پیشرفت‌های فناوری آب فعال شده با پلاسما بر پاتوژن‌های غذایی: کاربردهای فعلی و دورنمای آینده

نرجس بصیری[۱]، مهدی زارعی[۲]، **محمد کارگر[۱]***، فرشید کفیل‌زاده[۱]

[۱]گروه میکروبیولوژی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران

[۲]گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۴

چکیده

نوآوری در زمینه تولید و فراوری مواد غذایی برای پاسخگویی به چالش‌های نوظهور، تضمین امنیت غذایی در سراسر جهان و برآورده کردن خواسته‌های مصرف‌کنندگان برای محصولات غذایی با کیفیت بالا، ایمن و مغذی مورد نیاز است. آب فعال‌شده با پلاسما (Plasma-activated water)، یک تکنیک سازگار با محیط زیست با حداقل تغییرات در محصولات غذایی است. آب فعال شده با پلاسما توجه بسیاری را در زمینه صنایع غذایی، کشاورزی و زیست پزشکی به خود جلب کرده است. این مقاله به طور خاص، خواص فیزیکی و شیمیایی آب فعال شده با پلاسما در رابطه با اسیدیته، رسانایی، پتانسیل اکسیداسیون و کاهش و غلظت گونه‌های اکسیژن فعال، نیتروژن واکنش‌پذیر در آب تصفیه شده را مشخص می‌کند. بنابراین، کاربردهای آب فعال شده با پلاسما برای ضدعفونی میکروبی نیز در این بررسی خلاصه شده است. به‌طور کلی، این مقاله مروری میزان موفقیت کاربردی فناوری آب فعال شده با پلاسما را در زمینه‌های مختلف و به طور خاص کاربرد ان در صنعت فراوری مواد غذایی را توصیف می‌کند. از آنجایی که خروجی پژوهش در حوزه آب فعال شده با پلاسما به‌طور تصاعدی در حال گسترش است، این بررسی بر روی مطالعات منتشر شده طی سال‌های ۲۰۱۷ تا۲۰۲۳ تمرکز می‌کند تا درک فعلی اصول اثرات آب فعال شده با پلاسما را خلاصه کند و پتانسیل‌های آن را در برنامه های کاربردی منعکس کند. همچنین، معایب برجسته این فناوری و زمینه‌های مهم برای تحقیقات آینده مورد بحث قرار می‌گیرد.

واژگان کلیدی: آب فعال‌شده با پلاسما، اکسیژن واکنش‌پذیر، پاتوژن غذایی، فعالیت ضدباکتریایی، نیتروژن واکنش پذیر

* mkargar@jia.ac.ir

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

مقدمه

در چند سال گذشته، مردم نسبت به اثرات مواد غذایی فراوری شده بر سلامتی خود دچار تردید شده‌اند(۱ و ۲). با تغییر در تقاضای مصرف‌کنندگان و دستورالعمل‌های ایمنی مواد غذایی، فناوری‌های فراوری مواد غذایی نیز تغییر کرده است. تضمین کیفیت خوب و ایمنی مواد غذایی در سال های اخیر به یک کار دشوار تبدیل شده است(۳). تمیز کردن و ضدعفونی کردن، فرایندهای حیاتی هستند که در طول پردازش مواد غذایی برای اطمینان از ایمنی مواد غذایی انجام می‌شود.

انواع مختلفی از فرایندهای شیمیایی و فیزیکی برای ضدعفونی مواد غذایی و جلوگیری از انتشار میکروارگانیسم های بیماری‌زا و مضر استفاده می‌شود. از بین بردن میکروارگانیسم‌ها ضروری‌ترین عنصر برای ایمنی مواد غذایی است. میکروارگانیسم‌های زیادی روی سطوح غذا وجود دارند. عمده این پاتوژن‌ها گونه‌های *کمپیلوباکتر*[1]، *کلستردیوم پرفرنجنس*[2]، گونه‌های *سالمونلا*[3]، *اشریشیاکلی*[4] و *لیستریا مونوسیتوژنز*[5] هستند(۴). *اشریشیاکلی* شایع‌ترین میکروارگانیسم منتقله از غذا است که در بیشتر میوه‌ها و سبزیجات یافت می‌شود. *لیستریا مونوسیتوژنز* به دلیل شیئع در محیط، یکی دیگر از میکروارگانیسم‌های مشکل آفرین در امنیت غذایی (۵). سالمونلوز انسانی نیز یکی از مهمترین بیماری‌های ایجاد شده از غذا در سراسر جهان است و شیوع آن معمولا در اثر مصرف مواد غذایی آلوده به *سالمونلا* است. براساس گزارش منتشر شده توسط آژانس ایمنی مواد غذایی اروپا، سالمونلوز در سال ۲۰۱۳ شایعترین بیماری انتقالی از حیوانات به انسان بوده است. این بیماری ۸۲۶۹۴ مورد انسانی تایید شده و ۵۹ مرگ‌ومیر گزارش شده در اتحادیه اروپا را شامل می‌شود(۶).

آلودگی میکروبی مواد غذایی تهدیدی جدی برای سلامت عمومی جهانی بوده و می‌تواند در تمام مراحل تهیه و تولید مواد غذایی اتفاق بیفتد. امروزه تقاضا برای محصولات غذایی با کیفیت و ایمن به میزان قابل‌توجهی از سوی مصرف‌کنندگان افزایش یافته است. با این‌حال، به دلیل شرایط نامناسب فراوری غذا و آلودگی آن، ارزش غذایی، کیفیت، رنگ و بافت مواد غذایی کاهش یافته است و یک سوم تولید این مواد در کشورهای توسعه‌یافته و در حال توسعه هدر می‌رود(۷ و ۸). در چند قرن اخیر از ضدعفونی کننده‌های شیمیایی در موارد بسیاری به‌طور گسترده استفاده می‌شود. این ضدعفونی کننده‌ها شامل کلر، الکل‌ها، اسیدها، مواد قلیایی، سفیدکننده و سایر ترکیبات هستند(۹). ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی یکی از روش‌های اقتصادی هستند، اما اثر کوتاه‌مدتی دارند. این ضدعفونی کننده‌ها می‌توانند با اجزای موجود در سطح غذا واکنش نشان دهند و حتی اجزای خطرناک‌تری را ایجاد کنند که می‌توانند برای بدن انسان سمی باشند(۱۰). دانشمندان و تکنسین‌های صنایع غذایی با کشف انواع فناوری‌های ضدعفونی پایدار مانند فرایند فشار زیاد[6]، تکانه نوری[7]، فراصوت[8] و پلاسمای سرد[9] ، تاثیر آنها را بر روی میکروارگانیسم‌های منتقل شونده از غذا به اثبات رسانده‌اند. یکی از مهمترین روش‌های یادشده، پلاسمای سرد می‌باشد. به دلیل عملکرد پلاسمای سرد، تحت دما و فشار اتمسفر، تشعشع، سمیت شیمیایی، گرمای زیاد یا هر محصول جانبی نامطلوب دیگری را تولید نمی‌کند؛ بنابراین استفاده از آن ساده است و دوستدار محیط زیست است. این فناوری به دلیل اثر بخشی خود علیه میکروارگانیسم‌ها در زمینه پزشکی و محصولات غذایی اهمیت بسیاری پیدا کرده است(۱۴-۱۱). پلاسما چهارمین و آخرین حالت ماده و حالتی غیر از جامد، مایع یا گاز است. پلاسما به‌طور کلی به گاز یونیزه جزیی یا کاملاً یونیزه اشاره دارد و حاوی الکترون‌ها، یون‌ها و اتم‌ها و مولکول‌های آزاد می‌باشد. پلاسما مخلوطی از

[1] *compylobacter*
[2] *Clostridium perfringens*
[3] *Salmonella*
[4] *Escherichia coli*
[5] *Listeria monocytogenes*

[6] High Pressure Processing
[7] Pulsed Light
[8] Ultra Sound
[9] Cold Plasma

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

الکترون‌ها، یون‌های منفی یا مثبت، رادیکال‌های آزاد، اتم‌ها و فوتون‌های برانگیخته است. لازم به یادآوری است که توپوگرافی سطح بسیار نامنظم محصولات غذایی، مکان‌های پنهان بی‌شماری را برای میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌کند. بنابراین مقاومت آنها در برابر تیمار با پلاسمای سرد افزایش می‌یابد(۱۵ و ۱۶). شیمی پلاسما یک علم پیچیده است که مجموعه‌ای از واکنش‌های شیمیایی در مقیاس‌های مختلف را شامل می‌شود. تیمار آب با پلاسما از طریق وجود توده پلاسما در بالا یا زیر سطح آب، ذرات تولید شده در پلاسما، برقراری ارتباط با مولکول‌های آب، سبب انواع واکنش بیوشیمیایی می‌شود. در حین تولید آب فعال شده با پلاسما، ذرات پرانرژی موجود در فاز پلاسما در مایعات آبی به دام افتاده و در ادامه یک سری واکنش بین فاز گاز-مایع آغاز می‌شود که به حل شدن انواع مختلف واکنشگرهای اولیه و ثانویه در مایع منجر می‌شود. این گونه‌های واکنش‌پذیر، به ویژه، اکسیژن فعال (ROS) و نیتروژن واکنش‌پذیر (RNS)، مسئول اثرات شیمیایی و زیستی می‌باشند و در خصوصیات ضدمیکروبی آب فعال شده با پلاسما نقش اصلی را بازی می‌کنند. درک تعامل پلاسما با سطوح غذا دشوار است زیرا واکنش‌های شیمیایی متعددی در بین ۷۵ گونه مختلف دارد(۱۷). استفاده از آب فعال شده با پلاسما به عنوان ضدعفونی کننده مزایای بسیاری دارد و برخلاف مواد سنتی که محصولات جانبی آنها نگرانی‌های زیست محیطی ایجاد می‌کند با محیط اطراف سازگارتر است. آب فعال شده با پلاسما معمولاً به‌عنوان منبع ضدمیکروبی یا ضدعفونی کننده استفاده می‌شود و برای گونه‌های حساس به حرارت گزینه مطلوبی است. همچنین، واکنش‌پذیری و خواص ضدمیکروبی آب فعال شده با پلاسما می‌تواند برای مدتی ثابت بماند. آب فعال شده با پلاسما امکانات کاربردی جدیدی را در زمینه‌های غذایی، کشاورزی و پزشکی ارائه می‌دهد (۱۸ و ۱۹). این مرور در مورد همراهی‌های مثبتی که فعل و انفعالات پلاسما می‌تواند بر خواص انواع محصولات غذایی داشته باشد، صحبت می‌کند. با توجه به تمرکز بیشتر مطالعات بر روی میوه‌ها و سبزیجات، امکان استفاده از این تکنیک در سایر گروه‌های غذایی هنوز مورد نیاز است. با نتیجه‌گیری‌های تحقیقاتی موجود، بدون تردید این روش تأثیر سازنده‌ای در هر زیرگروه غذایی دارد(۲۰).

ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب فعال شده با پلاسما

ویژگی‌های شیمیایی

غالبا ترکیبات پلاسما شامل اکسیژن منفرد، سوپراکسیدها، یون‌های برانگیخته، الکترون‌ها، اتم‌ها و ازون می‌باشد. در زمان ارتباط یافتن آب و پلاسما، یک سری واکنش‌های شیمیایی پویا آغاز و در نهایت گونه‌های فعال از مولکول‌های آب تولید می‌شود. در حال‌حاضر، چندین روش برای شناسایی و کمی‌سازی گونه‌های واکنشی تولید شده در مایعات تحت تیمار با پلاسما استفاده می‌شود. این روش‌ها رزونانس پارامغناطیس الکترون، اسپکتروفتومتری اشعه ماورا بنفش و دوزیمتری شیمیایی شامل می‌شوند(۲۱). از سوی دیگر برای بررسی محصولات در فاز گاز، از روش های دیگری مانند فلورسانس ناشی از لیزر، طیف‌سنجی مادون قرمز، طیف‌سنجی جرمی و سنسورهای گاز یا آنالایزر استفاده می‌شود.

