که مربوط به گونه‌های نیتروژن برانگیخته، از جمله N_2 (SPS) و سیستم N_2^+ (FNS) است [۱۹].

اسپورها از سطح پسته و جلوگیری از تجمع آن‌ها در سوسپانسیون استفاده می‌شود. نمونه‌ها ورتکس گردیدند و سپس رقت‌سازی سریالی از 10^{-1} تا 10^{-4} تهیه شد. کلونی‌ها بر روی محیط کشت PDA در ۱، ۲ و ۳ روز طبق رابطه زیر شمارش شد.

$$CFU = \frac{N}{V \times DF} \quad (1)$$

که در آن N تعداد کلنی‌های شمارش‌شده، V حجم کشت داده‌شده روی پلیت) بر حسب mL) و DF ضریب رقت (Dilution Factor) است. همچنین، کاهش تعداد کلونی‌ها از معادله ۲ محاسبه شد.

$$\text{Log reduction} = \log\left(\frac{N_0}{N}\right) \quad (2)$$

۳. نتایج و بحث

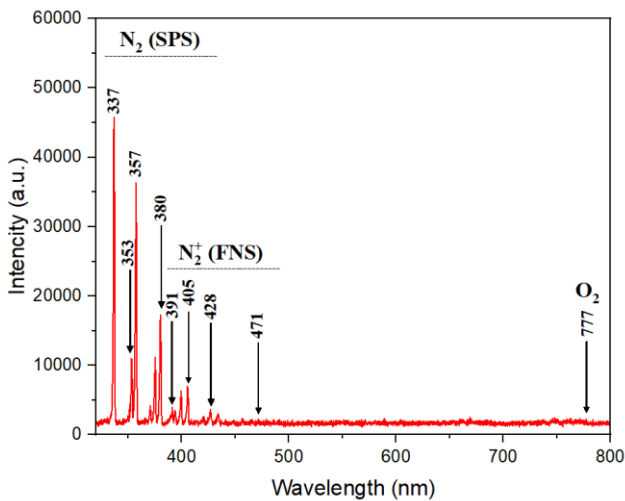
۳.۱. بررسی منحنی جریان ولتاژ (I-V)

در این مطالعه توان و مصرف انرژی پلاسما در حالت بهینه محاسبه شده است. شکل ۳ منحنی‌های جریان - زمان (رنگ قرمز) و ولتاژ - زمان (رنگ مشکی) به‌دست‌آمده در این مطالعه را در ولتاژ ۶/۸ کیلوولت پیک و فرکانس ۷/۴ کیلوهرتز نشان می‌دهد. طبق این منحنی، هنگامی که ولتاژ اعمال‌شده به ولتاژ شکست می‌رسد، شکست اولیه در گاز رخ می‌دهد و پلاسما تشکیل می‌شود. در منحنی جریان، قله‌های جریان قوی و کوچک مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده تشکیل پلاسما است. با استفاده از رابطه ۳ توان مصرفی پلاسما ۱۷۸ وات به دست آمد که مقادیر $V(t)$ و $I(t)$ از منحنی‌های ولتاژ - جریان در پنج دوره تناوب کامل جای‌گذاری شد.

$$P = \frac{1}{NT} \int V(t) \cdot I(t) dt \quad (3)$$

۳.۲. طیف سنجی نوری

طیف‌سنجی نوری یکی از روش‌های متداول برای تعیین برخی پارامترهای پلاسما است. در این پژوهش از طیف‌سنج مدل (RS) AvaSpec-ULS۳۶۴۸) در بازه ۳۲۰ تا ۹۰۰ نانومتر برای



شکل ۴. طیف نشری از پلاسمای ایجاد شده در توان ۱۷۸ وات

۳.۳. اندازه‌گیری میزان O_3 و NO_x

ازن و NO_x (NO و NO_2) گونه‌های مهمی هستند که نقش کلیدی در مکانیسم غیرفعال‌سازی قارچ‌ها ایفا می‌کنند، غلظت این گونه‌ها در داخل بسته‌بندی بسته هر ۳۰ ثانیه به مدت ۱۰ دقیقه تیمار پلاسمای اندازه‌گیری شد (شکل ۵). غلظت گونه‌های ازن و NO_x با دستگاه آشکارساز گازی (MS^{400-2}) که در محدوده آشکارسازی آن ۰-۱۰۰۰ ppm قابلیت آشکارسازی داشت اندازه‌گیری شد.

در ۶۰ ثانیه اول تخلیه SDBD، گونه‌های O_3 به دلیل تولید زیاد اتم‌های O توسط تخلیه در داخل بسته، با سرعت بسیار بالایی تولید می‌شوند. پس از ۶۰ ثانیه، غلظت ازن بیش از ۱۰۰۰ ppm است که از حد اندازه‌گیری توسط آشکارساز فراتر است.

