

Research Article

Vol. 14, No. 4, 2024, p. 355-366

Synergistic Effect of Atmospheric Pressure Cold Plasma and Hydrogen Peroxide as an Efficient Approach for the Control of Citrus Postharvest Green Mold

E. Barzanouni¹, H. Sadrnia^{2*}, F. Sohbatzadeh³, S. Khodavaisy⁴

1- PhD Student, Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Department of Atomic and Molecular Physics, Faculty of Science, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

4- Department of Medical Parasitology and Mycology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran & Research Center for Antibiotic Stewardship and Antimicrobial Resistance, Imam Khomeini Hospital Complex, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(* - Corresponding Author Email: hassan.sadrnia@um.ac.ir)

Received: 15 May 2023

Revised: 13 June 2023

Accepted: 04 July 2023

Available Online: 19 November 2024

How to cite this article:

Barzanouni, E., Sadrnia, H., Sohbatzadeh, F., & Khodavaisy, S. (2024). Synergistic Effect of Atmospheric Pressure Cold Plasma and Hydrogen Peroxide as an Efficient Approach for the Control of Citrus Postharvest Green Mold. *Journal of Agricultural Machinery*, 14(4), 355-366. (in Persian with English abstract). <https://doi.org/10.22067/jam.2023.82325.1165>

Introduction

Penicillium Digitatum (PD) and *Penicillium italicum* diseases pose significant economic challenges to citrus fruit production across the globe. The primary aim of this research is to investigate the synergistic effects of low concentrations of H₂O₂ solution combined with transient spark discharge plasma on the inactivation of PD. Additionally, assess the chemical and physical properties. Ultimately, this approach can be presented as an eco-friendly solution for rinsing citrus fruits on an industrial scale.

Materials and Methods

The *Penicillium digitatum* (PD) isolate (ATCC 24692) was obtained from the Tehran Molecular Mycology Laboratory and cultured on Sabouraud Dextrose Agar medium at pH 5.6 and 27°C for 7 days. The initial concentration of spores in the solution was determined using a UV absorption spectrophotometer, set to 0.1 at a wavelength of 420 nm, and the concentration of spores was approximately equivalent to 10⁶ spores per milliliter (Palou et al., 2002). In this study, the plasma reactor had a point-to-plane geometry. The high-voltage needle electrode was placed above a Petri dish filled with a microbial solution combined with H₂O₂, while the grounded electrode was immersed in the solution. The distance between the tip of the needle electrode and the surface of the solution was 15 mm. Solutions of 0.05%, 0.1% and 0.5% v/v H₂O₂ (35% soluble in water) were added to the microbial solution before plasma treatment. The final volume of the solution was 5 ml and exposure times were 2.5, 5, 10, and 15 minutes. The reactor was fed with an air flow of 2 l/min. A transient spark discharge was generated, characterized by a discharge voltage of approximately 18 kV, short durations of less than 100 ns, and high current pulses exceeding 1A, with a repetition frequency ranging from 0.5 to 10 kHz. After treatment, H₂O₂, NO₂⁻, and NO₃⁻ as the main long-lived species in plasma-activated solution are measured. Also, physical factors such as electrical conductivity and pH were measured. Data Analysis performed using SAS 9.4 software.

Results and Discussion

With increasing plasma treatment time and H₂O₂ concentration, the log reduction increased across all treatments. The combination of 0.1 and 0.5% H₂O₂ solution with plasma resulted in complete inactivation of *P.*



©2024 The author(s). This is an open access article distributed under [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

<https://doi.org/10.22067/jam.2023.82325.1165>

digitatum within just 15 minutes. In plasma-treated solutions, regarding chemical properties, the concentrations of H₂O₂, NO₂⁻, and NO₃⁻ increased linearly with the treatment time. Furthermore, the electrical conductivity increased linearly, with a notable acceleration in the treated 0.5% H₂O₂ solution, reaching 373 μS cm⁻¹. Additionally, pH value dropped from an initial value of 6.95, using distilled water as a control, to a low of 2.14 for plasma treated with 0.5% H₂O₂ after 15 min of exposure.

Conclusion

The combined treatment was more effective than the isolated use of hydrogen peroxide solution. H₂O₂ enhances the effectiveness of plasma sterilization without requiring additional power input. Consequently, the synergistic application of atmospheric pressure plasma and H₂O₂ proved to be a promising method for the inactivation of PD. The findings indicate that reactive oxygen species (ROS) significantly contribute to the inactivation of PD cells, as well as the concentration of H₂O₂. Finally, the combination of H₂O₂ solution at 0.1 and 0.5% with cold plasma presents an environmentally friendly method for sanitizing citrus fruits.

Acknowledgment

This work was supported by the Ferdowsi University of Mashhad [Grant number 48527]. The authors greatly appreciate the technical support from Mazandaran University in Iran, particularly from the Department of Atomic and Molecular Physics.

Keywords: Hydrogen peroxide, Non-thermal plasma, *Penicillium digitatum*, Plasma-activated solution, Transient spark discharge

مقاله پژوهشی

جلد ۱۴، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۳، ص ۳۶۶-۳۵۵

اثر ترکیبی پلاسمای سرد فشار اتمسفری و پراکسید هیدروژن به‌عنوان یک رویکرد کارآمد برای کنترل کپک سبز پس از برداشت مرکبات

عصمت برزنونی^۱، حسن صدرنیا^{۲*}، فرشاد صحبت‌زاده^۳، صادق خداویسی^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۳

چکیده

کپک سبز و آبی عوامل محدودکننده دوره انبارداری بسیاری از میوه‌ها و سبزی‌ها از جمله مرکبات می‌باشد. در این تحقیق اثر پلاسمای سرد فشار اتمسفری تولیدشده توسط تخلیه اسپارک گذرا جریان مستقیم در یک راکتور بسته بر روی سوسپانسیون قارچ پنی‌سیلیوم دیجیتالوم بررسی شد. سوسپانسیون با غلظت‌های اولیه متفاوت شامل: صفر، پنج صدم، یک دهم و پنج دهم درصد پراکسید هیدروژن در زمان‌های مختلف معرض پلاسمای ۲/۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه تحت پلاسمادهی قرار داده شدند. نتایج نشان داد که با افزایش زمان پلاسمادهی و نیز غلظت پراکسید هیدروژن محلول اثر غیرفعال‌سازی اسپوره‌های قارچ افزایش یافت. در غلظت‌های یک و پنج دهم درصد میزان توقف کامل اسپورها در زمان ۱۵ دقیقه پلاسمادهی مشاهده شد. پلاسمادهی توانست سبب افزایش اکسیداسیون محلول شده و در نتیجه منجر به مرگ سلولی بیشتر اسپورها شود. بنابراین استفاده از پلاسمای سرد موجب می‌شود که استفاده از محلول‌های با غلظت بالای پراکسید هیدروژن در هنگام شستشوی میوه‌ها و سبزی‌ها به‌منظور حفظ خواص پس از برداشت آن‌ها در مقیاس صنعتی اجتناب شود.