هنگام تولید آب فعال شده با پلاسما، فرایندهای مختلفی مانند انتقال گونه‌های گازی به مایع و واکنش‌های شیمیایی بین گونه‌های گازی و مولکول‌های مایع در لایه رابط رخ می‌دهد(۲۲). تخلیه‌های تولید شده در مایع بسیار پویا و گذرا هستند و فرایندهای تجزیه سریع در آن موثر می باشند که بیشتر توسط میدان‌های الکتریکی قوی یا با انفجار حباب یا پالس‌های لیزر هدایت می‌شوند. تیمار آب توسط پلاسما منجر به تفکیک مولکول‌های آب شده و در نتیجه رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-) و الکترون‌های محلول در آب را هیدراته می‌کند(۲۲). به دنبال آن واکنش‌های سریع بین این دو نوع مولکول صورت می‌گیرد که منجر به تولید ترکیبات پایدارتری مانند سوپراکسیدها (O_2^-)، ازون (O_3) و پراکسیدهیدروژن (H_2O_2) می‌شود. رادیکال‌های هیدروکسیل گونه‌های واکنشی با عمر کوتاه مدت و بسیار واکنش‌پذیر هستند که پتانسیل اکسایش بسیار بالایی دارند(۲۳).

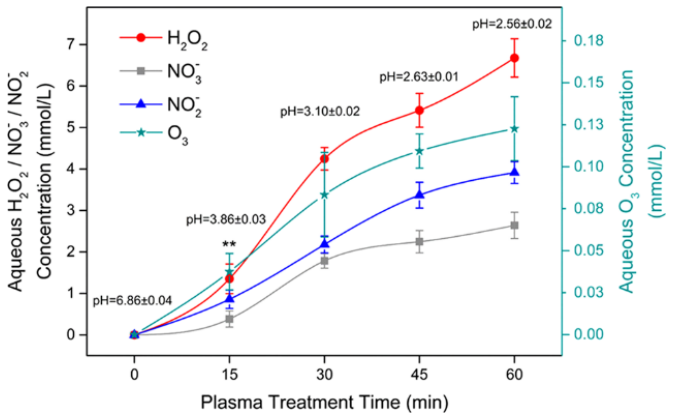
[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

$$O_3 + HO_2 \longrightarrow HO_2 + O_3$$
$$HO_2 \longleftrightarrow H^+ + O_2^-$$
$$O_3 + O_2^- \longrightarrow O_2 + O_3$$
$$O_3^- + H^+ \longrightarrow HO_3$$
$$HO_3 \longrightarrow O_2 + OH$$

حال اگر در مایع مواد آلی وجود داشته باشد، مولکول های OH^- با مواد آلی واکنش می‌دهند و رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند. به‌عنوان نمونه، در مورد پراکسیداسیون لیپید، واکنش OH^- با لیپیدها باعث ایجاد رادیکال‌های پراکسیل لیپید و پراکسید لیپید می‌شود(۲۴). اکسیژن منفرد و ازون به طور کلی گونه‌هایی با عمر کوتاه هستند. ازون محلول در مایع خیلی پایدار نیست و پایداری آن به ویژه به pH مایع بستگی دارد. در حالی‌که، پراکسیدهیدروژن یک گونه نسبتاً پایدار است و بسته به محیط مایع می‌تواند به رادیکال های هیدروکسیل تبدیل شود. پراکسیدهیدروژن یک عامل فعال بیولوژیکی است که اهمیت آن به دلیل ویژگی‌های مهم ضدمیکروبی و سمیت سلولی است(۲۵). چندین پژوهشگر فرایندهای شیمیایی برای تشکیل پراکسیدهیدروژن را بررسی کردند و اهمیت آن را برای فعالیت ضدمیکروبی آب فعال شده با پلاسما ارزیابی کردند. روش‌های تحلیلی برای اندازه‌گیری پراکسیدهیدروژن شامل سنجش‌هایی مانند تیتراسیون یدومتریک، تیتراسیون پرمنگنات، اگزالات تیتانیوم (اسپکتروفتومتر)، کیت سنجش آنزیم پراکسیداز می‌باشد. در محیط اسیدی، غلظت پراکسیدهیدروژن همراه با آنیون سوپراکسید تاثیر بسزایی در خواص اکسیداسیون آب فعال شده با پلاسما دارد(۲۶).

خواص فیزیکی

گونه‌های واکنشی و یون‌های تشکیل شده در آب فعال شده با پلاسما منجر به اسیدی شدن pH، افزایش رسانایی الکتریکی و پتانسیل کاهش اکسیداسیون می‌شوند. پتانسیل کاهش اکسیداسیون‌های مختلفی که در محیط مایع یا گاز-مایع تولید می‌شوند دارای خاصیت اسید-باز هستند، زیرا قادر به آزادسازی یون‌های هیدروژن در محلول آبی می باشند(۲۷). در مطالعات تاکاماتسو وهمکاران (۲۰۱۲) مشخص شده است که عامل اصلی اسیدی شدن آب در زمان تیمار آن با پلاسما، تبدیل NO_2^- به NO_3^- می‌باشد و همچنین کاهش مداوم pH محلول غیربافری فعال شده با پلاسما نیز در مطالعات گزارش شده است(۲۸). شکل ۱ نموداری از غلظت چهار ترکیب واکنش‌پذیر را نشان می‌دهد.



شکل ۱. غلظت چهار ترکیب واکنش‌پذیر

مکانیسم‌های غیرفعال سازی میکروبی

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

استرس اکسیداتیو در دیواره و غشای سلول

گونه‌های اکسیژن فعال مانند اتم اکسیژن، رادیکال های هیدروکسیل و پراکسیدهیدروژن می‌توانند در سلول استرس اکسیداتیو ایجاد کنند(۲۹). در یک مطالعه آسیب به سلول‌های باکتریایی *استافیلوکوکوس اورئوس*[1] در اثر استرس اکسیداتیو با ارزیابی وضعیت‌های ساختاری و شیمیایی سطح باکتری بررسی شد. نتایج نشان داد که پس از تیمار با آب فعال شده با پلاسما محتوای اکسیژن افزایش و میزان کربن کاهش یافته است و این امر منجر به افزایش نسبت اکسیژن به کربن از ۳۰/۲۸ ٪ به ۳۳/۱۶ ٪ شد. در پژوهش یاد شده از طریق طیف‌سنجی مادون قرمز اثرات آب فعال شده با پلاسما بر روی پیوندهای شیمیایی این باکتری ارزیابی و نتیجه‌گیری شد که دلیل این تغییرات استرس اکسیداتیو در سلول می‌باشد(۳۰). همچنین، در یک بررسی مشخص شد که برخی از گونه‌های اکسیژن فعال مانند رادیکال هیدروکسیل، پراکسیدهیدروژن و ازون قادر به شکستن پیوندهای پپتیدوگلیکان دیواره سلول باکتری می باشند(۳۱). همچنین، این مولکول‌ها باعث پراکسیداسیون غشا می‌شوند. لیپیدهای غشایی، به ویژه اسیدهای چرب اشباع نشده به دلیل حساسیت زیاد به گونه‌های اکسیژن فعال، آسیب پذیرترین ترکیبات هستند. برای شروع پراکسیداسیون لیپید، گونه‌های اکسیژن فعال، یک اتم H از اسیدهای چرب دارای چندین بنیان‌های غیراشباعی[2] خارج کرده و منجر به تشکیل مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان محصول نهایی می‌شوند. این محصول می‌تواند با استفاده از روش واکنش اسید تیوباربیتوریک اندازه‌گیری شود(۳۲). در ادامه این مطالعه، دولزالوا و همکاران (۲۰۱۵) نشان دادند که هر چه سلول بیشتر در معرض آب فعال شده با پلاسما قرار بگیرد مقدار و غلظت مالون دی‌آلدئید در محیط (از ۱۰ nM در ۱۵ min به حدود ۴۵ nM در ۴۵ min) افزایش می‌یابد. این مساله نشان دهنده افزایش اکسیداسیون چربی است(۳۳). همچنین، مالون دی‌آلدئید خود در سیستم باکتریایی جهش‌زا و سمی است. این ماده می‌تواند با DNA واکنش دهد و ترکیبات یا توالی‌های اضافی و جدید از نوکلئوتیدها را تشکیل دهد. بنابراین، با تاثیر بر ژنوم می‌تواند موجب ممانعت از رشد و تکثیر سلولی شود(۳۴). پروتئین‌های باکتری نیز جز اهداف مهم اکسیداسیون هستند. به‌عنوان نمونه در یک مطالعه سطوح نسبی گروه‌های کربونیل پروتیین *اشریشیاکلی* قبل و پس از تیمار با آب فعال شده با پلاسما بررسی شد و افزایش قابل‌توجهی در مقدار پروتیین‌های اکسیده شده مشاهده شد. گزارش شده است که می‌توان گروه‌های عملکردی کربونیل را از طریق انواع فرایندهای اکسیداتیو از جمله اکسیداسیون مستقیم اسید آمینه با پراکسیدهیدروژن و یا از طریق محصولات حاصل از پراکسیداسیون لیپید در غشای سلولی به پروتیین‌های اکسید شده القا کرد(۳۵). جدا از عملکرد لیپید و پروتیین‌ها در غشا، پتانسیل غشا نیز در فعالیت فیزیولوژیکی سلول نقش اساسی دارد. از پتانسیل غشایی به‌عنوان شاخصی برای یکپارچگی غشا و زنده ماندن سلول‌های باکتری استفاده می‌شود. استرس اکسیداتیو ناشی از آب فعال شده با پلاسما بر روی سلول‌های باکتریایی سبب دپلاریزاسیون غشای سلولی می‌شود و احتمالاً به نشت از غشای سلول و به دنبال آن مرگ سلول منجر می‌شود. غشا خارجی اولین سد دفاعی باکتری‌های گرم منفی برای زنده ماندن در یک محیط نامطلوب است. در مطالعه‌ای دیگر توسط دولزالوا (۲۰۱۵) مشخص شد هر چه باکتری *اشریشیاکلی* بیشتر در معرض آب فعال شده با پلاسما قرار گیرد، میزان نفوذپذیری غشا باکتری *اشریشیاکلی* نیز افزایش می‌یابد(۳۳). از فناوری‌های میکروسکوپی برای تشخیص یکپارچگی غشا می‌توان به میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)[3] و میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM)[4] اشاره کرد. بر طبق مشاهدات، اگر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در دماهای مختلف تحت تیمار با آب فعال شده با پلاسما قرار گیرد، از نظر سطحی انواع آسیب‌ها مانند چروکیدگی، جمع شدگی و حتی پارگی لایه خارجی را نشان می‌دهد(۱۹). *اشریشیاکلی* نیز در آزمایش مشابه سوراخ شدگی متعدد در سطح غشای خود نشان داد. در مطالعه‌ای

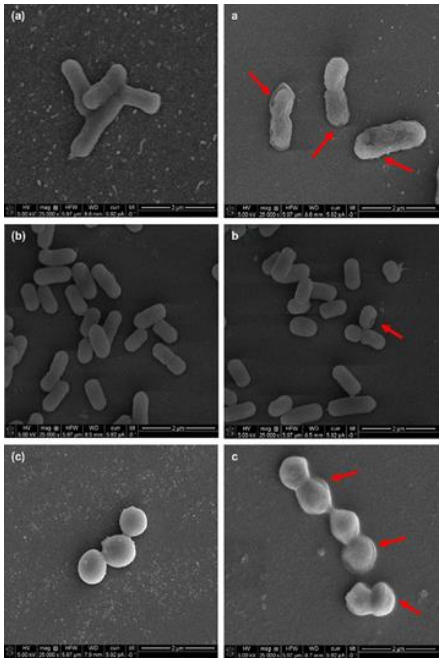
[1] *Staphylococcus aureus*
[2] Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)
[3] Scanning Electron Microscope
[4] Transmission Electron Microscope

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

دیگر که توسط ژانگ (۲۰۱۶) انجام شد او توانست یک شکاف واضح بین غشا سیتوپلاسمی- دیواره سلولی و سیتوپلاسم ناهموار را برای سلول‌های تحت درمان با آب فعال شده با پلاسما مشاهده کند(۳۰).