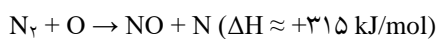
همچنین به دلایل زیر در این مطالعه NO_x تولید و مشاهده نشد:

۱. دمای پایین گاز و فعال نشدن مکانیزم حرارتی

زلدوویچ:

مهم‌ترین دلیل این است، که دمای لازم برای فعال‌سازی مکانیزم

زلدوویچ حرارتی وجود ندارد. واکنش آغازین این مکانیزم

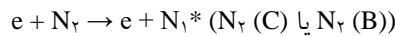
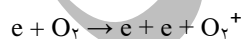
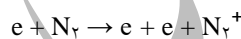


تنها در دماهای بالاتر از ۱۸۰۰ K نرخ قابل توجهی پیدا می‌کند.

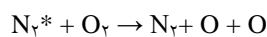
در SDBD غیرحرارتی، انرژی الکتریکی عمدتاً به الکترون‌ها

پیک‌های نیتروژن در طول‌موج‌های ۳۳۷ نانومتر، ۳۵۳ نانومتر، ۳۵۷ نانومتر، ۳۷۰ نانومتر، ۳۷۵ نانومتر، ۳۹۹ نانومتر و ۴۰۵ نانومتر ظاهر شده که نشان‌دهنده حالت‌های برانگیخته نیتروژن است. شدت N_2^+ در تقریباً ۳۹۳ نانومتر به طور قابل توجهی کمتر از N_2 بود، الگویی که در تیمارهای پلاسمای گاز هوا ثابت است (شکل ۴).

این ویژگی‌های طیفی ناشی از برخورد الکترون‌های پرانرژی با مولکول‌های نیتروژن و اکسیژن هستند که تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و گونه‌های فعال نیتروژن (RNS) را تسهیل می‌کنند که، به مهار میکروبی کمک می‌کنند. پیک‌های مشاهده شده، برهمکنش‌های پرانرژی بین الکترون‌ها و نیتروژن و مولکولی در هوا را تأیید می‌کنند [۱۷]. در طول تخلیه SDBD، الکترون‌ها انرژی کافی برای یونیزه کردن N_2 و O_2 را به دست می‌آورند و گونه‌های N_2^* برانگیخته شده را تولید می‌کنند. واکنش‌های اولیه را می‌توان به صورت زیر بیان کرد:



علاوه بر این، اکسیژن اتمی ممکن است از طریق خاموش شدن ($Quenching$) N_2^* برانگیخته شده با O_2 تشکیل شود [۱۸]:



پیک کم‌شدت منتشر شده برای اکسیژن اتمی (O) در ۷۷۸ نانومتر شناسایی شد (شکل ۴)، که با یافته‌های مطالعات مشابه [۱۵، ۱۹] همسو است. شدت این رادیکال‌ها به طور بالقوه اثربخشی استریل‌سازی علیه اسپرزیلوس فلاووس و آفلاتوکسین (B1) را نشان می‌دهد. اکسیژن تک اتمی با ترکیب با خود یا واکنش با O_3 باعث تولید O_2 می‌شوند [۲۰]. در زمینه فرآوری بسته، چنین گونه‌های واکنشی تولید شده توسط پلاسمای یک رویکرد غیر حرارتی امیدوارکننده برای کاهش آلودگی قارچی و در عین حال حفظ کیفیت مغز ارائه می‌دهند و بهینه‌سازی بیشتر رطوبت و پارامترهای تصفیه را برای کاربردهای صنعتی تضمین می‌کنند.

این فرآیند ولپاشی، عمر گونه‌های برانگیخته را به میکروثانیه کاهش داده و عملاً مسیرهای برانگیختگی را مسدود می‌کند. پس تولید ناچیز یا عدم تشکیل قابل توجه اکسیدهای نیتروژن NO_x ، عمدتاً NO و NO_2 در رژیم پایدار و غیرحرارتی SDBD در گاز هوای فشار اتمسفری، یکی از ویژگی‌های تخلیه پلاسمایی که ناشی از عدم تعادل انرژی، محدودیت‌های دینامیک تخلیه و فرآیندهای واکنشی گونه‌ها است [۲۲].