واژه‌های کلیدی: پراکسید هیدروژن، پلاسمای غیرحرارتی، پنی‌سیلیوم دیجیتالوم، تخلیه اسپارک گذرا، محلول فعال‌شده با پلاسمای

مقدمه

فیزیکی در حین برداشت و حمل و نقل، اثربخشی تیمارهای ضد قارچی و همچنین محیط پس از برداشت بستگی دارد (Smilanick, Brown, & Eckert, 2006). متیل بروماید یک آفت‌کش موثر و پرکاربرد در برابر انواع آفات از جمله کپک‌ها (قارچ) بود اما از سال ۲۰۰۵، تحت عنوان "پروتکل مونترال در مورد موادی که لایه ازن را تخریب می‌کنند" به دلیل پتانسیل بالای آن در تخریب لایه ازن ممنوع شد (Ito, Ohta, & Hori, 2012). علاوه بر این، قارچ‌کش‌هایی مانند ایمازالیل، سدیم ارتوفیل فئات یا تیباندازول این بیماری‌ها را کنترل می‌کنند. با این حال، نگرانی‌های زیادی درباره مقاومت و نیز پسماند ناشی از استفاده این مواد وجود دارد. همچنین از عملیات حرارتی مانند غوطه‌وری در آب گرم، برس زدن با آب گرم و نیز هوای گرم استفاده می‌شود، اما گرما می‌تواند باعث تغییر رنگ و کاهش وزن میوه‌ها شود. هرچند تیمارهای فیزیکی به دلیل ضایعات کمتر و سازگاری بیشتر با محیط‌زیست به روش‌های شیمیایی ترجیح داده می‌شوند. تیمار پلاسمای سرد به‌عنوان یک روش فیزیکی غیرحرارتی، دوست‌دار محیط‌زیست، مقرون به‌صرفه و نیز با بهره‌وری

کپک سبز^۵ و کپک آبی^۶ از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای پس از برداشت مرکبات و نیز مشکل‌ساز از لحاظ اقتصادی در تمام مناطق تولیدکننده در جهان هستند. ضایعات واقعی ناشی از کپک‌های پنی‌سیلیوم به عوامل آب و هوایی و باغ، نوع رقم مرکبات، آسیب

- ۱- دانشجوی دکترای گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- ۲- دانشیار گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
- ۳- استاد گروه فیزیک اتمی و مولکولی، دانشکده علوم پایه دانشگاه مازندران، بابل، ایران
- ۴- دانشیار گروه بیولوژی مولکولی و گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی، تهران، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: (Email: hassan.sadrnia@um.ac.ir)<https://doi.org/10.22067/jam.2023.82325.1165>5- *Penicillium Digitatum*6- *Penicillium Itaticum*

نیترژن و همچنین رادیکال اکسیژن اتمی در ۷۷ نانومتر به‌عنوان عامل مهم در غیرفعال‌سازی اسپور پنیسیلیوم دیجیتاتوم شناخته شد. بالاترین کاهش بار میکروبی لگاریتمی تقریباً دو واحد در زمان تیمار سه ثانیه بود. همچنین اثر ضخامت دی‌الکتریک سیلیکون که از ۰/۰۵ تا ۰/۳ میلی‌متر برای ضدعفونی اسپور قارچ روی سطح میوه واضح نبود اما بیان کردند که ضخامت دی‌الکتریک بیشتر از یک میلی‌متر اثر بر ضدعفونی قارچ داشته باشد (Yagy et al., 2016). در تحقیقی دیگر با استفاده از تخلیه کرونی جت پلاسما با ولتاژ خروجی ۸ کیلوولت و جریان مستقیم ۲ تا ۴ آمپر روی میوه کامکوات، بار میکروبی لگاریتمی در جریان دو، سه و چهار آمپر به ترتیب ۰/۷۷ تا ۱/۰۴، ۱/۰۸ تا ۱/۵۷ و ۱/۵۱ کاهش یافت. همچنین تیمار پلاسما تفاوت معناداری در مزه، طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی ایجاد نکرد و سبب افزایش عمر ماندگاری میوه‌ها نسبت به نمونه‌های کنترل شد (Puligundla, Lee, & Mok, 2018).

تیمارهای پس از برداشت میوه‌ها با پراکسید هیدروژن به‌عنوان جایگزینی برای تیمارهای شیمیایی پیشنهاد شده است. این ماده به دو شکل مایع و گاز برای کاربردهای نگهدارنده، ضدعفونی و استریل‌کردن استفاده می‌شود که بر اساس برنامه ملی ارگانیک استفاده از آن در تولید محصولات ارگانیک مجاز است (NOP, 2003). ایالات متحده H_2O_2 را به‌عنوان یک ماده ایمن (GRAS)^۲ برای تیمار جایگزین پس از برداشت مواد شیمیایی به‌منظور افزایش ماندگاری میوه‌ها و سبزیجات پذیرفت (Suslow, 1997). پراکسید هیدروژن توانایی تولید عوامل اکسیدکننده سیتوتوکسیک مانند رادیکال‌های هیدروکسیل را دارد که غشای سلولی، بیومولکول‌ها و DNA میکروارگانیسم‌ها را اکسید می‌کند، بنابراین دارای خاصیت ضد باکتریایی و ضدقارچی می‌باشد. محلول‌های H_2O_2 با غلظت کم (معمولاً از ۵ تا ۵ درصد) برای ضدعفونی در مواد غذایی و بسته‌بندی استفاده می‌شود (Parish et al., 2003). بنابراین هدف اصلی این تحقیق بررسی اثر ترکیبی غلظت‌های پایین محلول H_2O_2 و پلاسما سرد فشار اتمسفری اسپارک‌گذرا برای غیرفعال کردن پنیسیلیوم دیجیتاتوم در محیط آبی است، که در نهایت بتواند روش جایگزینی برای شستشو مرکبات به‌جای استفاده از قارچ‌کش‌ها و یا مواد شیمیایی باشد.