تاثیر آب فعال‌شده با پلاسما بر اجزای داخل سلولی

غشای آسیب دیده به علت تشکیل منافذ یا سوراخ در سطح سلول، جریان یافتن مواد بین محیط داخل سلول و محیط اطراف را امکان‌پذیر می‌کند. در همان ابتدا نشت اتم های K^+ را شاهد هستیم و به دنبال آن مولکول‌های بزرگ پروتیین، DNA و RNA نیز به بیرون جریان می‌یابند. برای تشخیص این فرایند می‌توان از روش طیف سنجی جذب اتمی برای بررسی نشت پتاسیم و از روش جذب نوری nm ۲۶۰ به ۲۸۰ برای بررسی نشت مواد ژنومی استفاده کرد. به عنوان نمونه در مطالعه ژانگ و همکاران (۲۰۱۶) مشخص شد که در تیمار min ۵ با آب فعال شده با پلاسما غلظت پتاسیم تا ۲۲۸ ٪ افزایش یافت(۳۰ و ۳۶). جدا از انتشار اجزای داخل سلول به خارج آن، موادی از محیط اطراف مانند پروتون‌ها و گونه‌های اکسیژن فعال نیز می‌توانند وارد سلول شوند. همانطور که قبلا اشاره شد تیمار با آب فعال شده با پلاسما می‌تواند باعث اسیدی شدن محیط شود؛ بنابراین اندازه‌گیری pH لازم و ضروری است. تقریباً تمام فعالیت‌های متابولیکی در سلول‌های میکروارگانیسم زنده به pH وابسته هستند، در نتیجه pH درون سلولی (pHi) یک پارامتر مهم برای زنده ماندن سلول است. طی مطالعات انجام شده توسط ژانگ (۲۰۱۶) وو (۲۰۱۷) بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، مشخص شد که به ترتیب پس از گذشت min ۳ و ۱۰ از تیمار با آب فعال شده با پلاسما، میزان pH درون سلولی سلول باکتری ۴/۱ و ۲/۵ تخمین زده می‌شود که این خود نشان دهنده آسیب دیدن یکپارچگی غشای سلول و جریان یافتن پروتون‌ها به درون آن است(۳۰ و ۳۷). همچنین، گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده می‌توانند وارد سلول شوند و در داخل آن تجمع پیدا کنند.



شکل ۲. تصاویر SEM از گونه‌های باکتریایی به ترتیب شامل *اشریشیا کلی*(a)، *لیستریا اینوکوآ* (b)، *استافیلوکوکوس اورئوس*(c)، (a)-(c) از گونه‌های کنترل و a-c از گونه‌های تحت درمان با آب فعال شده با پلاسما که فلش‌های قرمز نشان دهنده آسیب روی سطح سلول است.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

میزان گونه‌های اکسیژن فعال داخل سلولی را می‌توان با پروب ۲، ۷ دی استات دی کلروفلورسیین و میکروسکوپ فلورسانس اندازه‌گیری کرد. به‌عنوان نمونه طی مطالعات انجام شده بر روی باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس*، مشخص شد پس از تیمار باکتری با آب فعال شده با پلاسما شدت فلورسانس درون سلول افزایش می‌یابد. همچنین، این روند رابطه مستقیم با زمان تیمار داشته است که خود عاملی دیگر برای از بین بردن و غیرفعال سازی باکتری می‌باشد(۳۸ و ۳۹). تغییر مورفولوژیکی می‌تواند باعث آسیب دیدن غشا سلول شود و عاملی برای نشت گونه‌های واکنش‌پذیر و فعال به داخل سلول و آسیب بیشتر آن است. البته قابل ذکر است که آسیب دیدن یکپارچگی غشای سلول برای این جریان ضروری نیست. گروهی از پژوهشگران بیان کردند که پراکسیدهیدروژن بدون ایجاد اختلال در یکپارچگی غشا، می‌تواند آزادانه از طریق غشای سلول منتشر شود (۴۰). مکانیسم انتشار رادیکال‌ها به سلول عمدتا به سرعت انتقال و انتشار جرم بستگی دارد. دو مکانیسم در مورد عملکرد گونه های اکسیژن فعال بر روی دو نوع مختلف باکتریایی وجود دارد. برای باکتری‌های گرم منفی، پوشش و غشا هدف اصلی گونه‌های اکسیژن فعال است. در حالی‌که در مورد باکتری‌های گرم مثبت، اجزای داخل سلولی اهداف اصلی گونه‌های اکسیژن فعال هستند که در این صورت واکنش های گونه‌های اکسیژن فعال باعث آسیب شدید اجزای داخل سلول بدون ایجاد نشت سلول می‌شوند(۴۱ و ۴۲). گونه‌های واکنشی درون سلولی می‌توانند منجر به تخریب DNA شوند. پس از تیمار *استافیلوکوکوس اورئوس* با آب فعال شده با پلاسما و انجام الکتروفورز ژل مشخص شد که نوارهای DNA این باکتری اغلب به سمت پایین ژل حرکت کرده‌اند که این خود نشان دهنده شکسته شدن و از بین رفتن پیوندهای قند-فسفات در مولکول DNA باکتری بوده است که منجر به تولید قطعات کوچکی از این مولکول شده است(۳۰ و ۴۳). بنابراین، می‌توان بیان کرد گونه‌های اکسیژن فعال به بسیاری از اجزای سلول از جمله DNA، RNA، لیپیدهای غشا و پروتئین‌ها آسیب می رساند. از آنجایی‌که باکتری‌ها به‌طور طبیعی هنگام زندگی هوازی با گونه‌های اکسیژن فعال مواجه می‌شوند، سیستم‌های محافظتی متنوعی از جمله آنزیم‌ها، پروتئین‌های کوچک مانند تیوردوکسین و گلوتاردوکسین و مولکول‌هایی مانند گلوتاتیون را برای خنثی کردن گونه‌های اکسیژن فعال و کمک به زنده ماندن ایجاد کرده‌اند(۴۴). اعتقاد بر این است که مقاومت در برابر پلاسما بعید است. با این‌حال، نشان داده شده است که دوزهای پایین و درمان مکرر با پلاسما منجر به ظهور برخی از سلول‌های *سودوموناس ایروجینوزا*[1] می شود که تحمل بالاتری نسبت به پلاسمای سرد دارند. همچنین، نشان داده شد که این سلول‌ها جهش‌هایی در فنازین[2] رنگدانه فعال اکسیداسیون و کاهش دارند(۴۵).

اثرات جسمی و فیزیکی بر روی سلول

اثرات فیزیکی آب فعال شده با پلاسما بر روی سلول ها عمدتا شامل pH، پتانسیل کاهش اکسیداسیون، اشعه ماوراء بنفش و امواج شوک الکتریکی است. تشکیل گونه های اکسیژن و نیتروژن فعال منجر به ایجاد pH اسیدی در آب فعال شده با پلاسما شده که در بخش خصوصیات فیزیکوشیمیایی توضیح داده شد و pH محیط منجر به کاهش pH درون سلولی مربوطه می‌شود. مقدار بالای پتانسیل کاهش اکسیداسیون در آب فعال شده با پلاسما نقش مهمی در گندزدایی دارد. اشعه ماوراء بنفش همچنین به غیرفعال‌سازی میکروبی کمک می‌کند. پژوهشگران به صورت کمی اثر تابش اشعه ماوراء بنفش به داخل آب (تخلیه آب فعال شده با پلاسما در زیر سطح آب) را مورد تجزیه‌وتحلیل قرار دادند و تاثیر قابل‌توجهی از این اشعه برای غیر فعال سازی باکتری شناسایی کردند به‌طوری‌که ۳۰ ٪ از غیرفعال شدن باکتری *اشریشیاکلی* تحت تاثیر اشعه ماوراء بنفش برآورد شد(۴۶). گذشته از این موارد عامل دیگری که در گندزدایی توسط آب فعال شده با پلاسما کمک کننده است، امواج شوک الکتریکی می‌باشد که باعث ایجاد حفره بر روی غشا می‌شود. بر اساس توضیحات ارایه شده در بالا، مکانیسم‌های غیرفعال سازی آب فعال شده با پلاسما را می‌توان در چهار مرحله طبقه‌بندی کرد.

[1] *Pseudomonas aeruginosa*
[2] Phenazine

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

۱- یک سری گونه‌های فعال اکسیژن اولیه و ثانویه در آب فعال شده با پلاسما تولید می‌شوند که در کاهش pH، افزایش پتانسیل کاهش اکسیداسیون و هدایت الکتریکی نقش ایفا می‌کنند. این عوامل سبب استرس فیزیکی روی سلول‌های میکروبی می‌شوند.

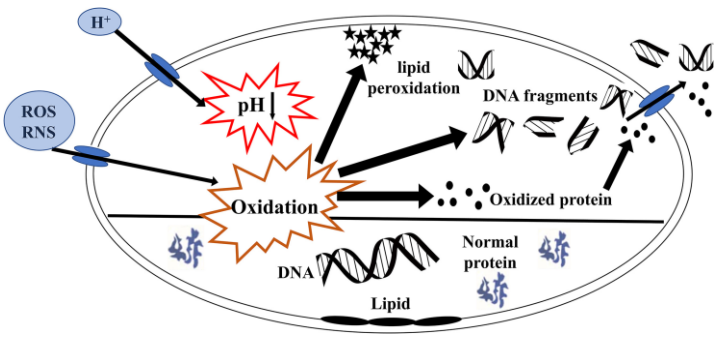
۲- گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن در آب فعال شده با پلاسما می‌تواند باعث استرس اکسیداتیو شود که نه تنها ساختار پپتیدوگلیکان را در دیواره سلول تخریب می کند بلکه باعث شروع پراکسیداسیون لیپید و پروتئین در غشای سلول می‌شوند. در نتیجه یکپارچگی غشا سلول به خطر می‌افتد و به دنبال آن دپلاریزاسیون پتانسیل غشای سلول نیز انجام می‌شود.

۳- گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن در محیط اطراف می‌توانند از طریق منافذ به محیط داخلی منتقل و منجر به تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن درون سلولی شوند. در همین حال، پروتون‌های موجود در آب فعال شده با پلاسما نیز می‌توانند به داخل سلول سرازیر شده و در نتیجه pH داخل سلول کاهش می‌یابد.

۴- گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن درون سلولی می توانند اجزای داخل سلولی از جمله DNA، پروتئین‌ها، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها را اکسید کنند. در نتیجه باعث تکه تکه شدن DNA و پروتیین‌های اکسید شده می‌شوند که می توانند از طریق منافذ تشکیل شده روی غشا به داخل آب فعال شده با پلاسما جریان یابند.

لازم به ذکر است که آب فعال شده با پلاسما ممکن است منجر به مرگ کامل سلول‌های باکتریایی نشود، اما می تواند به آنها صدمه زده و منجر به تولید یک حالت زنده اما غیرقابل کشت و تکثیر سلول شود. گزارش شده است که تنش‌های محیطی از جمله اشعه ماوراء بنفش، مواد شیمیایی سمی و همچنین وجود مواد مغذی اندک می‌توانند باکتری ها را به حالت زنده اما غیرقابل کشت وارد کنند(۴۷). در یک مطالعه Xu دریافت که نزدیک به ۱۴ ٪ از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و ۴/۵ ٪ از باکتری‌های *اشریشیاکلی* پس از ۲۰ min قرار گرفتن در معرض آب فعال شده با پلاسما وارد حالت زنده اما غیرقابل کشت می شوند. این موضوع نشان می‌دهد ورود باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی به حالت زنده اما غیرقابل کشت راحت‌تر و سریع‌تر است(۴۸).

در شرایط استرس، بسیاری از گونه‌های باکتری وارد حالت متابولیسم گرسنگی یا حالت فیزیولوژیکی زنده اما غیرقابل کشت می‌شوند. گزارش شده است که چندین باکتری بیماری‌زای انسانی تحت این شرایط وارد حالت زنده اما غیرقابل کشت می‌شوند. حالت زنده اما غیرقابل کشت هم در باکتری گرم مثبت و هم در باکتری گرم منفی یافت می‌شود. حالت زنده اما غیرقابل کشت یک استراتژی بقا است که توسط باکتری اتخاذ شده است.



شکل ۳: مکانیسم‌های ضدمیکروبی آب فعال شده با پلاسما(Mizanur R et al.,2022)

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

این رویکرد پیامدهای مهمی در چندین زمینه از جمله نظارت بر محیط زیست، فناوری مواد غذایی و مدیریت بیماری های عفونی دارد. مطالعات متعددی گزارش کرده‌اند که درمان‌های فیزیکی، از جمله پلاسمای سرد، می‌توانند باکتری‌ها را در حالت زنده اما غیرقابل کشت وارد کنند یا منجر به آسیب کشنده باکتری‌ها شوند (۴۹و ۵۰). شمایی کلی از مکانیسم‌های ضدمیکروبی آب فعال شده با پلاسما در شکل ۳ نشان داده شده است.