۳.۴. ارزیابی بقا و شمارش کلونی‌ها

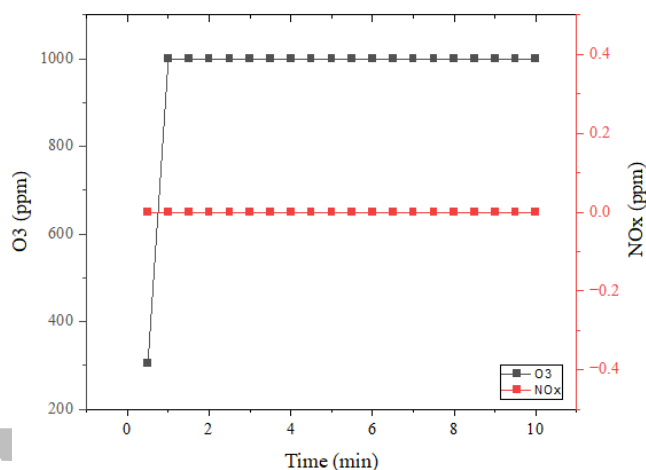
پسته برای ارزیابی بلافاصله پس از تیمار پلاسما به یک لوله فالکون ۱۰ میلی‌لیتری دیگر منتقل و ورتکس گردیدند و سپس رقت‌سازی سریالی از ۹:۱ تا 10^{-4} تهیه شد. کلونی‌ها بر روی محیط کشت PDA در ۱، ۲ و ۳ روز شمارش و گزارش شدند تا نرخ بقا و رشد قارچ ارزیابی شود. پلاسما تخلیه سد دی‌الکتریک سطحی (SDBD) دو مکانیزم زیر را روی اسپور دارد:

(الف) آسیب به دیواره و غشاء سلولی: اختلال در دیواره سلولی باعث افزایش نفوذپذیری غشاء شده و نشست محتویات درون سلولی مانند اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها را به همراه داشته است. افزایش نفوذپذیری غشاء نشانه‌ای مهم از مرگ سلولی به حساب می‌آید [۲۳].

(ب) آسیب به میتوکندری: ROS تولیدشده توسط پلاسما می‌تواند به طور مستقیم بر عملکرد میتوکندری تاثیر بگذارد. این آسیب، زنجیره انتقال الکترون و چرخه اسید تری‌کربوکسیلیک (TCA) را مختل کرده و در نهایت تولید ATP در سلول‌های قارچی را متوقف می‌سازد. این فرآیند که به عنوان "مرگ سلولی وابسته به میتوکندری" شناخته می‌شود، اتفاق می‌افتد [۲۴].

جدول ۱. تعداد اسپور اسپرژیلوس فلاووس باقی مانده روی پسته

کنترل	تیمار ۱۰ دقیقه	تیمار ۲۰ دقیقه	تیمار ۳۰ دقیقه
3×10^5	1×10^0	۰	۰



شکل ۵. نمودار اندازه‌گیری NO_x و O_3

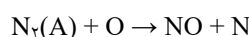
($T_e \approx 1-3 \text{ eV}$) منتقل می‌شود، از طرفی دمای گاز به دلیل مدت کوتاه میکروتخلیه‌ها (۱۰۰-۱۰ نانوثانیه) نزدیک به دمای محیط باقی می‌ماند. این اختلاف دمایی مانع انتقال کافی انرژی به مدهای انتقالی مولکول‌ها می‌گردد و مسیر حرارتی را کاملاً غیرفعال می‌کند [۲۱].

۲. توزیع غیرتعادلی انرژی:

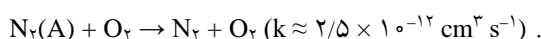
SDBD در میدان الکتریکی کاهش یافته ($E/N \approx 100-300 \text{ Td}$) باعث تشکیل بهمن‌های الکترونی می‌شود، اما انرژی به سرعت از طریق برخوردهای الاستیک و غیرالاستیک به گونه‌های برانگیخته هدایت می‌گردد، نه به گرمایش گاز. در نتیجه انرژی ورودی به جای افزایش دما، صرف برانگیختگی الکترونی و ارتعاشی N_2 و تولید گونه‌های اکسیژن فعال (O ، O_2) می‌شود [۲۲].