مواد و روش‌ها

اعمال تیمار پلاسما فشار اتمسفری هوا بر محلول قارچ پنیسیلیوم دیجیتاتوم
در این پژوهش از سیستم پلاسما سرد هوای فشار اتمسفری

بالای انرژی و غیره در سال‌های اخیر محبوبیت بیشتری در صنایع کشاورزی و غذا توسعه یافته است. پلاسما سرد یک فناوری جدید بر پایه یونیزاسیون گازها می‌باشد که با اعمال روش‌های مختلف انرژی به گازها ایجاد می‌شود (Misra, 2015; Misra et al., 2016) (Schlüter, & Cullen, 2016). پلاسما سرد در دو روش غیرتعادلی و تعادلی تقسیم‌بندی می‌شود که امروزه فرایند پلاسما سرد غیرتعادلی برای غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌ها کاربرد زیادی دارد. فاکتورهای مختلفی مانند امواج مارابنفش UV-C، گونه‌های خنثی و باردار، میدان‌های الکتریکی و اثرات ترکیبی آن‌ها ممکن است سبب غیرفعال شدن میکروارگانیسم‌ها شوند. همچنین از مزایای این نوع پلاسما دمای پایین فرایند و زمان کوتاه تیماردهی است (Ito, Oh, Ohta, Shiratani, & Hori, 2018).

در سال‌های اخیر علاقه زیادی درباره تاثیر تیمار ترکیبی پلاسما سرد اتمسفری با روش‌های دیگر در زمینه کشاورزی و صنایع غذایی دیده شده است. اما برای مثال تا به حال، تقریباً هیچ تحقیقی در مورد غیرفعال کردن پنیسیلیوم دیجیتاتوم با استفاده از تیمار ترکیبی پلاسما سرد و پراکسید هیدروژن^۱ صورت نگرفته است. تحقیقات موجود تنها توسط پلاسما سرد فشار اتمسفری انجام شده است. در پژوهشی با استفاده از پلاسما آرگون فشار اتمسفری غیرتعادلی روی پنیسیلیوم دیجیتاتوم نشان دادند که شدت غیرفعال‌سازی با پرتوهای UV-C و گونه‌های واکنش‌پذیر تقریباً ۷ برابر بیشتر از میزان تولیدشده توسط پرتوهای UV-C به‌تنهایی است. روند غیرفعال‌سازی با افزایش جریان O_2 افزایش یافت. همچنین با مقایسه D-Value (زمان لازم برای کاهش یک واحد لگاریتم) در رطوبت ۳۵ و ۱۰۰ درصد مشخص شد که رادیکال OH نیز گونه مهمی برای از بین بردن اسپورها است (Ohta, Ito, Iseki, & Hori, 2010). در یک تحقیق مشابه دیگر از پلاسما Ar/O_2 برای غیرفعال کردن پنیسیلیوم دیجیتاتوم استفاده کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که سهم تشعشعات UV-C و ازون غالب نیستند، بلکه اکسیژن اتمی سهم عمده‌ای در غیرفعال شدن داشت. رفتار سرعت غیرفعال شدن اسپورها به تراکم $O(3Pj)$ بستگی دارد (Iseki et al., 2011). در مطالعه دیگری، اثر جت پلاسما آب-هوا بر بافر نمکی بافر فسفات ۳ میلی‌لیتری روی پنیسیلیوم دیجیتاتوم نشان داد که ۹۱ درصد از سرعت بازدارندگی جوانه‌زنی در ولتاژ اعمالی ۶ کیلوولت و نسبت بخار آب ۱۰۰ درصد در ۹ دقیقه زمان پلاسمادهی به‌دست آمد (Liu, Wang, Hu, Lei, & Han, 2016). همچنین ضدعفونی پلاسما تخلیه سد دی‌الکتریک با ولتاژ ۱۰ کیلوولت و بسامد ۹-۱۱ کیلوهرتز برای غیرفعال کردن اسپورهای کپک سبز روی نارنگی انشو در شرایط محیط بررسی شد. نتایج طیف‌سنجی نشان داد شدت بالای باند مثبت

2- Generally recognized as safe

1- H_2O_2

تخلیه اسپارک گذرا متشکل از الکتروود میله‌ای نازک ولتاژ بالا از جنس تنگستن که در فاصله ۱۵ میلی‌متر از سطح محلول و همچنین الکتروود حلقوی زمین در کف پتری‌دیش بود، استفاده شد (شکل ۱). محلول در حجم نهایی ۵ میلی‌لیتر و با چهار غلظت ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و صفر پراکسید هیدروژن از محلول ۳۵ درصد حجمی H_2O_2 (محلول در آب، شماره CAS: 7722-84-1، ایران) تهیه شد. همچنین زمان پلاسمادهی ۲/۵، ۵ و ۱۰ و ۱۵ دقیقه بود. در این چپنش آزمایشی تخلیه پلاسمای اسپارک گذرا^۱ توسط یک منبع تغذیه ولتاژ بالای جریان مستقیم با ولتاژ تخلیه حدود ۱۸ کیلوولت و پالس جریان بیشتر از یک آمپر با فرکانس ۰/۵ تا ۱۰ کیلوهرتز انجام شد. همچنین برای تولید و حفظ یکنواختی پلاسمای تخلیه از یک مقاومت بالاست ۱۱/۲ مگا اهمی استفاده شد. دبی جریان هوای ورودی به راکتور ۲ لیتر بر دقیقه بود. سیگنال ولتاژ تخلیه توسط پروب ولتاژ (SEW PD-28) و سیگنال جریان تخلیه توسط نمایشگر جریان (Pearson 4100) متصل به اسیلوسکوپ مدل (Tektronix DPO2012) اندازه‌گیری شد.

طیف‌سنجی نشر نوری^۲ پلاسمای

یک طیف انتشار منحصر به فرد خاص برای فوتون‌های ساطع شده و گونه‌های فعال (مولکول‌ها، اتم‌ها و یون‌ها) در حجم تخلیه پلاسمای تولید شده در شرایط اتمسفری، که برای از بین بردن قارچ پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم مهم هستند، با طیف‌سنجی نشر نوری شناسایی شد. طیف انتشار یک پلاسمای هوای فشار اتمسفر با و بدون پتری‌دیش حاوی محلول توسط طیف‌سنج نوری (S100، UV-Vis spectrometer, Solar laser systems) با آرایه آشکارساز CCD 3648 پیکسل و فاصله کانونی ۷۵ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. فیلتر نوری در فاصله ۵ میلی‌متری از تخلیه الکتریکی تولید شده قرار گرفت. طیف انتشار نوری با زمان ادغام ۸۲ ثانیه و وضوح ۰/۵ نانومتر در محدوده طیفی ۲۵۰ تا ۹۰۰ نانومتر ثبت شد.