فاکتورهای موثر بر کارایی آب فعال شده با پلاسما

فاکتورهای پردازشی

آب فعال شده با پلاسما می‌تواند توسط فرایندهای مختلفی مانند، corona discharge، gliding arc discharge ، DBD، microwave discharge و plasma jet تولید شوند. در میان تمام این موارد DBD و پلاسما جت به دلیل سهولت در تهیه، دو روش متداول در پژوهش‌ها هستند. به غیر از ابزارهای تهیه پلاسما بسیاری از فاکتورهای پردازشی دیگر مانند منبع تغذیه، گازهای مورد استفاده و حالت تصفیه همیشه در بین تیمارهای مختلف متغیر بوده و انجام مقایسه مستقیم بین مطالعات مختلف را بسیار دشوار می‌کند. ولتاژ، توان و فرکانس تاثیر مهمی در ویژگی غیرفعال سازی آب فعال شده با پلاسما دارد؛ زیرا مشخص شده است که این پارامترها انرژی ورودی پلاسما را تعیین می‌کنند. به‌علاوه باید توجه داشت که دمای نگهداری آب فعال شده با پلاسما نیز بر عملکرد ضدباکتریایی آن موثر است. به‌عنوان نمونه گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد آب فعال شده با پلاسما با دمای ملایم می‌تواند راندمان غیرفعال سازی میکروارگانیسم‌ها را افزایش دهد، زیرا دمای بالا باعث آسیب رساندن به آنها می‌شود (۵۳-۵۱) . جدول ۱ به‌طور خلاصه عوامل موثر بر کارایی آب فعال شده با پلاسما را نشان می‌دهد.

ویژگی‌های میکروارگانیسم

یکی از اصلی‌ترین مزایای آب فعال شده با پلاسما به عنوان یک فناوری ضد عفونی‌کننده جدید در مقایسه با سایر فناوری‌ها این است که توانایی غیرفعال کردن طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌ها، هاگ‌ها، کپک‌ها، مخمرها و حتی ویروس را دارد. در مورد باکتری های رویشی در حالت پلانکتونی، آنها معمولاً واکنش‌های متفاوتی نسبت به آب فعال شده با پلاسما نشان می‌دهند اما باید گفت که باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت حساسیت بالاتری نسبت به آب فعال شده با پلاسما دارند. برای نمونه با مقایسه سنتیک شش باکتری گرم مثبت و منفی در طی ۶۰ min تیمار با آب فعال شده با پلاسما نتیجه می‌گیریم که باکتری‌های گرم مثبت برای کاهش ۵ log به بیشتر از ۶۰ min احتیاج دارند و پس از ۶۰ min فقط ۲/۸۷ log ثبت شد.

جدول ۱. عوامل موثر بر کارایی آب فعال شده با پلاسما

شرایط نگهداری	خصوصیات مایعات	پارامترهای تخلیه	منبع پلاسما
زمان	اجزا	ولتاژ	DBD
دما	رسانایی	توان	Plasma jet
	سختی	فرکانس	Gliding arc
	pH	زمان	Corona
		فاصله	Discharge
			microwave discharge

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

در صورتی‌که این میزان برای باکتری گرم منفی به min ۱۵ کاهش می‌یابد و در این مدت به مقدار هدف log ۵ دست یافتند. با توجه به زمان قرار گرفتن در معرض آب فعال شده با پلاسما برای کاهش log ۵، باکتری‌ها به سه دسته تقسیم شدند. برای باکتری گرم منفی و حساس کمتر از min ۳۰ مورد نیاز بود، در حالی‌که برای باکتری گرم مثبت و مقاوم *استافیلوکوکوس اورئوس* بیش از h ۵ مورد نیاز بود. این روند به این دلیل بود که باکتری‌های گرم مثبت لایه ضخیم تری از دیواره سلولی (nm ۲۰ تا ۸۰) نسبت به باکتری‌های گرم منفی (nm ۱۰ تا ۱۵) دارند که این خود باعث افزایش سختی و مقاومت غشای سلول می‌شود و در یک محیط پراسترس مانع از انتشار گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن از عرض غشا پلاسمایی می‌شود. علاوه بر ین، نویسندگان توضیح دادند هنگامی که بار میکروبی بالاتری وجود داشته باشد، میکروارگانیسم‌ها تمایل به تجمع با یکدیگر دارند. از این طریق چندین لایه را تشکیل می‌دهند که مانع فیزیکی برای نفوذ گونه‌های اکسیژن فعال به محیط داخلی آنها است. علاوه بر این میانگین گونه‌های واکنشی که می‌توانند با هر سلول میکروبی واکنش دهند در غلظت میکروبی بالاتر کاهش می‌یابد. کاملا مشهود است که باکتری‌ها در حالت بیوفیلم نسبت به حالت آزاد و پلانکتونی نسبت به آب فعال شده با پلاسما مقاوم‌تر هستند(۵۴). تشکیل بیوفیلم روی سطوح مواد غذایی در شرایط عادی یک پدیده رایج است و گزارش شده است که ۸۰-۱۰ ۵ از کل محصولات گیاهی تازه حاوی بیوفیلم هستند. مقادیر زیادی از پاتوژن‌های منتقله از غذا ممکن است بر روی سطح ماشین آلات یا خود مواد غذایی بچسبند و بیوفیلم تشکیل دهند که سلامت انسان را به طور جدی تهدید می‌کنند. ماتریکس بیوفیلم یک اثر محافظتی برای باکتری‌ها در برابر درمان، پاسخ ایمنی، اکسیداسیون، خشک شدن و ضدعفونی کننده‌ها دارد. در واقع ماتریکس، حذف باکتری‌های موجود در بیوفیلم‌ها را نسبت به باکتری‌های پلانکتونی دشوارتر می‌کند. تخمین زده می‌شود که باکتری‌های موجود در بیوفیلم‌ها در مقایسه با باکتری‌های پلانکتون، ۱۰۰۰ برابر مقاومت بیشتری نسبت به عوامل ضدمیکروبی دارند(۵۵). مکانیسم‌های مختلفی برای افزایش مقاومت باکتری‌ها در بیوفیلم‌ها بیان می‌شود. مهم ترین عامل در افزایش مقاومت بیوفیلم‌ها نسبت به آب فعال شده با پلاسما، به اجزای ماتریکس خارج سلولی نسبت داده شده است، که توسط مواد پلیمری تشکیل می‌شوند و یک سپر برای نفوذ گونه‌های واکنش پذیر ارایه می‌دهند. ماتریس بیوفیلم یک هدف مهم برای استراتژی‌های آنتی بیوفیلم است(۴ و ۵۶). یکی دیگر از دلایل احتمالی افزایش مقاومت بیوفیلم‌ها، کاهش فعالیت متابولیکی باکتری‌ها در بیوفیلم‌ها به دلیل کاهش مواد مغذی است. از آنجایی‌که عمل اکثر درمان‌های ضدباکتری به مهار برخی فرایندهای متابولیک در سلول‌ها بستگی دارد، عدم فعالیت متابولیک باعث می‌شود که باکتری‌های موجود در بیوفیلم‌ها به برخی از درمان‌های ضدباکتری پاسخ مناسبی ندهند(۵۷). موثرترین گونه‌های فعال که در فعالیت ضد بیوفیلم پلاسما نقش دارند، گونه‌های فعال اکسیژن و گونه‌های نیتروژن فعال هستند(۵۸).

در بین این مسیرها، رادیکال‌های اکسیژن منفرد و رادیکال‌های هیدروکسیل دو گونه فعال در نظر گرفته می شوند که بیشترین نقش را دارند. رادیکال‌های OH بدون در نظر گرفتن نیمه عمر کوتاه و زمان عمل، دارای نفوذپذیری و انتشار بالایی در برابر باکتری‌های موجود در بیوفیلم‌ها و ساختارهای بیوفیلم هستند(۵۹).

گونه های نیتروژن اکساید می‌تواند روی ماتریکس یک بیوفیلم جمع شود و مسئول کاهش pH به دلیل تشکیل HNO3 و HNO2 است. این اسیدی شدن بر عملکرد سلول، پایداری لایه خارج سلولی پلیمری[1]، ساختار پروتیین و فعالیت آنزیمی میکروارگانیسم‌ها در ساختار بیوفیلم تأثیر می گذارد(۶۰). پراکسیدهیدروژن یکی از گونه‌های فعال تشکیل شده در آب فعال شده با پلاسما است. در قسمت قبل بیان شد که باعث آسیب DNA به روشی وابسته به غلظت می‌شود. آسیب DNA به ویژه در محیط بیوفیلم مهم است، زیرا DNA خارج سلولی جز اصلی لایه پلیمری محافظ خارج سلولی است. بنابراین، آسیب DNA که با واسطه پراکسیدهیدروژن آب فعال شده با پلاسما رخ می

[1] Extracellular Polymeric Substances (EPS)

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

دهد، نه تنها باعث جهش در سلول‌های بیوفیلم می‌شود، بلکه بر ساختار ماتریکس بیوفیلم نیز تاثیر می‌گذارد(۶۱). مطالعه اخیر توسط هاتاوی و همکاران نشان داد که نفوذ پراکسیدهیدروژن تولید شده پلاسما به بیوفیلم‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (MRSA) و *سودوموناس ایروجینوزا* مقاوم به متی‌سیلین به‌طور قابل‌توجهی به تراکم سلولی (بلوغ بیوفیلم) بستگی دارد. بیوفیلم‌های جوان رشد کرده به مدت ۸ h و حاوی تقریباً CFU/ml ۱۰^۹، انتقال پراکسیدهیدروژن را تا نیمی کاهش دادند؛ در حالی‌که بیوفیلم‌های ۲۴ ساعته که تقریباً CFU/ml ۱۰^۱۰ داشتند، به طور کامل از انتقال پراکسیدهیدروژن جلوگیری کردند(۶۲). غیرمنتظره نیست که بیوفیلم‌های ضخیم‌تر با بیومس بیشتر، مانع بهتری برای گونه‌های فعال پلاسمایی شوند و ممکن است ترکیب با سایر روش‌های ضد بیوفیلم ضروری باشد. گذشته از این، گونه‌های واکنش‌پذیری که در آب فعال شده با پلاسما وجود دارند به سرعت با مواد آلی موجود در بیوفیلم و همچنین با سایر گونه‌های واکنش‌پذیر واکنش نشان می‌دهند. استوارت و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد که هیپوکلریت قلیایی (pH=۱۱) در مقایسه با کلروسولفامات (pH =۵/۵) با غلظت مشابه، بسیار کندتر به بیوفیلم‌های *سودوموناس ایروجینوزا* و *کلبسیلا پنومونیه*[1] نفوذ می‌کند. نویسندگان به این نتیجه رسیدند که نفوذ کمتر به دلیل واکنش‌پذیری بالاتر هیپوکلریت با مواد آلی بیوفیلم است در حالی‌که انتقال کلروسولفامات به تاخیر نیفتاده است(۶۳). در بحث بیوفیلم تعامل با سیگنالینگ بیوفیلم نیز باید در نظر گرفته شود. برخی از گونه‌های اکسیژن فعال تولید شده در آب فعال شده با پلاسما مولکول‌های سیگنالینگ مهمی هستند که بر ارتباطات سلولی و تشکیل بیوفیلم بعدی تأثیر می‌گذارند. بنابراین تعامل آنها هنگام در نظر گرفتن تأثیر آب فعال شده با پلاسما بر بیوفیلم‌ها مهم است. نشان داده شده است که این گونه‌ها عملکردهای تنظیمی در باکتری‌ها، به‌ویژه در زمان تشکیل بیوفیلم‌ها دارند(۶۱). اکسید نیتریک، یکی از گونه‌های فعال در آب فعال شده با پلاسما، همچنین یک مولکول سیگنالینگ بیولوژیکی مهم است. نشان داده شده است که اکسید نیتریک باعث ایجاد پراکندگی بیوفیلم در غلظت‌های زیر میکرومولار می‌شود. نحوه عملکرد آن برای پراکندگی بیوفیلم با تخریب دی-GMP حلقوی و افزایش فعالیت فسفودی استراز مرتبط است. جالب توجه است که اکسید نیتریک با موفقیت به عنوان یک ادجوانت با آنتی بیوتیک‌ها مورد استفاده قرار گرفته است و توانسته است بر مانع فیزیکی لایه خارج سلولی پلیمری بیوفیلم غلبه کند و فعالیت آنتی بیوتیک‌ها را تقویت کند(۶۴). گذشته از این، باکتری‌ها از طریق مولکول‌های سیگنالینگ وابسته به چگالی سلولی (حساسیت جمعیتی) با یکدیگر ارتباط برقرار می‌کنند. چنین سیستم ارتباطی پیچیده ای مزایای زیادی برای باکتری‌ها دارد که می‌توان به تنظیم فنوتیپ‌های بیوفیلم و سیستم‌های بیماری‌زا اشاره کرد. تداخل با سیستم سنجش حد نصاب فرصتی برای کنترل بیوفیلم‌ها است. چنین تداخلی منجر به حذف فیزیکی بیوفیلم‌ها نمی‌شود، بلکه بیان ژن خاصی را مختل می‌کند و بیوفیلم را نسبت به روش‌های حذف بعدی مستعدتر می‌کند(۶۱). چندین مطالعه نشان داده‌اند که درمان بیوفیلم با آب فعال شده با پلاسما می‌تواند ژن‌های حدت، از جمله ژن‌های حسگر حد نصاب را تنظیم کند. به‌عنوان مثال، لی و همکارانش (۲۰۱۹) نشان دادند که ژن‌های حدت مرتبط با حسگر حد نصاب، *cylR1*، *cylA*، *gelE* و *sprE* در پاتوژن انسانی *انتروکوکوس فیکالیس*[2] تنزل داده شدند. بنابراین، درمان آب فعال شده با پلاسما ممکن است فرصتی برای ایجاد اختلال در حسگر حد نصاب در بیوفیلم‌ها و در نتیجه تسهیل اختلال و حذف بیوفیلم باشد(۶۵).