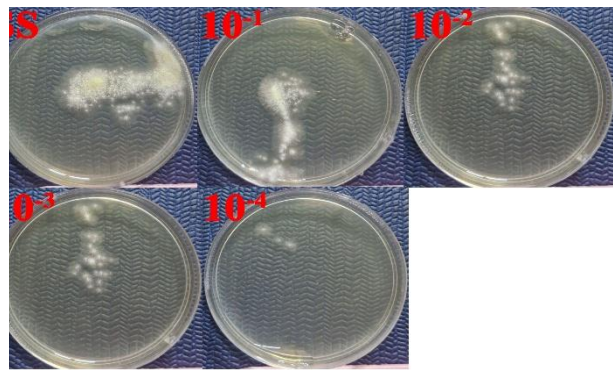
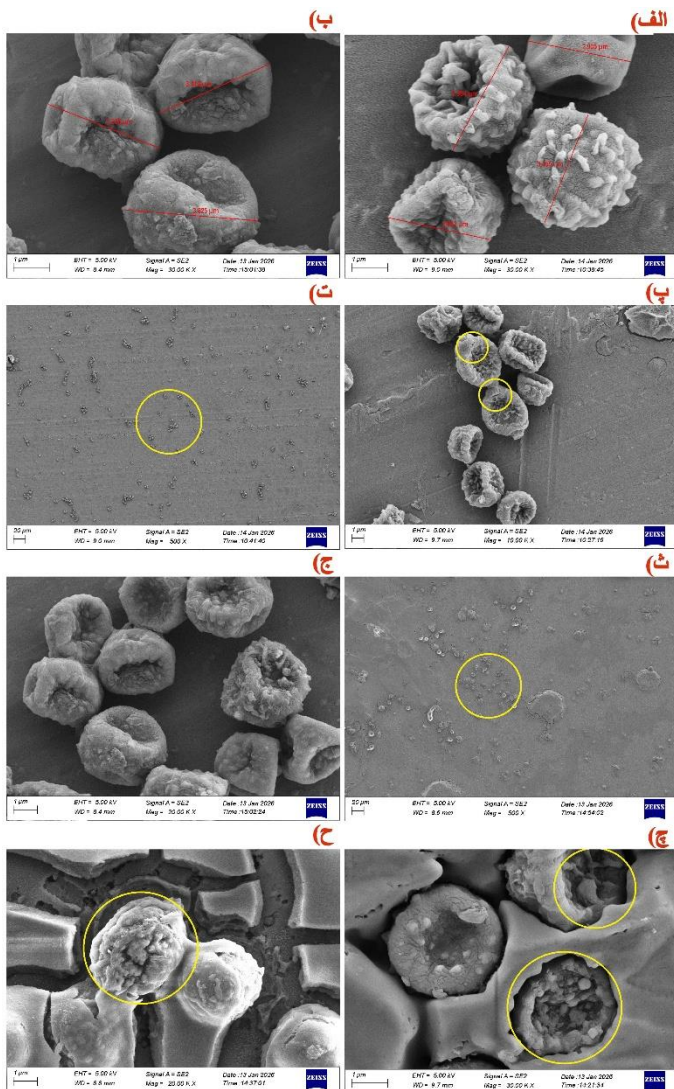
۳. خاموشی سریع گونه‌های برانگیخته نیتروژن:

گونه‌های شبه پایدار مانند $\text{N}_2(A^3\Sigma_u^+)$ که می‌توانند از طریق واکنش

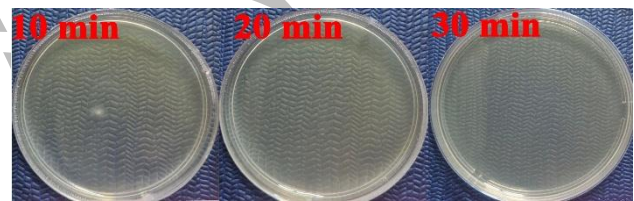


به تشکیل NO کمک کنند، در فشار اتمسفری توسط مولکول‌های O_2 با فرکانس برخورد بسیار بالا ($\approx 10^9 \text{ s}^{-1}$) خاموش می‌شوند

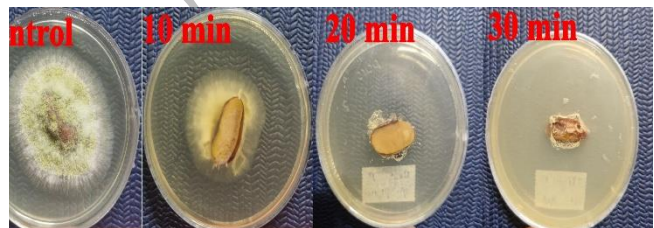




شکل ۶. تعداد کلونی‌های نمونه کنترل در رقت‌های مختلف



شکل ۷. تعداد کلونی‌های نمونه بیمار شده در زمان‌های مختلف



شکل ۸. نمونه‌های پسته کنترل و بیمار شده در زمان‌های مختلف

۳.۵. ارزیابی ویژگی‌های مورفولوژیکی پسته

پس از آماده‌سازی نمونه، پوشش‌دهی با طلا به منظور عدم اتصال الکتریکی بین پایه و نمونه انجام شد. از یک میکروسکوپ الکترونی روبشی مدل (HV-Sigma ۳۰۰) با ولتاژ ۵ کیلوولت برای بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی پسته پس از تیمار پلاسمای غیرحرارتی استفاده شد.

در تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (شکل ۹)، اسپوره‌های قارچ آ. فلاووس در گروه کنترل (بدون تیمار) دارای شکلی کروی و بیضوی هستند. در تصویر (الف)، لایه‌های پروتئینی موسوم به «رودلت» (Rodlet) باعث ایجاد برجستگی‌های نامنظم و زبری سطح شده؛ این لایه نقش محافظتی در برابر تنش‌های محیطی ایفا می‌کند. در بزرگنمایی پایین تصویر (ت)، اسپورها

شکل ۹. تصاویر SEM: (الف) کنترل، صفر ساعت خیساندن؛ (ب) کنترل، ۲ ساعت خیساندن؛ (پ) تیمار پلازما ۱۵ دقیقه، صفر ساعت خیساندن؛ (ت) کنترل، صفر ساعت خیساندن (بزرگنمایی پایین)؛ (ث) تیمار پلازما ۳۰ دقیقه، صفر ساعت خیساندن؛ (ج) کنترل، ۲ ساعت خیساندن (بزرگنمایی پایین)؛ (چ) تیمار پلازما ۱۵ دقیقه، ۲ ساعت خیساندن؛ (ح) تیمار پلازما ۳۰ دقیقه، ۲ ساعت خیساندن.

در کنار یکدیگر ساختاری منسجم و خوشه‌ای را نشان می‌دهند. خیساندن اسپورها به مدت ۲ ساعت در آب مقطر تصویر (ب) و (ج) منجر به پدیده تورم اسمزی شده است، به طوری که میانگین قطر اسپورها از ۳/۳۸۴ میکرومتر به ۳/۴۲۵ میکرومتر افزایش یافته که نشان‌دهنده جذب آب و فعالیت فیزیولوژیکی اولیه اسپور است، اما همچنان دیواره حفظ شده است.

اثر تیمار پلاسمای غیرحرارتی بر ساختار اسپور:

کنار دستیابی به اهداف ضد میکروبی و کاهش سموم، از اولویت‌های اصلی به شمار می‌آید.

تغییرات رنگ، که ممکن است ناشی از تعامل گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن با سطح دانه باشد، به دقت اندازه‌گیری شد. برای این کار، از مقیاس ۹ امتیازی هدونیک بهره گرفته شد و تأثیر زمان‌های مختلف درمان پلاسما (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) بر رنگ، بو، طعم و پذیرش کلی ارزیابی گردید. نتایج به صورت نمودار عنکبوتی (رادار) ارائه شده است که امکان مقایسه همزمان و بصری چندین ویژگی را در نمونه‌های مختلف به خوبی میسر می‌سازد.

ده نفر بررسی‌کننده به صورت تصادفی انتخاب شدند و به هر یک، نمونه شاهد و نمونه‌های تحت درمان ارائه گردید. ارزیابی از ۰ تا ۱۰ برای هر ویژگی انجام شد و میانگین نمرات ثبت گردید.

جدول ۲. نتایج ارزیابی حسی

	کنترل	تیمار ۱۰ دقیقه	تیمار ۲۰ دقیقه	تیمار ۳۰ دقیقه
رنگ	۸/۲	۷/۷	۶	۳/۹
بو	۶/۶	۶/۹	۷/۷	۷
طعم	۷/۴	۷/۴	۶/۸	۶/۲
پذیرش کلی	۷/۴	۷/۴	۶/۸	۶/۲

شکل ۱۰، نمودار عنکبوتی پروفایل حسی میانگین چهار نمونه پسته (کنترل، ۱۰ دقیقه، ۲۰ دقیقه و ۳۰ دقیقه) را بر اساس چهار ویژگی اصلی به نمایش می‌گذارد. هر محور مربوط به یکی از ویژگی‌های حسی است و هر چندضلعی با رنگ و علامت خاص، نمایانگر یک نمونه می‌باشد.

ویژگی رنگ

اعمال تیمار پلاسما سرد تغییرات مورفولوژیک شدیدی را در اسپورها ایجاد کرده است. در تیمار ۱۵ دقیقه تصویر (پ)، اسپورها از حالت کروی خارج شده و ظاهری مانند «دونات» پیدا کرده است. در تصویر (پ) ایجاد ترک‌های سطحی و تغییر شکل، نشان‌دهنده شروع تخریب دیواره و خروج سیتوپلاسم سلولی است. در تصویر (چ) تمام غشاء آسیب دیده و فضای داخلی اسپور تخلیه شده است.