روش آماری تحلیل نتایج

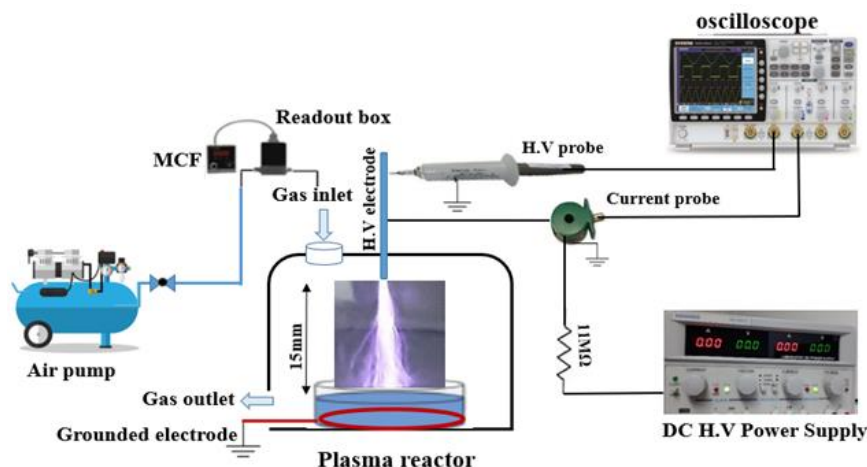
تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین با روش آزمون LSD با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. محاسبات میانگین و انحراف معیار و رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۳ انجام شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها و انجام آزمون‌های میکروبی

برای انجام آزمون‌های میکروبی سویه پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم (ATCC 24692) از آزمایشگاه قارچ‌شناسی مولکولی تهران تهیه شد. سپس بر روی محیط کشت سابرو دکستروز آگار (Ibresco, Iran) در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ روز کشت داده شد. پس از تهیه محلول، غلظت اولیه اسپورها توسط اسپکتروفتومتر مدل (آمریکا، WPA Biowave II) اندازه‌گیری شد. جذب سوسپانسیون در طول موج ۴۲۰ نانومتر روی ۰/۱ تنظیم شد که معادل 10^6 اسپور قارچ در یک میلی‌لیتر بود (Palou, Usall, Smilanick, Aguilar, & Vinas, 2002). سپس با افزودن پراکسید هیدروژن در غلظت‌های مورد بررسی به محلول قارچی حجم ۵ میلی‌لیتر را آماده نموده و تحت تیمار پلاسمای قرار داده شد. پس از تیماردهی، محلول با رقت ۰/۱ و ۰/۰۱ انجام و در نهایت ۲۰ میکرولیتر روی محیط آگار کشت داده شد و به مدت ۳ روز در انکوباتور با دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت شمارش بار میکروبی بر حسب کلونی تشکیل یافته در میلی‌لیتر ($CFU mL^{-1}$) بیان شد.

خواص شیمیایی و فیزیکی آب مقطر فعال شده با پلاسمای

پراکسید هیدروژن، یون‌های نیتريت و نیترات گونه‌های اصلی با عمر طولانی در محلول فعال شده با پلاسمای هستند که اثرات بالقوه مهمی بر غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌ها دارند. در این پژوهش، غلظت این گونه‌ها با استفاده از طیف‌سنج ماوراء بنفش (TUV-Vis)



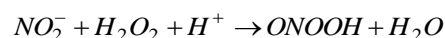
شکل ۱- چینش آزمایشی

Fig.1. Experimental setup

نتایج و بحث

نتایج ارزیابی بار میکروبی

اثر ضدقارچی غلظت‌های مختلف محلول پراکسید هیدروژن در برابر قارچ پنی‌سیلیوم در شکل ۲ نشان داده شده است. پلاسما تاثیر معناداری در سطح یک درصد بر غیرفعال‌سازی میکروبی وجود داشت ($p < 0.01$). با افزایش زمان پلاسمادهی و افزایش غلظت H_2O_2 ، کاهش بار میکروبی در تمام تیمارها افزایش یافت، به طوری که محلول ۰/۱ و ۰/۵ درصد پراکسید هیدروژن تحت پلاسما در زمان ۱۵ دقیقه منجر به توقف کامل رشد اسپوره‌های قارچ شد، در حالی که کاهش لگاریتمی محلول با غلظت‌های صفر و ۰/۰۵ درصد به ترتیب ۲/۴۵ و ۳/۰۳ بود. همچنین در تیمارهای بدون پلاسما (یعنی اثر H_2O_2 به تنهایی) با غلظت ۰/۰۵ و ۰/۵، کاهش لگاریتمی بار میکروبی به ترتیب ۰/۷۴ و ۱/۲۵ در زمان ۱۵ دقیقه مشاهده شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که عملکرد پلاسما با افزودن H_2O_2 بهبود یافته است. این تاثیرگذاری بیشتر را به احتمال زیاد می‌توان به آسیب اکسیداسیون ناشی از گونه‌های اکسیژن واکنشی تولیدشده در پلاسما نسبت داد (Puligundla et al., 2018; Timoshkin et al., 2012). این نتایج بیان می‌کند که پراکسیداسیون غشای سلولی از طریق گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر یک مکانیسم مهم در خواص بیولوژیکی پلاسما است، در حقیقت واکنش بین هیدروژن در پراکسید هیدروژن و یون نیتريت پس از پلاسمادهی ممکن است منجر به تشکیل پراکسی نیتريت طبق واکنش زیر شود (Hao et al., 2014):