محیط آبی زمینه‌ای

محیط آبی نیز عامل مهمی است که بر عملکرد غیرفعال کنندگی پلاسما تاثیر می‌گذارد. بر اساس خواص فیزیولوژیکی مایعات را می‌توان به‌طور عمده به محلول‌های غیرآلی و آلی طبقه بندی کرد. بیشترین حلال‌های غیرآلی استفاده شده شامل آب، نمک (NaCl ٪ ۰/۸۵) و نمک بافر

[1] *Klebsiella pneumoniae*

[2] *Enterococcus faecalis*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

فسفات می‌باشند. البته مقدار نمک یا نوع نمک استفاده شده تفاوت زیادی در عملکرد گندزدایی پلاسما ایجاد نمی کند(۲۱).

در مطالعه‌ای نمونه‌های آب آشامیدنی از پنج کشور مختلف از جمله بریتانیا، فرانسه، نروژ، اسلوونی و فلسطین برای تاثیر منشا آب بر پتانسیل ضد میکروبی آب فعال شده با پلاسما مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌های آب از انگلستان و فلسطین برای فعال سازی انتخاب شدند زیرا بیشترین اختلاف را در ترکیب اولیه نشان دادند. آب فعال شده با پلاسما ایجاد شده از آب انگلستان یک عامل ضد میکروبی بسیار موثر است. در حالی که آب فعال شده با پلاسما ایجاد شده از آب فلسطین فعالیت ضد میکروبی بسیار کمی نشان داد. این نتایج نشان می دهد که اثر ضد میکروبی آب فعال شده با پلاسما نسبت به ترکیب اولیه منبع آب مورد استفاده بسیار حساس است، با منابع آب آشامیدنی از مکان‌های جغرافیایی مختلف سطوح بسیار متفاوتی از فعالیت ضد میکروبی را نشان می‌دهند(۶۶).

کاربردهای بالقوه آب فعال شده با پلاسما در صنایع غذایی

هر ساله، آلودگی باکتریایی باعث ۳۴ ٪ از مشکلات ایمنی غذا در سراسر جهان می‌شود(۶۷). در بخش زیر کاربردهای بالقوه آب فعال شده با پلاسما در صنایع غذایی بحث می‌شود که می‌توان آنها را به طور عمده در سه زمینه طبقه‌بندی کرد: ضدعفونی سطحی مواد غذایی، جوانه زنی بذر و رشد گیاه و پخت و فراوری گوشت.

ضدعفونی سطوح مواد غذایی

از آب فعال شده با پلاسما می‌توان به عنوان یک ضدعفونی کننده مانند مواد شوینده برای محصولات غذایی از جمله میوه‌ها و سبزیجات، گوشت و غذاهای دریایی استفاده کرد. در نتیجه ماندگاری مواد غذایی افزایش یافته و تولید ضایعات مواد غذایی کاهش می‌یابد. با توجه به تنوع در مواد غذایی و گونه‌های میکروبی کارایی ضدعفونی کنندگی این روش در بین مطالعات مختلف متفاوت می باشد. اولین گزارش استفاده از آب فعال شده با پلاسما برای ضدعفونی توت فرنگی بود به‌طوری‌که در روزهای ۰ و روز ۴ ذخیره سازی در دمای اتاق، کاهش ورود باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* به درون آن گزارش شد. مقدار غیرفعال شدن باکتری به مقدار زمان در معرض قرار گرفتن توت فرنگی نسبت به آب فعال شده با پلاسما بستگی دارد(۶۸). این رویکرد همچنین بر روی میوه‌های تازه دیگر نظیر گلابی، سیب و کیوی نیز امتحان شد. مثلا در یک مطالعه مشخص شد که سیب‌های تازه خرد شده که در دمای ۴ °c و تحت تیمار با آب فعال شده با پلاسما قرار گرفته شدند، کاهش رشد انواع پاتوژن‌های غذایی مانند باکتری‌های هوازی، بیوفیلم‌ها کپک‌ها و مخمرها را نشان می‌دهد که این خود نشان دهنده افزایش ماندگاری این محصول در این شرایط می‌باشد(۶۹ و ۷۰ و ۷۱). یا در مطالعه‌ای دیگر بیان شده است در دمای ۶۰ °c تیمار با آب فعال شده با پلاسما می‌تواند ایمنی میکروبی کلم را افزایش دهد. آب فعال شده با پلاسما می‌تواند تولید بیوفیلم‌ها را قبل از تشکیل شدن مختل کند(۷۱).

اسپور باکتری به دلیل افزایش مقاومت در برابر فشارهای شدید محیطی در مقایسه با سلول‌های رویشی، تهدیدی برای ایمنی مواد غذایی است. طبق نتایج یک مطالعه، تیمار با آب فعال شده با پلاسما (در دمای ۵۵ °c در زمان ۵ min تا ۶۰) به‌طور چشمگیری باعث کاهش اسپورهای باکتری *باسیلوس سرئوس*[1] شد(۷۱). جدا از ضدعفونی کنندگی آب فعال شده با پلاسما، نگرانی اصلی دیگر آب استفاده شده است؛ زیرا می‌تواند وسیله‌ای برای آلودگی متقابل از طریق انتقال میکروارگانیسم‌ها به سایر نمونه‌های غذایی باشد. بنابراین، از منظر اقتصادی، بازیافت آب شستشو از اهمیت زیادی برخوردار است. برای مثال در یک مطالعه دو گونه باکتری *لیستریا اینوکوآ*[2] و *سودوموناس فلورسانس*[3] را بر روی برگ‌های کاهو تلقیح کردند و در زمان‌های مختلف آنها را تحت تیمار قرار دادند. نتایج نشان داد که در عرض ۳ min میزان گونه *سودوموناس* به کمتر از

[1] *Bacillus cereus*
[2] *Listeria innocua*
[3] *Pseudomonas fluorescens*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

حد تشخیص رسید و در ۵ min بعد از تیمار گونه *لیستریا* به میزان ۲/۴ log کاهش یافت. همچنین، مقدار بقای باکتری‌ها در آب با گذشت زمان کمتر شده تا اینکه بعد از ۱۰ min به کمتر از میزان تشخیص رسید(۷۲). البته مطالعات استفاده از آب فعال شده با پلاسما برای نگهداری گوشت و مواد غذایی دریایی نسبت به میوه‌ها و سبزیجات کمتر انجام شده است. مثلا در یک مطالعه مشخص شد که استفاده از آب فعال شده با پلاسما در شرایط یخی برای نگهداری و تازه نگه داشتن میگوها نسبت به ذخیره آنها در شرایط یخ بدون آب فعال شده با پلاسما بهتر است. این مطالعه نشان داد که یخ همراه آب فعال شده با پلاسما به‌طور موثری رشد میکروارگانیسم‌ها را مهار و روند کاهش کیفیت میگوها را کند می‌کند؛ که این موضوع نشان دهنده یک روش امیدوار کننده برای افزایش ماندگاری میگوها و سایر محصولات دریایی است(۷۳). در مطالعه‌ای دیگر تاثیر آب فعال شده با پلاسما بر باکتری *استافیلوکوکوس* موجود در عضله و پوست مرغ بررسی شد که نتایج کاهش ورود و حضور آن ها راگزارش داد. همچنین، گزارش شد که وجود ساختار متخلخل در عضله مرغ نفوذ آب فعال شده با پلاسما به قسمت‌های درونی بافت را نیز تسهیل کرده است. در ادامه این کار بر روی گوشت تازه و پخته گاو نیز انجام شد(۶ و ۷۴). جدا از ایمنی میکروبی، تاثیرات تیمار با آب فعال شده با پلاسما بر کیفیت غذا نیز باید ذکر شود. به‌عنوان مثال، افزایش سوپراکسید دیسموتاز و ویتامین C پس از غوطه وری قارچ در آب فعال شده با پلاسما و همچنین برای گلابی‌های خرد شده تازه بعد از اسپری آب فعال شده با پلاسما گزارش شده است. سوپراکسید دیسموتاز یک آنزیم اصلی آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به محیط استرس و دفاع در برابر آسیب ناشی از رادیکال‌های سوپراکسید است. ویتامین C یک مولکول کوچک برای دفاع در برابر گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد(۷۵).

آستاگزانتین[1] به‌طور گسترده در صنایع غذایی، آبزی پروری و آرایشی استفاده می‌شود. به دلیل تنش اکسیداتیو ناشی از آب فعال شده با پلاسما، سویه‌های کشت‌شده در محیط‌های ۱۵ min و ۳۰ تحت تیمار آب فعال شده با پلاسما به ترتیب ۱/۲± ۷/۹ ٪ و ۱/۴ ± ۱۲/۶ ٪ کاروتنوئید بیشتر با ۳/۳ ± ۱۵/۵ ٪ و ۱/۳ ± ۲۲/۱ ٪ آستاگزانتین تولید کردند. تجزیه و تحلیل پروتئومیک افزایش بیان پروتئین‌های دخیل در پاسخ سلولی به استرس اکسیداتیو و همچنین بیوسنتز کاروتنوئید را نشان داد که هر دو به بازده بالاتر آستاگزانتین کمک می‌کنند(۷۶). افزایش تولید استاگزانتین توسط مخمر *فافیا رودوزیم*[2] از سوی دیگر افزایش اکسیداسیون چربی‌ها در میگوها، گوشت‌های منجمد و تازه گاو به دلیل وجود استرس اکسیداتیو در آب فعال شده با پلاسما نیز گزارش شده است. با این‌حال همه تیمارهای آب فعال شده با پلاسما منجر به تغییرات کیفی قابل‌توجهی در مواد غذایی نشده است. مثلا هیچ تفاوت معنی‌داری در محتوای چربی و پروتئین برای گوشت مرغ قبل و بعد از تیمار با آب فعال شده با پلاسما مشاهده نشده است. همچنین، گزارش شد که بخش عمده آسیب ناشی از گونه های فعال اکسیژن به دلیل تعامل آب فعال شده با پلاسما، با دیواره سلول باکتری‌ها بوده است و این تاثیر به میزان کمتری بر بافت‌های مرغ بوده است(۶).