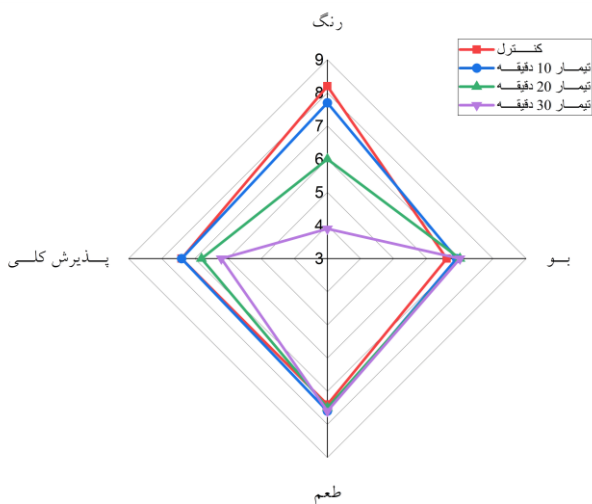
با افزایش زمان تیمار به ۳۰ دقیقه تصویر (ث) و (ح)، شدت تخریب افزایش یافته است. در تصویر (ث)، ساختار منسجم خوشه‌ای که در گروه کنترل تصویر (ت) دیده می‌شد، کاملاً از بین رفته و اسپورها به صورت متلاشی شده و تکه تکه درآمده‌اند. تصویر (ح) نشان می‌دهد که بدنه اسپورها به طور کامل خرد شده (Fragmentation) و تنها بقایای سلولی بر جای مانده است که نشان‌دهنده اثربخشی بالای پلاسما در نابودی کامل اسپورهای مقاوم است. ترکیبات فعال اکسیژن (ROS) مانند ازن (O_3) و رادیکال‌های هیدروکسیل ($OH\cdot$) باعث تخریب اسپور و تخلیه سیتوپلاسم آن شده است.

۳.۶. ارزیابی خواص فیزیکی و شیمیایی پسته پس از تیمار

در این پژوهش، سه گرم از مغز پسته تحت تأثیر پلاسما غیرحرارتی قرار گرفت. تیمار با استفاده از ۱۰ پسته در هر مرحله. پس از تیمار، ویژگی‌های بو، طعم و رنگ از طریق ارزیابی حسی بررسی شدند.

ارزیابی حسی به عنوان یکی از راهکارهای معتبر و مهم برای تعیین کیفیت محصولات غذایی، به ویژه بعد از استفاده از تکنولوژی‌های جدید مانند پلاسما سرد اتمسفری، مورد استفاده قرار گرفت. این روش امکان بررسی دقیق جوانب ظاهری، بویایی، طعمی و پذیرش کلی محصول را از منظر مصرف‌کننده فراهم می‌کند. در کاربرد پلاسما سرد (مانند تخلیه دی‌الکتریک سطحی - SDBD) روی محصولات کشاورزی از جمله پسته، حفظ ویژگی‌های حسی مطلوب در

افزایش ایمنی میکروبی و کاهش سموم است، بدون اینکه کیفیت حسی محصول به خطر بیفتد. لذا، بهینه‌سازی زمان درمان (به‌ویژه محدود کردن آن به زمان‌های کوتاه) می‌تواند تعادلی ایده‌آل میان اثرگذاری ضد میکروبی و حفظ ویژگی‌های حسی مطلوب ایجاد کرده و این فناوری را به گزینه‌ای بسیار مناسب برای صنایع غذایی تبدیل کند.



شکل ۱۰. نمودار ارزیابی حسی پسته

۷.۳. کاهش وزن

بررسی تغییرات جرمی نمونه‌های پسته قبل و بعد از تیمار پلازما به‌عنوان یکی از شاخص‌های ارزیابی اثرات جانبی انجام شد. اندازه‌گیری‌ها نشان داد که پس از اعمال پلازما تخلیه سد دی‌الکتریک سطحی (SDBD)، کاهش وزن قابل توجهی در نمونه‌ها مشاهده نشد. این موضوع بیان می‌کند که تیمار پلازما در شرایط اعمال شده، منجر به تبخیر رطوبت محسوس یا اتلاف ماده خشک در بافت پسته نشده است. در واقع، عدم تغییر معنی‌دار در جرم نمونه‌ها نشان می‌دهد که تیمار پلازما بدون کاهش بازده وزنی محصول، قابلیت استفاده به‌عنوان یک روش غیرحرارتی برای کاهش بار میکروبی را داراست. این ویژگی از دیدگاه حفظ کیفیت فیزیکی محصول، به‌ویژه در فرآوری محصولات حساس مانند خلال پسته، حائز اهمیت است.

نمونه کنترل و نمونه‌ای که به مدت ۱۰ دقیقه تیمار شده بود هر کدام امتیاز خوبی (حدود ۷/۷) کسب کردند که نشان‌دهنده حفظ ظاهر طبیعی و جذاب دانه‌های پسته در زمان کوتاه درمان است. این پایداری رنگ در تیمار ۱۰ دقیقه‌ای، گواهی بر حداقل تأثیر پلازما بر رنگدانه‌های طبیعی سطح مانند کاروتنوئیدها و کلروفیل و عدم بروز تغییرات ناخواسته قابل توجه است. با افزایش زمان درمان، امتیاز رنگ کاهش می‌یابد؛ اما با این حال، در زمان‌های کوتاه، ویژگی بصری محصول به خوبی حفظ می‌شود.