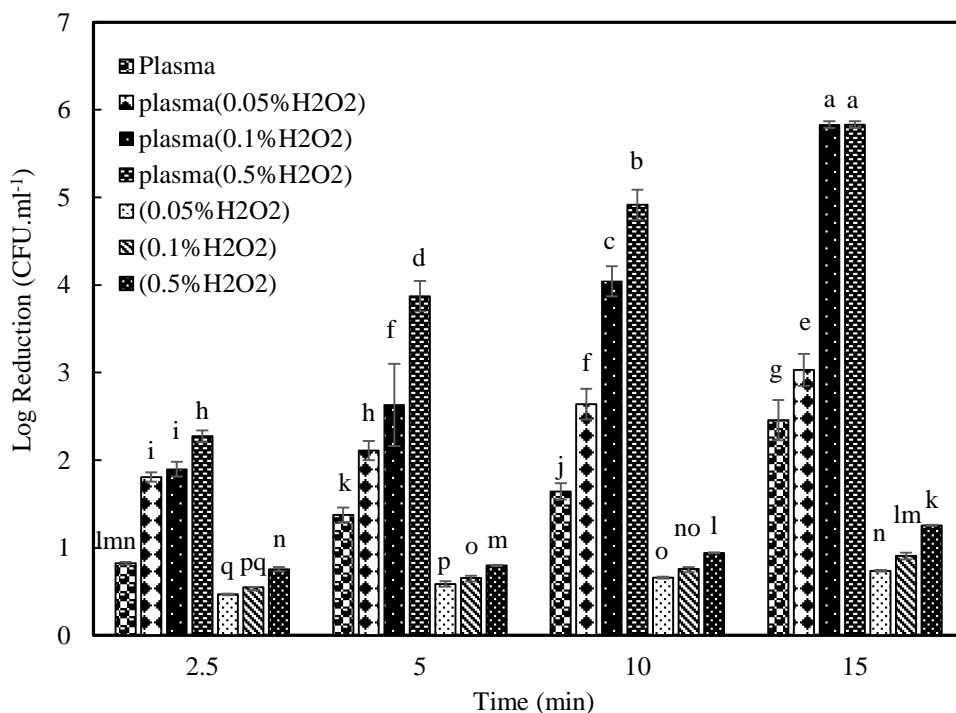


علاوه بر این نشان داده شده است که شیمی پراکسی نیتريت

به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای در خواص ضد میکروبی آب پلاسما شده نقش دارند (Naitali, Kamgang-Youbi, Herry, Bellon-Fontaine, & Brisset, 2010; Traylor et al., 2011).

خواص شیمیایی و فیزیکی آب پلاسمایی شده

به‌منظور مطالعه دقیق‌تر مکانیسم‌های موثر در غیرفعال‌سازی پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم، اثرات شیمیایی و فیزیکی آب پلاسمایی شده بررسی شد. تحلیل داده‌ها نشان داد که تاثیر فاکتور زمان مواجهه با پلاسما بیشتر از غلظت محلول بود (داده‌ها نشان داده نشده است). همان‌طوری که نمودارهای شکل ۳ نشان داده شده است در همه محلول‌های تحت پلاسما، غلظت H_2O_2 ، NO_2^- و NO_3^- به‌صورت خطی با گذشت زمان تیمار افزایش یافت. حداقل غلظت H_2O_2 در محلول با غلظت صفر برابر ۴/۱ میلی‌گرم در لیتر در زمان ۲/۵ دقیقه، در حالی که حداکثر غلظت ۳۱/۰۳ میلی‌گرم در لیتر در محلول ۰/۵ درصد و در زمان ۱۵ دقیقه پلاسمادهی مشاهده شد شکل ۳ (a). لیو و همکاران (Liu et al., 2016) گزارش کردند که ۳/۰۸۰۹ میکرومول در لیتر H_2O_2 تولیدشده در سیستم جت پلاسما سبب ممانعت از رشد اسپوره‌های پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم تا ۹۱ درصد شد. پراکسید هیدروژن به‌عنوان یک اکسیدکننده قوی نقش مهمی در ضد عفونی دارد. علاوه بر این، NO_2^- و NO_3^- و پراکسی نیتريت‌های تولیدشده در محلول‌های تحت پلاسما به دلیل مکانیسم آن‌ها در ضد عفونی مورد توجه محققین بسیاری قرار گرفته است (Lee, Paek, Ju, & Lee, 2006; Shen et al., 2016).



شکل ۲- غیرفعال سازی پنی سیلیوم دیجیتاتوم با غلظت های مختلف محلول پراکسید هیدروژن و زمان های مختلف پلاسمای
Fig.2. Inactivation of *Penicillium digitatum* with different concentrations of H₂O₂ solutions and different plasma treatment times

اختلال در DNA می شوند. به طور خلاصه در طول پلاسمادهی آب، رادیکال OH از طریق جدایش مولکول های آب طبق رابطه (۱) تولید می شود (Bekeschus et al., 2014):