کاربرد آب فعال شده با پلاسما برای پخت، فراوری و ضدعفونی گوشت

تولید NO_2^- در آب فعال شده با پلاسما این امکان را فراهم می‌کند تا به‌عنوان منبع نیتریت برای فراوری گوشت استفاده شود. این ماده همچنین باعث ثابت ماندن رنگ و طعم گوشت می‌شود. برای نمونه، طی مطالعه‌ای گوشت گاو، به مدت ۳۰ min در آب فعال شده با پلاسمای حاوی ۴۶ ppm از NO_2^- تحت تیمار قرار داده شد و سپس همراه گوشت کنترل به طور جداگانه وکیوم شد. سپس در دمای ۸۰ °c به مدت ۳۰ min در آب پخته شد. در پایان با معیارهای بررسی رنگ و کیفیت غذا مشخص شد که گوشت تیمار شده از نظر قرمز بودن بافت بهتر از گوشت کنترل می‌باشد. همچنین، مشخص شده است که تیمار با آب فعال شده با

[1] Astaxanthin

[2] Phaffia rhodozyma

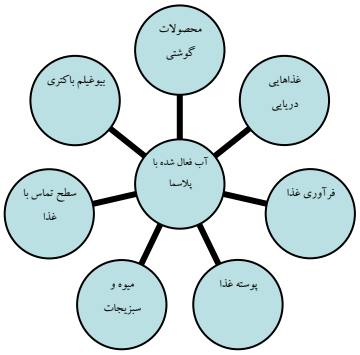
[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

پلاسما باعث پایین ماندن غلظت NO_2^- و تعداد باکتری‌ها و سایر پاتوژن‌های موجود در گوشت می‌شود. این مطالعات نشان داد که آب فعال شده با پلاسما می‌تواند به‌عنوان یک گزینه نوآورانه یا جایگزین مواد شیمیایی سنتی برای پخت گوشت در نظر گرفته شود و همزمان می‌تواند منجر به بهبود ایمنی میکروبی شود (۷۷). بنابراین، می‌توان گفت آب فعال شده با پلاسما می‌تواند ویژگی‌های کیفی محصولات گوشتی، از جمله ارزش غذایی، pH بافت، رنگ و سایر خواص آن‌ها را به طور موثری بهبود دهد(۷۱).

ضدعفونی پوسته تخم مرغ

سالمونلا یکی از باکتری‌های میله‌ای شکل گرم منفی است. این میکروارگانیسم مرتبط با مدفوع است. بنابراین استفاده از فاضلاب یا آب آلوده برای کشاورزی، می‌تواند منجر به آلودگی مواد غذایی شود. اسهال، تهوع، درد شکم، استفراغ، تب و غیره علایم ناشی از میکروارگانیسم *سالمونلا* هستند(۷۸ و ۷۹).

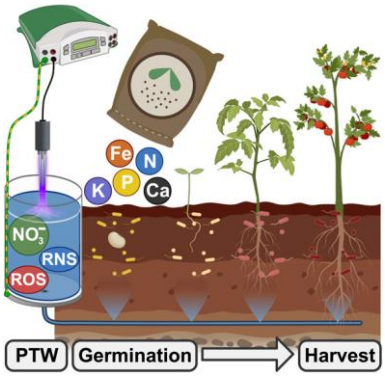
سالمونلا میکروارگانیسم بیماری‌زا مرتبط با پوسته تخم‌مرغ است که باعث نگرانی‌های پیچیده بهداشت عمومی و مشکلات اقتصادی در سراسر جهان می‌شود. در یک مطالعه که توسط لین انجام شد مشخص شد که تیمار تخم مرغ با آب فعال شده با پلاسما تهیه شده با آب اسمزی در W ۶۰ به مدت S ۳۰ تا ۱۲۰ نسبت به روش آب استریل باعث کاهش چشمگیر در غلظت باکتری *سالمونلا انتریتیدیس*[1] شد(۸۰). در جدول ۲ خلاصه‌ای از تاثیر آب فعال شده با پلاسما بر میکروارگانیسم‌ها و کیفیت و ماندگاری مواد غذایی آورده شده است. شکل ۳ نمایی شماتیک از کاربردهای آب فعال شده با پلاسما در صنایع مختلف غذایی را نشان می‌دهد.



شکل ۵. نمایش شماتیک کاربردهای آب فعال شده با پلاسما در صنایع مختلف غذایی

کاربرد آب فعال شده با پلاسما برای جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه

گونه‌های واکنش پذیر تولید شده در آب فعال شده با پلاسما می‌توانند به‌عنوان اهدا کننده خارجی (NO_2^-، NO_3^- ، H_2O_2) عمل کنند، که می‌تواند جوانه‌زنی بذر و رشد گیاه را تقویت کند (شکل ۴) (۸۹). به‌طور خاص، درمان با آب فعال شده با پلاسما یک روش امیدوارکننده برای افزایش بقای پیوند و پایه و همچنین تقویت تغذیه معدنی قابل استفاده در محصولات میوه درختی است. اعتقاد بر این است که افزایش بقا توسط آب فعال شده با پلاسما ناشی از تحریک عمومی فرایندهای فیزیولوژیکی در بافت گیاه است. آب فعال شده با پلاسما بر تشکیل میوه، عملکرد، نیتروژن برگ (N) و پتاسیم (K)، فسفر میوه (P)، کلسیم (Ca) اسید اسکوربیک (AA) و اسیدیته قابل تیتراسیون (TA) موثر واقع شد(۹۰).



شکل ٤. جوانه‌زنی و رشد گیاه

[1] *Salmonella Enteritidis*

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

جدول ۲. تاثیر آب فعال شده با پلاسما بر میکروارگانیسم‌ها و کیفیت و ماندگاری مواد غذایی

میوه و سبزیجات	میکروارگانیسم	شرایط آماده سازی	شرایط درمان	کاهش جمعیت	ویژگی کیفیت	منبع
محصولات کشاورزی						
انگور	*ساکارومایسس سرویزیه*	پلاسما جت	خیساندن در آب پلاسمایی به مدت min ۳۰	۰/۳۸ log	تغییر قابل‌توجهی در رنگ و محتوای آنتوسیانین کل مشاهده نشد	۸۱
تکه‌های گلابی	کل باکتری‌های هوازی، مخمرها و کپک ها	میکروپلاسما	نمونه‌ها به مدت min ۵ در آب پلاسمایی غوطه‌ور شدند، سپس در دمای ۴ °c به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند.	روز دوازدهم: log ۰/۱۱-۰/۶۵برای کل باکتری‌های هوازی، log ۰/۸۴-۱/۰۴برای مخمرها و log ۰/۳۱-۰/۷۷برای کپک‌ها.	کیفیت و خواص آنتی‌اکسیدانی به خوبی حفظ شد	۸۲
تکه‌های کیوی	*استافیلوکوکوس اورئوس*	میکروپلاسما جت	نمونه‌ها به مدت ۸ روز با ۱ mL آب پلاسمایی اسپری شدند و سپس در دمای ۴ °c نگهداری شدند	1/8log CFU/g	سفتی برش‌های کیوی به خوبی حفظ شد و بهبود فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، پراکسید و کاتالاز مشاهده شد	۸۳
سیب زمینی خرد شده	*پکتوباکتریوم کاراتووروم*	میکروپلاسما جت	نمونه‌ها با mL PAL ۱۰۰و mL ۱۰۰ محیط کشت باکتری آغشته شدند	اثر ضد باکتریایی قوی	هیچ تاثیری بر رنگ، عطر، سختی، ضخامت و بافت سیب‌زمینی برش خورده ندارد.	۸۴
تکه‌های سیب	کل باکتری‌های هوازی، کپک‌ها، مخمرها و کلیفرم ها	میکروپلاسما	نمونه‌ها به مدت min ۵ در آب پلاسمایی غوطه‌ور شدند و سپس در دمای ۴ °c به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند.	log ۱/۰۵برای باکتری های هوازی، log ۰/۶۴برای کپک‌ها، log ۱/۰۴برای مخمرها و log ۰/۸۶برای کلیفرم‌ها	هیچ تاثیری بر سفتی، محتویات آنتی‌اکسیدانی ندارد و از قهوه‌ای شدن جلوگیری شد.	۷۰
محصولات گوشتی						
سینه مرغ	P. deceptionensis CM2	پلاسما جت	نمونه‌ها به مدت min ۳، ۶، ۹ و ۱۲ در آب پلاسمایی خیسانده	1/05log CFU/g	PH پایین، کاهش انسجام، حفظ	۸۵

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

			شدند.		سختی	
گوشت گاو تازه	*سالمونلا انتریتیدیس*	پلاسما جت	نمونه‌ها به مدت ۶ h در دمای ۴ °c برای ۲۴ روز درآب فعال شده با پلاسما قرار گرفت	1/05log CFU/g	هیچگونه تغییر قابل توجهی در رنگ، ، اکسیداسیون لیپید، بو و پروتئین وجود ندارد.	۸۶ و ۸۷
ماهیچه مرغ، پوست	*اشریشیاکلی K12* و *استافیلوکوکوس اورئوس*	پلاسما جت	نمونه‌ها در آب پلاسمایی در دمای °c ۴، ۲۵ و ۴۰ به مدت min ۳۰، ۴۵، ۶۰ قرار گرفت	log ۰/۳۵ تا log ۰/۵۶برای *اشریشیاکلی* و log ۰/۰۸- ۰/۴۳برای *استافیلوکوکوس اورئوس*	رنگ، سختی، پروتئین و محتوای چربی به خوبی حفظ شد	۷۴
تخم مرغ	*سالمونلا انتریتیدیس*	پلاسما جت	نمونه‌ها به مدت S ۳۰- ۶۰- ۹۰- ۱۲۰ در آب فعال شده با پلاسما قرار گرفت	> ۴log CFU/g	شاخص تازگی بهتر از فرایند تجاری بود و سطح نسبتاً دست نخورده باقی ماند	۸۸

جدول ۳. مطالعات آزمایشگاهی اثر غیرفعال سازی PAW و PAL از سال ۲۰۱۸ تا ۲۰۲۰

میکروارگانیسم	نوع سلول	مایع فعال شده	رویکرد فعال سازی مایع	دستگاه پلاسما	زمان فعال سازی پلاسما	زمان مواجه میکروارگانیسم با پلاسما	کاهش جمعیت میکروارگانیسم	منبع
انتروباکتر آئروژنز	پلانکتونی	آب مقطر و بافر اسید سیتریک	تخلیه روی سطح آب	جت ، هوا	۵min	۱۰min	log CFU/Ml(PAW); ۱/۹۲ ۵/۱۱log CFU/Ml(Plasma activated buffer)	۹۱
لیستریا مونوسیتوژنز و *سالمونلا تیفی موریوم*	پلانکتونی بیوفیلم	آب غیر معدنی	تخلیه روی سطح آب	تخلیه سد دی الکتریک، با و بدون ۱٪ اکسیژن	۳۰min	۳۰min	۵/۷Log CFU/Ml(planktonic); ۵/۸ تا log ۳/۲CFU/Ml(biofilm) تا ۳/۹	۹۲
P. deceptionensis CM2	پلانکتونی	آب مقطر	تخلیه روی سطح آب	جت ، هوا	۹۰S	۳۰min	۵log CFU/mL	۹۳
اشریشیاکلی O157:H7 و *استفافیلوکوکوس اورئوس*	پلانکتونی	آب مقطر	تخلیه روی سطح آب	جت ، هوا	۶۰S	۶min	log CFU/Ml(*E.coli*); ۳/۷ log CFU/Ml(*S. aureus*) ۳/۲	۹۴

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

اشریشیاکلی، لیستریا اینوکوآ، استافیلوکوکوساورئوس، آئروموناس هیدروفیلا، سودوموناس فلورسنس، شیوانلا پوتری فاسینس	پلانگتونی	آب دی یونیزه	تخلیه روی سطح آب	جت ، هوا	5min	۲۴ h در دمای ۴ °c	۶/۱۵ log CFU/mL<	۵۴
سودوموناس فلورسنس	بیوفیلم	آب دی یونیزه	تخلیه روی سطح آب	جت ، هوا	۳۰۰min	5min	۶ log CFU/mL	۹۵
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، اشریشیاکلی	بیوفیلم	آب	تخلیه روی سطح آب	جت ، هوا	۳۰min	۱h	رعایت نشده است	۹۶
استافیلوکوکوس اورئوس	بیوفیلم	آب دی یونیزه	تخلیه روی سطح آب	جت ، هوا	۶۰min	۳۰min	۴/۷۴ log CFU/mL	۹۷
استافیلوکوکوس اوئوس، لوکونوستوک مزنتروییدس، هافنیا *آلوئی، ساکاروما یسس سرویزیه*	چسبنده روی فولاد ضد زنگ و پلی اتیلن	آب مقطر	تخلیه روی سطح آب	قوس سر خوردن هوای مرطوب	5min	۳۰min	۷ log CFU/unit~	۹۸
اشریشیاکلی O157:H7 و لیستریا مونوسیتوژنز	پلانگتونی	نمک(۰/۹٪) در آب مقطر	قطرات فعال شده با پلاسما	الکترودها ی استوانه ای بدون گاز	۱۰،	۱ min	۳-۴ log CFU/mL	۹۹

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و مدیریت پژوهشی دانشگاه اعلام می دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده‌اند.