ویژگی بو و طعم

امتیازهای بو و طعم در تمام نمونه‌ها در سطح بالا و ثابت (۶/۶ تا ۶/۷) قرار دارد و تفاوت معناداری میان نمونه کنترل و نمونه‌های تحت درمان مشخص نمی‌باشد. این ثبات عالی نشان می‌دهد که پلازما غیرحرارتی در شرایط مورد مطالعه (رطوبت ۳۰٪ و ولتاژ ۶/۸ کیلوولت) هیچ تأثیر منفی بر روی ترکیبات فرار که مسئول عطر آجیل یا اجزای طعمی (شیرینی، تلخی ملایم و پس‌طعم) هستند، نداشته و کیفیت حسی این دو ویژگی به‌طور کامل حفظ شده است.

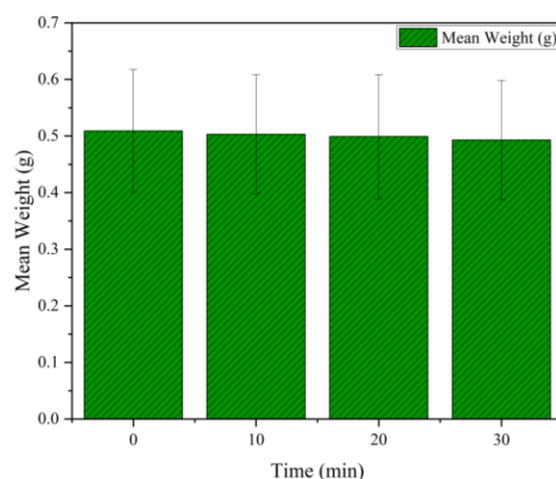
پذیرش کلی

پذیرش کلی یک محصول به‌طور طبیعی تحت تأثیر رنگ آن قرار می‌گیرد. نمونه کنترل و نمونه‌ای که به مدت ۱۰ دقیقه درمان شده بود، امتیاز مشابه و بالایی نزدیک به ۷/۴ دریافت کردند که این امر نشان‌دهنده پسند عالی مصرف‌کنندگان از محصولی است که در زمان کم تحت درمان قرار گرفته است. حتی در زمان‌های طولانی‌تر، با وجود کاهش نسبی امتیاز به‌دلیل تغییر رنگ، امتیازهای مربوط به بو و طعم همچنان در سطح رضایت‌بخش باقی مانده و محصول به‌طور کلی قابل قبول تلقی می‌شود.

به‌طور کلی، نمودار عنکبوتی به‌روشنی نشان‌دهنده این است که درمان پلازما در مدت کوتاه (تا ۱۰ دقیقه) نه تنها تأثیر منفی قابل توجهی بر پروفایل حسی پسته ندارد بلکه ویژگی‌های بو و طعم آن را در سطح عالی نگه می‌دارد و پذیرش کلی محصول را همچنان در سطح نمونه شاهد حفظ می‌کند. این نتایج حاکی از پتانسیل بالای پلازما غیرحرارتی به‌عنوان یک روش مؤثر برای

۴. نتیجه گیری

در این پژوهش کارایی و عملکرد پلاسمای تخلیه سد دی الکتریک برای پردازش غیر مستقیم جهت استریل سازی پسته پس از بسته بندی نهایی مورد ارزیابی و تحقیق قرار گرفت. همچنین هوا به عنوان گازی در دسترس و مقرون به صرفه، هزینه های عملیاتی سیستم پلاسمای تخلیه سد دی الکتریک سطحی (SDBD) را کاهش داده و امکان کاربرد صنعتی این فناوری را فراهم می کند. گونه های فعال اکسیژن و نیتروژن شامل نیتروژن برانگیخته (N_2^*)، رادیکال هیدروکسیل ($OH\cdot$) و اکسیژن اتمی (O) مهم ترین عوامل ضدقارچی تولید شده توسط پلاسمای SDBD در هوا هستند. زمان تیمار پلاسمای زمان خیساندن پس از تیمار بر کاهش اسپورهای آسپرژیلوس فلاووس تأثیر معنی داری دارند؛ به طوری که افزایش این پارامترها نرخ غیرفعال سازی قارچ را افزایش می دهد. تیمار SDBD با زمان تابش مستقیم ۳۰ دقیقه و ۲ ساعت خیساندن پس از تیمار می تواند به کاهش ۴ لگاریتمی (۹۹٪) و حذف کامل اسپورهای آ. فلاووس از سطح خلال پسته منجر شود. اگرچه تیمار ۳۰ دقیقه ای بیشترین کارایی ضدقارچی را دارد، اما تیمار ۱۰ دقیقه ای ضمن کاهش معنی دار بار میکروبی، تفاوت آماری معنی داری در ویژگی های رنگ، بو، طعم و پذیرش کلی بین نمونه های تیمار شده و شاهد ایجاد نمی کند. فناوری SDBD با کارایی ضدقارچی بالا در برابر اسپورهای آ. فلاووس و حفظ ویژگی های حسی محصول در زمان های تیمار بهینه، می تواند به عنوان یک فناوری غیرحرارتی امیدوارکننده برای افزایش ایمنی و ماندگاری پسته و سایر محصولات کشاورزی در بسته بندی نهایی مورد استفاده قرار گیرد.