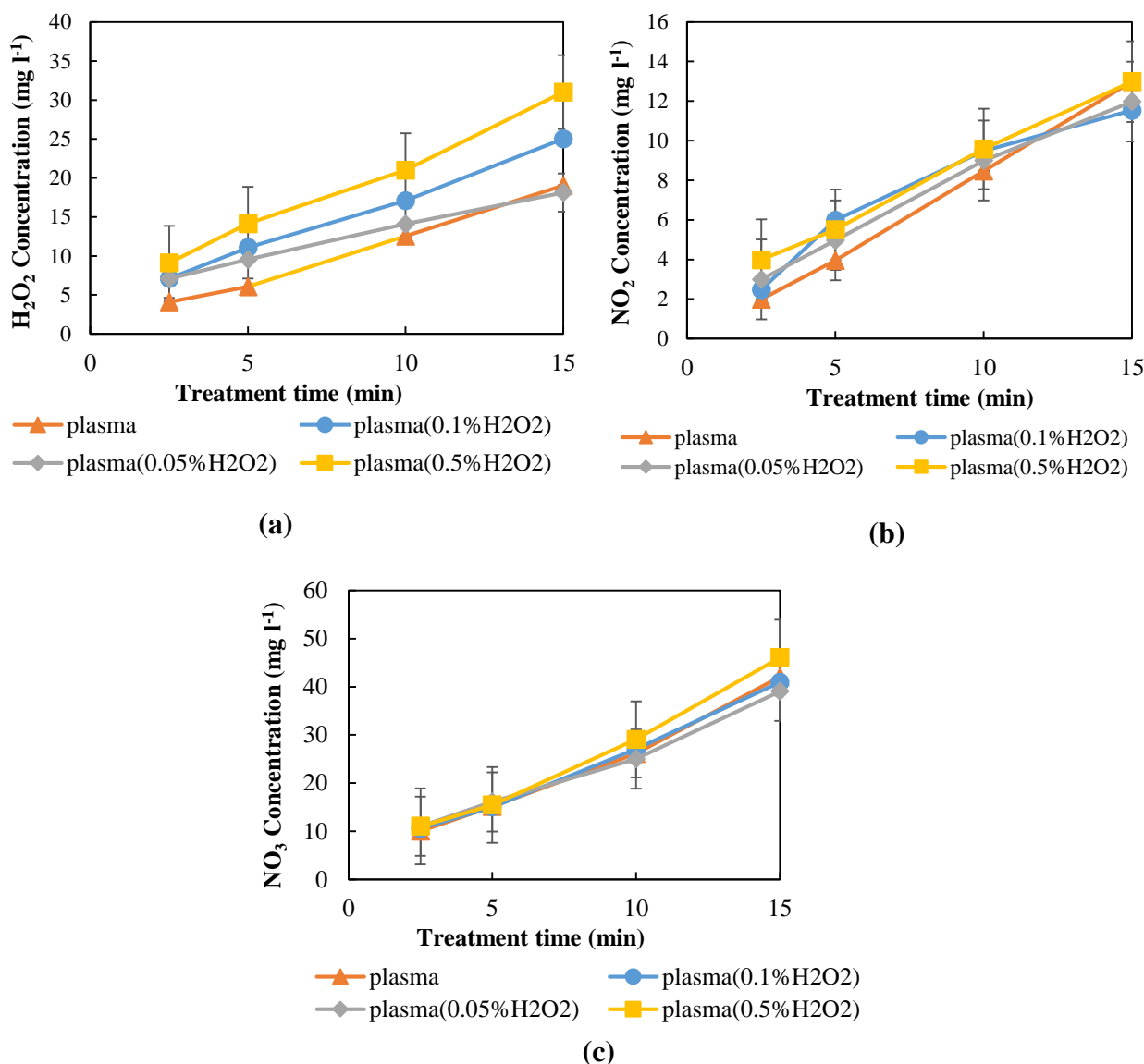


که P ذره دارای انرژی از پلاسمای (برای مثال: الکترون) (Bruggeman & Schram, 2010). با افزودن H₂O₂، بیشتر OH ممکن است از H₂O₂ و از طریق واکنش های (۲) تا (۴) ایجاد شوند (Lee et al., 2013).



همچنین، ارتباط ازون (تولید شده توسط پلاسمای از رابطه (۵) و پراکسید هیدروژن می تواند به طور مطلوبی OH تولید کند رابطه (۶)، که فرایند پراکسون نامیده می شود (Merényi, Lind, Naumov, & Sonntag, 2010).

شکل ۳ (b) و (c) نشان داد که میزان غلظت های NO₂⁻ و NO₃⁻ تولید شده در زمان پلاسمادهی روند مشابهی در همه محلول ها داشتند به طوری که با افزایش زمان و غلظت افزایش یافتند. مقدار NO₂⁻ در محلول ها با غلظت صفر و نیم درصد به ترتیب ۱/۹۹ و ۱۲/۹۸ میلی گرم در لیتر به ترتیب در تیمار ۲/۵ و ۱۵ دقیقه مشاهده شد. همچنین حداکثر میزان تولید NO₃⁻، در طول مواجهه با پلاسمای ۴۶/۰۵ میلی گرم بر لیتر که مربوط به تیمار با غلظت ۰/۵ درصد H₂O₂ بود، در حالی که کمترین مقدار ۱۰/۰۲ میلی گرم در لیتر برای محلول بدون H₂O₂ در زمان ۲/۵ دقیقه بود. نیترات به عنوان یک محصول ثانویه با عمر طولانی در فرایند پلاسمادهی دارای اثرات بیولوژیکی است. بیشتر گونه های اکسیژن و نیتروژن واکنش پذیر تولید شده در پلاسمای ترکیبی با H₂O₂ عمدتاً OH و NO بودند (Graves, 2012). که در نتیجه منجر به تولید بیشتر در تشکیل سایر گونه های واکنشی مانند O=NOOH و NO₂ می شود (Wu et al., 2017). این رادیکال ها می توانند به آسانی به اسیدهای چرب غیراشباع غشای سلولی حمله کرده و با نفوذ درون سلولی موجب



شکل ۳- غظت‌های H_2O_2 ، NO_2^- و NO_3^- در محلول تحت پلازما در زمان‌های مختلف

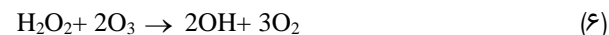
Fig.3. Concentrations of different plasma treatment times of H_2O_2 solutions (a) H_2O_2 , (b) NO_2^- , and (c) NO_3^-



به‌عنوان یک رادیکال، NO در حال تلاش برای واکنش با گونه‌های دیگر با یک الکترون جفت‌نشده است، طول عمر NO عملاً تنها با برخورد تصادفی با دیگر رادیکال‌ها محدود می‌شود. NO و سوپراکسید به سهولت واکنش داده و پراکسی‌نیتريت تولید می‌شود (Merenyi et al., 2010):



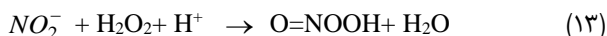
در محیط محلول اسیدی، پراکسی‌نیتريت به سرعت پروتونه شده تا اسید پروکسی‌نیتروس را تشکیل دهد:



وجود H_2O_2 منجر به تولید بیشتر تبدیل رادیکال O_2^- به OH شده و از تولید 1O_2 جلوگیری می‌کند، بنابراین نقش OH می‌تواند خیلی مهم باشد. اگرچه، رادیکال‌های O_2^- و 1O_2 در این سیستم وجود خواهند داشت و نقش متناظر خود را در ضدعفونی ایفا می‌کنند. اخیراً گونه‌های فعال نیتروژن در پلازما سرد، عمدتاً رادیکال‌های اکسید نیتريك و نیترات هستند. نیتريت از واکنش‌های جدایش N و O بر طبق رابطه‌های (۷) تا (۹) تولید می‌شود:



پروکسی نیتريت‌ها با استفاده از واکنش (۱۳) شود (Maeda, Igura, Shimoda, & Hayakawa, 2003)



و نکته مهم این‌که ONOOH می‌تواند بیشتر واکنش نشان دهد و OH و NO₂ را مانند رابطه (۱۴) تشکیل دهد:

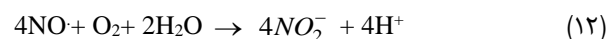


بنابراین افزودن H₂O₂ به بازده بالاتر OH و NO کمک نموده و همچنین ممکن است سبب کارایی بیشتر سایر گونه‌های فعال مانند O=NOOH و NO₂ از طریق واکنش‌های فوق ذکر شود، که در نتیجه منجر به غیرفعال شدن بیشتر قارچ پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم می‌شود.