منابع

1- Gavahian. M aKAM. Cold plasma as a tool for the elimination of food contaminants: Recent advances and future trends. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020;60:1581-92.

2- Zhu CL, H. Cui, L. Lin. Feasibility of cold plasma for the control of biofilms in food industry. Trends in Food Science and Technology. 2020;5:142-51.

3- Liao X et al. Application of a dielectric barrier discharge atmospheric cold plasma (Dbd-Acp) for Eshcerichia Coli inactivation in apple juice. Journal of Food Science. 2018;83 (2):401-8.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

4- Xiang QS, C. D. Kang, D. B. Zhao, L. Y. Niu, X. Liu, and Y. H. Bai. Influence of organic matters on the inactivation efficacy of plasma-activated water against E. coli O157:H7 and S. aureus. Food Control 2019;99:28-33.
5- Ukuku D. O MS, Juneja V, and Rajkowski K. Handbook of Natural Antimicrobials for Food Safety and Quality Evaluating Natural Antimicrobials for Use in Food Products. Elsevier Ltd. 2015;8:223-31.
6- Wang JH, R.; Liao, X.; Ding, T. Application of plasma-activated water (PAW) for mitigating methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) on cooked chicken surface. LWT – Food Science and Technology. 2021;137:110465.
7- Bradford KJ DP, Van Asbrouck J, Kunusoth K, Bello P, Thompson J, et al. The dry chain: Reducing postharvest losses and improving food safety in humid climates. Trends in Food Science & Technology. 2018;71:84-93.
8- Bălan GG RI, Ursu E-L, Doroftei F, Bostănaru A-C, Hnatiuc E, et al. Plasma-activated water: a new and effective alternative for duodenoscope reprocessing. Infection and drug resistance. 2018;11:727.
9- Filipi A AI, Primc G, Mozetic M, Dobniik D. Cold Plasma, a New Hope in the Field of Virus Inactivation. trends in biotechnology. 2020;38(11):1278-91.
10- Moisan et al. Sterilization/disinfection of medical devices using plasma: The flowing afterglow of the reduced-pressure N2-O2 discharge as the inactivating medium. EPJ Applied Physics. 2013;63(1):46-52.
11- Chen Z. G. Garcia VA, R.E. Wirz et al. Cold plasma for SARS-CoV-2 inactivation. Physics of Fluids. 2020;32:111702.
12- Mir S A et al. Promising applications of cold plasma for microbial safety, chemical decontamination and quality enhancement in fruits. Journal of Applied Microbiology. 2020;129 (3):474-85.
13- Park et al. Sterilization of microorganisms in silk fabrics by microwave-induced argon plasma treatment at atmospheric pressure. Surface and Coatings Technology. 2008;202 (22–23):5773-8.
14- Rossow M LM, Braun P.G. Effect of cold atmospheric pressure plasma treatment on inactivation of *campylobacter Jejuni* on chicken skin and breast fillet. LWT – Food Science and Technology. 2018;91:265-70.
15- Hoffmann C BJZea. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology. Medical Gas Research. 2013;3 (1):1-15.
16- Zhang Q LY, Feng H, Ma R, Tian Y, Zhang J, et al. A study of oxidative stress induced by non-thermal plasma-activated water for bacterial damage. Applied physics letters. 2013;102(20):203701.
17- Gorbanev Y BA. Chemical Detection of Short-Lived Species Induced in Aqueous Media by Atmospheric Pressure Plasma. Atmospheric Pressure Plasma—from Diagnostics to Applications. 2019;58:79-84.
18- Kim J E OY ,Won M, Lee K,Min S. Microbial decontamination of onion powder using microwave-powered cold plasma treatments Food Microbiology. 2017;62:112-23.
19- Shen J TY, Li Y, Ma R, Zhang Q, Zhang J, et al. Bactericidal effects against S. aureus and physicochemical properties of plasma activated water stored at different temperatures. Scientific reports. 2016;6(1):1-10.
20- Shanker M KAC, Pandiselvam R, Joshi T, Rustagi S, Bharti S, Kumar M, Kothakota A. Implications of cold plasma and plasma activated water on food texture- a review. Food Control. 2023;10:93-7.
21- Zhao YM PA, Sun DW, Tiwari B. Plasma-activated water: Physicochemical properties, microbial inactivation mechanisms, factors influencing antimicrobial effectiveness, and applications in the food industry. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2020b;19(6):3951-79.
22- Bruggeman PJ KM, Locke BR, Gardeniers JGE, Graham WG, Graves DB, et al. Plasma–liquid interactions: a review and roadmap. Plasma Sources Science and Technology. 2016;25(5):053002.
23- Foster J.E SM, J. Groele, I.M. Blankson et al. Towards high throughput plasma based water purifiers: design considerations and the pathway towards practical application. Journal of Physics D: Applied Physics of Fluids. 2018;51 (29):293001.
24- Ayala A MM, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. Oxidative medicine and cellular longevity. 2014;2014:360-438.
25- Julák J HA, Scholtz V, Khun J, Holada K. Contribution to the chemistry of plasma-activated water. Plasma Physics Reports. 2018;44(1):125-36.
26- Shainsky N, Dohrynin, D., Ercan, U ,.Joshi, S., Fridman, G., et al. Effect of Liquid modified by non-equilibrium atmospheric pressure plasmas on bacteria inactivation rates. Plasma science. 2010;5:1-5.
27- Anderson CE CN, Lindsay AD, Clark DS, Graves DB. The role of interfacial reactions in determining plasma–liquid chemistry. Plasma Chemistry and Plasma Processing. 2016;36(6):1393-415.
28- Takamatsu T KA, Uehara K, Oshita T, Miyahara H, Dobrynin D, et al. Bacterial inactivation in liquids using multi-gas plasmas. Plasma medicine. 2012;2(4):57-61.
29- Vlad I MC, Toth A, Papp J, Anghel S. Bacterial inhibition effect of plasma activated water. Romanian Reports in Physics. 2019;71:602.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

Oxidative Injury of *Salmonella typhimurium*. Molecules. 2022;27:640.
42- Zhen X SH, Lin R, Choi H, Lee D. Non-thermal Plasma-activated Medium Induces Apoptosis of Aspc1 Cells Through the ROS-dependent Autophagy Pathway. In vivo. 2020;34:143-53.
43- Han L PS, Boehm D, Milosavljević V, Cullen P, Bourke P. Mechanisms of inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma differ for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Applied and environmental microbiology. 2016;82(2):450-8.
44- Cabiscol E, Tamarit, J. & Ros, J. Oxidative stress in bacteria and protein damage by reactive oxygen species. INTERNATL MICROBIOL. 2000;3:3-8.
45- Mai-Prochnow A, Bradbury, M., Ostrikov, K. & Murphy, A. B. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm response and resistance to cold atmospheric pressure plasma is linked to the redox-active molecule phenazine. PLoS ONE 2015;10:130373.
46- Lukes P CM, Babicky V, Sunka P. Ultraviolet radiation from the pulsed corona discharge in water. Plasma sources science and technology. 2008;17(2):024012.
47- Sonnenschein EC GA, Seebah S, Torres-Monroy I, Grossart H-P, Ullrich MS. Development of a genetic system for Marinobacter adhaerens HP15 involved in marine aggregate formation by interacting with diatom cells. Journal of microbiological methods. 2011;87(2):176-83.
48- Xu Z CC, Shen J, Lan Y, Hu S, Han W, et al. In vitro antimicrobial effects and mechanisms of direct current air-liquid discharge plasma on planktonic *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in liquids. Bioelectrochemistry. 2018;121:125-34.
49- Schottrof F RA, Zunabovic-Pichler M, Krottenthaler A, Schlüter O, Jäger H Sublethal Injury and Viable but Non-culturable (VBNC) State in Microorganisms During Preservation of Food and Biological Materials by Non-thermal Processes. Front Microbiol. 2018;9:27-73.
50- Ramamurthy T GA, Pazhani G.P, Shinoda S. Current perspectives on viable but non-culturable (VBNC) pathogenic bacteria. Front Public Health 2014;2:103.
51- Bai Y MAI, Hu Y, Koseki S, Liao X, Chen S. Inactivation kinetics of Bacillus cereus spores by plasma activated water (PAW). Food Research International. 2020;131:190041.
52- Choi E J PHW, Kim S B, Ryu S, Lim J, Hong E J, Chun H H. Sequential application of plasma-activated water and mild heating improves microbiological quality of readyto-use shredded salted kimchi cabbage (Brassica pekinensis L.). Food Control. 2019;98:501-9.
53- Liao X BY, Muhammad A I, Liu D, Hu Y, & Ding T. The application of plasma-activated water
30- Zhang Q MR, Tian Y, Su B, Wang K, Yu S, et al. Sterilization efficiency of a novel electrochemical disinfectant against *Staphylococcus aureus*. Environmental Science & Technology. 2016.۹۲-۳۱۸۴:(۶)۵۰;
31- Yusupov M BA, Huygh S, Snoeckx R, Van Duin AC, Neyts EC. Plasma-induced destruction of bacterial cell wall components: a reactive molecular dynamics simulation. The Journal of Physical Chemistry. 2013;117(11):5993-8.
32- Joshi SG CM, Yost A, Paff M, Ercan UK, Fridman G, et al. Nonthermal dielectric-barrier discharge plasma-induced inactivation involves oxidative DNA damage and membrane lipid peroxidation in *Escherichia coli*. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2011;55(3):1053-62.
33- Dolezalova E LP. Membrane damage and active but nonculturable state in liquid cultures of *Escherichia coli* treated with an atmospheric pressure plasma jet. Bioelectrochemistry. 2015;103:7-14.
34- Del Rio D SA, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases. 2005;15(4):3.۲۸-۱۶.
35- Weber D DM, Grune T. Determination of protein carbonyls in plasma, cell extracts, tissue homogenates, isolated proteins: focus on sample preparation and derivatization conditions. Redox biology. 2015;5:367-80.
36- Traylor MJ PM, Karim S, Hait P, Sakiyama Y, Clark DS, et al. Long-term antibacterial efficacy of air plasma-activated water. Journal of Physics D: Applied Physics. 2011;44(47):472001.
37- Wu S ZQ, Ma R, Yu S, Wang K, Zhang J, et al. Reactive radical-driven bacterial inactivation by hydrogen-peroxide-enhanced plasma-activated-water. The European Physical Journal Special Topics. 2017;226(13):2887-99.
38- Adachi T TH, Nonomura S, Hara H, Kondo S-i, Hori M. Plasma-activated medium induces A549 cell injury via a spiral apoptotic cascade involving the mitochondrial–nuclear network. Free Radical Biology and Medicine. 2015;79:28-44.
39- Tian Y MR, Zhang Q, Feng H, Liang Y, Zhang J, et al. Assessment of the physicochemical properties and biological effects of water activated by non-thermal plasma above and beneath the water surface. Plasma processes and polymers. 2015;12(5):439-42.
40- Boehm D CJ, Cullen PJ, Bourke P. Hydrogen peroxide and beyond-the potential of high-voltage plasma-activated liquids against cancerous cells. Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents). 2018;18(6):815-23.
41- Xiaoye L V CJ. Evaluation of the Effects of Cold Plasma on Cell Membrane Lipids and