شکل ۱۱. نمودار کاهش وزن قبل و بعد از تیمار پلاسمای SDBD

نتایج بررسی وزن نمونه ها نشان داد که وزن متوسط خلال پسته از ۵۰۹ میلی گرم در نمونه کنترل به ترتیب به ۵۰۳، ۴۹۹ و ۴۹۳ میلی گرم پس از تیمارهای ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه کاهش یافته است. با محاسبه و تحلیل انحراف معیار و خطای استاندارد، خطای اندازه گیری در تمام زمان ها با یکدیگر هم پوشانی دارند. این نکته نشان دهنده این است که تغییرات مشاهده شده در وزن نمونه ها از نظر آماری قابل توجه نبوده و در محدوده خطای اندازه گیری قرار دارند.

در نتیجه، تیمار پلاسمای نتوانسته است جرم واقعی نمونه ها را کاهش دهد و فرآیند تنها تغییرات سطحی را ایجاد کرده و هیچ گونه اتلاف ماده خشک به وجود نیاورده است.

مراجع

1. FAO, *The state of food and agriculture 2019*, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2019).
2. S V Avery, I Singleton, N Magan, G H Goldman, *Fungal Biol.* **123** (2019) 555.
3. FAO, *The state of food and agriculture 2022*, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2022).
4. T R Bui-Klimke, H Guclu, T W Kensler, J-M Yuan, F Wu, *PLoS One* **9** (2014) e92149.

5. M Jalili, *Iran. J. Health Safety Environ.* **3** (2016) 445.
6. N A R Administration, *Code of Federal Regulations, Title 7, Part 996, Section 996.11*, (accessed).
7. H Gourama, L B Bullerman, *J. Food Prot.* **58** (1995) 1395.
8. U S Food and Drug Administration, *CPG Sec. 683.100: Action levels for aflatoxins in animal food*, (accessed).
9. M Gavahian, A M Khaneghah, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **60** (2020) 1581.
10. E Wielogorska, Y Ahmed, J Meneely, W G Graham, C T Elliott, B F Gilmore, *Food Chem.* **301** (2019) 125281.
11. C M G Charoux, A Patange, S Lamba, C P O'Donnell, B K Tiwari, A G M Scannell, *J. Appl. Microbiol.* **130** (2021) 325.
12. A A Abdelaziz, T Ishijima, N Osawa, T Seto, *Plasma Chem. Plasma Process.* **39** (2019) 165.
13. M J Pavlovich, D S Clark, D B Graves, *Plasma Sources Sci. Technol.* **23** (2014) 065036.
14. L Zhao, et al., *Food Chem.* **464** (2025) 141607.
15. N Nikmaram, K M Keener, *Food Res. Int.* **162** (2022) 112009.
16. N I S T, *NIST Atomic Spectra Database Lines Form*, NIST (accessed).
17. N Misra, L Han, B Tiwari, P Bourke, P Cullen, *Novel Food Preserv. Microb. Assess. Tech.* (2014) 155.
18. E Ebrahimi, S I Hosseini, H R Samadlouie, B Mohammadhosseini, P J Cullen, *Food Bioprocess Technol.* **16** (2023) 2570.
19. R Moutiq, N Misra, A Mendonça, K Keener, *Meat Sci.* **159** (2020) 107942.
20. D Duday, et al., *Plasma Process. Polym.* **10** (2013) 864.
21. A Fridman, *Plasma Chemistry*, Cambridge University Press (2008).
22. K H Becker, U Kogelschatz, K Schoenbach, R Barker, "Non-equilibrium Air Plasmas at Atmospheric Pressure", CRC Press (2004).
23. L Zhao, et al., *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **102** (2025) 103964.
24. M Mingming, X I E Yanli, *J. Henan Univ. Technol. (Nat. Sci. Ed.)* **44** (2023) 49.