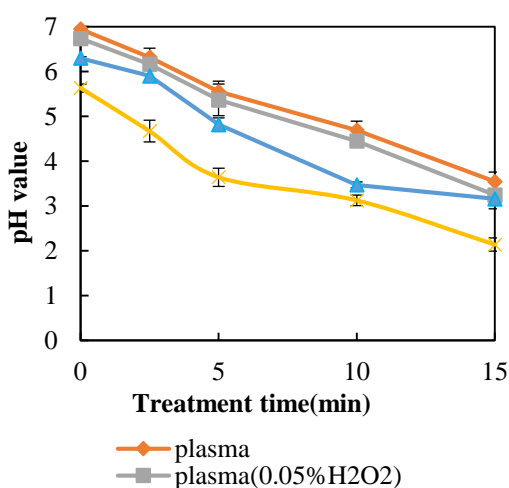


واکنش تعادلی بین پروکسی نیتريت و پراکسی نیتروس اسید بستگی به مقدار اسیدیته دارد. تحت شرایط فیزیولوژیکی برای مثال برای مقدار اسیدیته نزدیک ۷ هم پروکسی نیتريت و هم شکل پروتونه شده آن در غلظت‌های قابل توجهی وجود خواهند داشت (Van Gils, Hofmann, Boekema, Brandenburg, & Bruggeman, 2013).

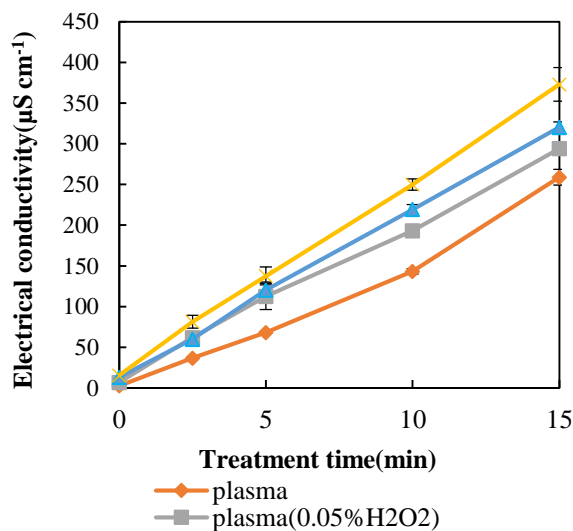
NO ممکن است همچنین با اکسیژن محلول واکنش داده و یون‌های نیتريت و نیتريت طبق واکنش کلی رابطه (۱۲) تشکیل شود:



تشکیل نیتريت‌ها تحت شرایط اسیدی ممکن است از طریق واکنش نیتريت‌ها با پراکسید هیدروژن منجر به تشکیل



(a)



(b)

شکل ۴- تغییرات اسیدیته و هدایت الکتریکی در غلظت‌های مختلف محلول تحت پلازما

Fig.4. Changes of (a) pH value and (b) Electrical conductivity of various concentrations of H₂O₂ solution treated by cold plasma

گسترش هیف‌ها، میسلیوم‌ها تأثیر منفی بگذارد و از رشد قارچ جلوگیری کند.

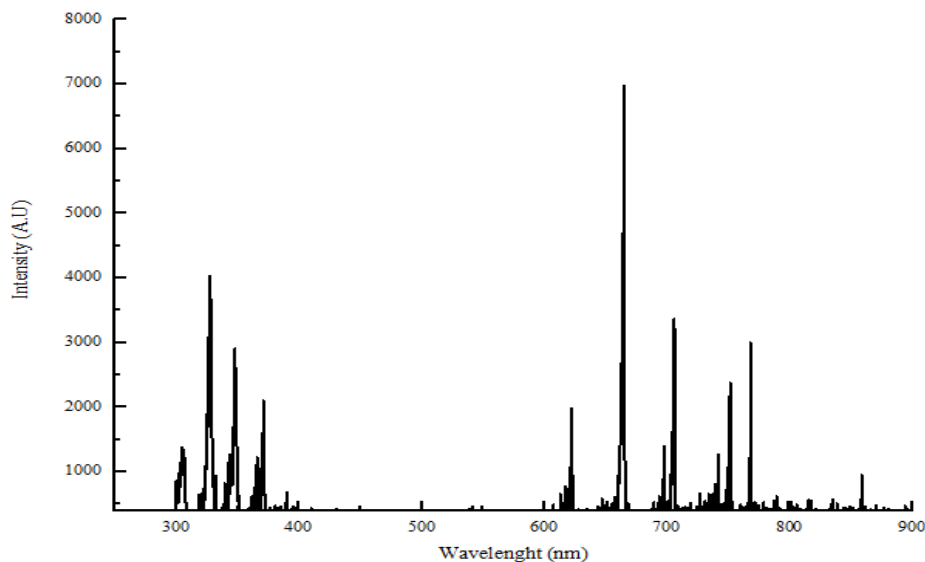
همان‌طوری که در شکل ۴ (a) مشاهده می‌شود میزان اسیدیته از مقدار ۶/۹۵ (آب مقطر به عنوان شاهد) به پایین‌ترین مقدار ۲/۱۴ بعد از ۱۵ دقیقه پلاسمادهی محلول نیم درصد H₂O₂ رسید. به‌طور مشابه در همان زمان ۱۵ دقیقه آب مقطر تحت پلازما میزان pH به ۳/۵۴ بود. بنابراین سرعت کاهش pH با افزودن H₂O₂ بیشتر شد. همچنین ثابت شده است که pH یک عامل کلیدی است که به غیرفعال‌سازی میکروارگانیسم‌ها کمک می‌کند. کاهش اسیدیته مربوط به واکنش‌های متعدد حاصل از O₃ و NO_x، O در پلاسمای هوا با آب