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

Plasma Chemistry and Plasma Processing. 2019;39(1):35-49.
66- Simon S SB, Hasan M I, Sivertsvik M, James L. Influence of Potable Water Origin on the Physicochemical and Antimicrobial Properties of Plasma Activated Water. Synthesis collection of technology. 2021;42:377-93.
67- Fridrn T.R F. A Framework for Public Health Action: The Health Impact Pyramid. American Journal of Public Health. 2010;100 (4):590-5.
68- Misra N TB, Raghavarao K, Cullen P. Nonthermal plasma inactivation of food-borne pathogens. Food Engineering Reviews. 2011;3(4):159-70.
69- Gupta TT AH. Application of non-thermal plasma on biofilm: a review. Applied Sciences. 2019;9(17):35-48.
70- Liu CC, C.; Jiang, A.; Sun, X.; Guan, Q.; Hu, W. Effects of plasma-activated water on microbial growth and storage quality of fresh-cut apple. Food Sci Technology. 2020;59:102256.
71- Xiang Q FL, Li Y, Dong S, Li K, Bai Y. A review on recent advances in plasma-activated water for food safety: current applications and future trends. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020;9:1-20.
72- Patange A LP, Boehm D, Cullen P, Bourke P. Efficacy of cold plasma functionalised water for improving microbiological safety of fresh produce and wash water recycling. Food microbiology. 2019;84:103226.
73- Choi EJ PH, Kim SB, Ryu S, Lim J, Hong EJ, et al. Sequential application of plasma-activated water and mild heating improves microbiological quality of ready-to-use shredded salted kimchi cabbage (Brassica pekinensis L.). Food Control. 2019;98:501-9.
74- Royintarat TC, E.H.; Boonyawan, D.; Seesuriyachan, P.; Wattanutchariya, W. Chemical-free and synergistic interaction of ultrasound combined with plasma-activated water (PAW) to enhance microbial inactivation in chicken meat and skin. Sci Rep. 2020;10:1559.
75- Mizanur Rahman MSH, Raihanul Islam, Rahmatuzzaman Rana, ASM Sayem, Md et al. Review Plasma-Activated Water for Food Safety and Quality: A Review of Recent Developments. Int J Environ Res Public Health. 2022;19(11):6630.
76- Li Wenshao FC, Anangi R, Zhou R, Jessen M , Zhang T, Speight R. Oxidative stress induced by plasma-activated water stimulates astaxanthin production in Phaffia rhodozyma. Bioresource Technology. 2023;369:128-37.
77- Jung S KH, Park S, Yong HI, Choe JH, Jeon H-J, et al. Color developing capacity of plasma-treated water as a source of nitrite for meat curing. Korean journal for food science of animal resources. 2015;35(5):703-17.
combined with mild heat for the decontamination of Bacillus cereus spores in rice (Oryza sativa L. ssp. japonica). Journal of Physics D: Applied Physics. 2019;53(6):064003.
54- Zhao YM, S. Ojha, C. M. Burgess, D. W .Sun, and B. K. Tiwari. Inactivation efficacy and mechanisms of plasma activated water on bacteria in planktonic state. Journal of Applied Microbiology. 2020a;129 (5):1248–60.
55- Phillips CA. Bacterial biofilms in food processing environments: a review of recent developments in chemical and biological control. International Journal of Food Science & Technology. 2016;51(8):1731-43.
56- Cherny KE, & Sauer, K. Untethering and degradation of the polysaccharide matrix are essential steps in the dispersion response of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Journal of bacteriology. 2020;202:519-55.
57- Yan J, & Bassler, B. L. Surviving as a community: Antibiotic tolerance and persistence in bacterial biofilms. Cell Host & Microbe. 2019;26 (10):15-21.
58- Scholtz V, Pazlarova, J., Souskova, H., Khun, J., & Julak, J. Nonthermal plasma — A tool for decontamination and disinfection. Biotechnology Advances. 2015;33(6):1108-19.
59- Mandal R, Singh, A., & Pratap Singh, A. Recent developments in cold plasma decontamination technology in the food industry. Trends in Food Science & Technology. 2018;80:93-103.
60- Hertwig C, Kai, R., Ehlbeck, J., Knorr, D., & Schlüter, O. Decontamination of whole black pepper using different cold atmospheric pressure plasma applications. Food Control. 2015;55:221-9.
61- Prochnow A ZR, Zhang T, Ostrikov K, Mugunthan S, A.Rice S, Cullen P. Interactions of plasma-activated water with biofilms: inactivation, dispersal effects and mechanisms of action. npj Biofilms and Microbiomes. 2022;7:42-58.
62- Hathaway HJ, Patenall B, Thet N, Williams G, Jenkins A, Short R. Delivery and quantification of hydrogen peroxide generated via cold atmospheric pressure plasma through biological material. J Phys D. 2019;52:505203.
63- Stewart PS, Rayner, J., Roe, F. & Rees, W. M. Biofilm penetration and disinfection efficacy of alkaline hypochlorite and chlorosulfamates. J Appl Microbiol. 2001;91:525–32.
64- Howlin R P et al. Low-dose nitric oxide as targeted anti-biofilm adjunctive therapy to treat chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. Mol Ther. 2017;25:2104–16.
65- Li Y, Pan, J., Wu, D., Tian, Y., Zhang, J., & Fang, J. Regulation of *Enterococcus faecalis* biofilm formation and quorum sensing related virulence factors with ultra-low dose reactive species produced by plasma activated water.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

78- Gordon M.A G. *Salmonella* Infections in Immunocompromised Adults. Journal of Infection. 2008;56 (6):413-22.
79- Kunwar R SH, Mangla V, Hiremath R. Outbreak investigation: *Salmonella* food poisoning Medical. Journal Armed Forces India. 2013;69 (4):381-91.
80- Lin A GY, Backer J, Boxem W, Dewilde S, Bogaerts A. Non-Thermal Plasma as a Unique Delivery System of Short-Lived Reactive Oxygen and Nitrogen Species for Immunogenic Cell Death in Melanoma Cells. Advanced Science. 2019;6:127-32.
81- Guo JH, K.; Wang, X.; Lyu, C.; Yang, N.; Li, Y.; Wang, J. Inactivation of yeast on grapes by plasma-activated water and its effects on quality attributes. Food Prot. 2017;80:225–30.
82- Chen CL, C.; Jiang, A.; Guan, Q.; Sun, X.; Liu, S.; Hao, K.; Hu, W. The effects of cold plasma-activated water treatment on the microbial growth and antioxidant properties of fresh-cut pears. J Food Technology. 2019;12:1842–51.
83- Zhao YC, R.; Liu, D.; Wang, W.; Niu, J.; Xia, Y.; Qi, Z.; Zhao, Z.; Song, Y. Effect of nonthermal plasma-activated water on quality and antioxidant activity of fresh-cut kiwifruit. Plasma science. 2019;47:4811–7.
84- Seo H HJ, Woo J, Na Y H, Choi W L, Sung D, Moon E. Potential of non-thermal N2 plasma-treated buffer (NPB) for inhibiting plant pathogenic bacteria and enhancing food storage. Modern Agricultural Science and Technology. 2020;1(1):23-39.
85- Kang C D XQ, Zhao D, Wang W, Niu L, Bai Y. Inactivation of *pseudomonas deceptionensis CM2* on chicken breasts using plasma-activated water. Journal of food science and technology. 2019;56(11):4.۴۵-۹۳۸
86- Zhao YC, R.; Tian, E.; Liu, D.; Niu, J.; Wang, W.; Qi, Z.; Xia, Y.; Song, Y.; Zhao, Z. Plasma-activated water treatment of fresh beef: Bacterial inactivation and effects on quality attributes. Trans. Plasma science. 2018;4:113-20.
87- Qian J ZH, Nasiru M, Zhang J, Yan w. Action of plasma-activated lactic acid on the inactivation of inoculated *Salmonella Enteritidis* and quality of beef. Innovative food science emerging technology. 2019;57:102-96.
88- Lin C-M CY-C, Hsiao C-P, Wu J-S, Hsieh C-W, Hou C-Y. The optimization of plasma-activated water treatments to inactivate *Salmonella Enteritidis* (ATCC 13076) on shell eggs. Foods. 2019;8(10):520-35.
89- Kucerova K HM, Slovakova L, Hensel K. Effects of plasma activated water on wheat: Germination, growth parameters, photosynthetic pigments, soluble protein content, and antioxidant enzymes activity. Plasma processes and polymers. 2019;16:1800131.
90- Kuzin A SA, Khort D, Lukina N and Konchekov E. Effects of Plasma-Activated Water on Leaf and Fruit Biochemical Composition and Scion Growth in Apple. Plants. 2023;12(2):365.
91- Joshi I, D. Salvi, D. W .Schaffner, and M. V. Karwe. Characterization of microbial inactivation using plasma-activated water and plasma-activated acidified buffer. Journal of Food Protection. 2018;81 (9):1472-80.
92- Smet C, M. Govaert, A. Kyrylenko, M. Easdani, J. L. Walsh, and J. F. Van Impe. Inactivation of single strains of *Listeria Monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* planktonic cells biofilms with plasma activated liquids. Frontiers in Microbiology. 2019;10:1539.
93- Xiang QS, C. D .Kang, L. Y. Niu, D. B. Zhao, K. Li, and Y. H. Bai. Antibacterial activity and a membrane damage mechanism of plasma-activated water against *Pseudomonas deceptionensis CM2*. Science Direct. 2018;96:395-401.
94- Xiang QS, C. D. Kang, D. B. Zhao, L. Y. Niu , X. Liu, and Y. H. Bai. Influence of organic matters on the inactivation efficacy of plasma-activated water against *E. coli O157:H7* and *S. aureus*. Food Control 2019;99:28-33.
95- Handorf O ,V. I. Pauker, U. Schnabel, T. Weihe, E. Freund, S. Bekeschus, K. Riedel, and J. Ehlbeck. Characterization of antimicrobial effects of plasma-treated water (PTW) produced by microwave-induced plasma (MidiPLexc) on *Pseudomonas fluorescens* biofilms. Applied Sciences. 2020;10 (9):3118.
96- Hozak P ,V. Scholtz, J. Khun, D. Mertova, E. Vankov a, and J. Julak. Further contribution to the chemistry of plasma-activated water: Influence on bacteria in planktonic and biofilm forms. Plasma Physics Reports 2018;44 (9):799-804.
97- Xu Z ZX, Yang W, Zhang Y, Ye Z, Hu S, Ye C, Li Y, Lan Y, Shen J, Ye X, Yang F, Cheng C. In vitro antimicrobial effects and mechanism of air plasma-activated water on *Staphylococcus aureus* biofilm. Plasma Processes and Polymers. 2020;22:103001.
98- Los A, D. Ziuzina, D. Boehm, P. J. Cullen, and P. Bourke. Inactivation efficacies and mechanisms of gas plasma and plasma activated water against Aspergillus flavus spores and biofilms: A comparative study. Applied and Environmental Microbiology. 2020;86 (9):2619–25.
99- Baek K YH, Yoo J, Kim J, Byeon Y, Lim J, Yoon S, RYN S, Jo C. Antimicrobial effects and mechanism of plasma activated fine droplets produced from arc discharge plasma on planktonic *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli O157:H7*. Journal of Physics D: Applied Physics. 2020;53:124002.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]

Advances in plasma-activated water technology on foodborne pathogens: current applications and future trends

Narjes Basiri[1], Mehdi Zarei[2], **Mohammad Kargar[1*]**, Farshid Kafilzadeh[1]

[1]Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
[2]Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Abstract

Innovation in food production and processing is needed to respond to emerging challenges, ensure food security worldwide, and meet consumer demands for high-quality, safe, and nutritious food products. Plasma-activated water is an environmentally friendly technique with minimal changes in food products. Plasma-activated water has been receiving increasing attention for applications in food, agriculture and biomedical fields. In particular, this article specifies the physical and chemical properties of plasma-activated water in relation to acidity, conductivity, oxidation - reduction potential, and concentration of reactive oxygen species and reactive nitrogen in purified water. Therefore, the application methods of plasma-activated water for microbial disinfection are also have been summarized in this review. Overall, this review article describes the success achieved by plasma-activated water technology in various application methods; meanwhile, demonstrates its importance in the food processing industry. As the research output on plasma-activated water is expanding exponentially, this review focuses on literature published between the years 2017 to 2022 to summarize a current perception on the principles of plasma-activated water effects and reflect its potentials in various methods of application. Furthermore, prominent drawbacks of this technology was discussed, while important areas for future research were highlighted.

Keywords: Plasma activated water, Reactive oxygen, Food pathogen, Antibacterial activity, Reactive nitrogen

* mkargar@jia.ac.ir

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-29]