با توجه نتایج داده‌های ویژگی‌های فیزیکی اندازه‌گیری شده در شکل ۴ (a) میزان اسیدیته در تمام تیمارها با افزایش زمان پلاسمادهی در نتیجه تشکیل نیتريت، نیتريت و اسیدی شدن محلول کاهش یافت. این گونه‌های شیمیایی در نتیجه کاهش دادن اسیدیته موجب فعالیت ضد میکروبی آب پلاسمایی می‌شوند (Ma et al., 2015; Xu et al., 2016) کمترین مقدار اسیدیته در محلول با غلظت ۰/۵ درصد تحت پلازما، ۲/۱۴ بود. وارگناو و همکاران (Wargenau et al., 2011) بیان کردند که pH پایین می‌تواند بر خواص الکترواستاتیکی اسپورهای قارچ تأثیر بگذارد، یعنی احتمالاً سبب پراکنده شدن اسپورها در حجم مایع شده، که می‌تواند بر

نتایج طیف‌سنجی نشر نوری

طیف نشر نوری پلاسمای هوای اتمسفری اسپارک گذرا در محدوده ۲۵۰ تا ۹۰۰ نانومتر در شکل ۵ نشان داده شده است. مهم‌ترین خطوط طیفی ثبت‌شده شامل نیتروژن دو بار مثبت با طول‌موج‌های ۳۱۴، ۳۳۵، ۳۵۶، ۳۷۹ نانومتر، نیتروژن یک بار مثبت با طول‌موج‌های تابشی ۳۹۹ و ۳۹۰ نانومتر مشاهده گردید. همچنین طول‌موج تابشی از رادیکال‌های اکسیژن در خطوط ۶۶۵، ۷۷۷ و ۸۴۴ نانومتر نیز ثبت شد. فاکتورهای غیرفعال‌سازی که از طیف‌سنجی موردتوجه است شامل گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن مانند O، OH و O₃ رادیکال اتمی اکسیژن موثرترین عامل در توقف رشد اسپورها بود که توسط محققین دیگری نیز تایید شده است (Iseki et al., 2011; Yagy et al., 2016).

در فصل مشترک گاز-آب انجام می‌شود، است (Liu et al., 2010). در واقع pH پایین‌تر عمدتاً در نتیجه تولید اسید نیتریک از NO تولیدشده در پلاسما، است (Park, Ryu, Hong, Choi, & Uhm, 2012) با این حال، افزودن H₂O₂ باعث کاهش زمان غیرفعال‌شدن اسپورها شد (شکل ۲). در ارتباط با هدایت الکتریکی، این پارامتر فیزیکی به‌صورت خطی افزایش یافت، که افزایش آن در بالاترین زمان پلاسمادهی و غلظت محلول ۳۷۳ میکروزیمنس بر سانتی‌متر مشاهده شد. این بیان می‌کند که تجمع یون‌ها با افزایش زمان تیماردهی، افزایش یافت شکل ۴ (b).



شکل ۵- طیف‌سنجی نشر نوری پلاسمای هوا

Fig.5. Typical optical emission spectrum of air plasma

نشان داد که گونه‌های اکسیژن واکنشی نقش مهمی در غیرفعال‌کردن سلول‌های قارچی علاوه بر غلظت H₂O₂ داشتند. در نهایت، محلول ترکیبی H₂O₂ با غلظت ۱/۰ و ۵/۰ درصد با پلاسمای سرد می‌تواند به‌عنوان یک روش ضدعفونی کردن سازگار با محیط‌زیست برای شستشوی مرکبات معرفی شود.

مشارکت نویسندگان

عصمت برزنونی: جمع‌آوری داده‌ها، پردازش داده‌ها، تحلیل آماری، خدمات نرم‌افزاری، تصویرسازی نتایج، استخراج و تهیه متن اولیه، شبیه‌سازی کامپیوتری

نتیجه‌گیری

در حالت کلی با افزایش زمان پلاسمادهی، کاهش بار میکروبی در تیمارهای ترکیبی مشاهده شد. تفاوت معنی‌داری در اثر غیر فعال‌سازی اسپورها بین تیمارهای با و بدون پلاسما وجود داشت. با این حال، تیمار ترکیبی موثرتر از استفاده جداگانه از محلول پراکسید هیدروژن بود. محلول‌های H₂O₂ بدون افزایش توان ورودی دارای اثرات بازدارندگی بیشتری روی رشد اسپورها داشتند. در نتیجه، درمان ترکیبی پلاسمای فشار اتمسفر و H₂O₂ یک روش امیدوارکننده برای غیرفعال کردن قارچ پنی‌سیلیوم دیجیتاتوم بود. نتایج طیف‌سنجی

صادق خداویسی: مفهوم‌سازی، روش‌شناسی، شماره فنی

حسن صدرنیا: نظارت و مدیریت

فرشاد صحبت‌زاده: نظارت و مدیریت، مفهوم‌سازی، روش‌شناسی،

مشاوره فنی، ویرایش متن، شبیه‌سازی کامپیوتری

References

1. Bekeschus, S., Kolata, J., Winterbourn, C., Kramer, A., Turner, R., Weltmann, K., Bröker, B., & Masur, K. (2014). Hydrogen peroxide: A central player in physical plasma-induced oxidative stress in human blood cells. *Free Radical Research*, 48(5), 542-549. <https://doi.org/10.3109/10715762.2014.892937>
2. Bruggeman, P., & Schram, D. C. (2010). On OH production in water containing atmospheric pressure plasmas. *Plasma Sources Science and Technology*, 19(4). <https://doi.org/10.1088/0963-0252/19/4/045025>
3. Graves, D. B. (2012). The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 45(26), 263001. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/45/26/263001>
4. Hao, X., Mattson, A. M., Edelblute, C. M., Malik, M. A., Heller, L. C., & Kolb, J. F. (2014). Nitric oxide generation with an air operated non-thermal plasma jet and associated microbial inactivation mechanisms. *Plasma Processes and Polymers*, 11(11), 1044-1056. <https://doi.org/10.1002/ppap.201300187>
5. Iseki, S., Hashizume, H., Jia, F., Takeda, K., Ishikawa, K., Ohta, T., Ito, M., & Hori, M. (2011). Inactivation of Penicillium digitatum spores by a high-density ground-state atomic oxygen-radical source employing an atmospheric-pressure plasma. *Applied Physics Express*, 4(11), 116201. <https://doi.org/10.1143/APEX.4.116201>
6. Ito, M., Oh, J. S., Ohta, T., Shiratani, M., & Hori, M. (2018). Current status and future prospects of agricultural applications using atmospheric-pressure plasma technologies. *Plasma Processes and Polymers*, 15(2), 1700073. <https://doi.org/10.1002/ppap.201700073>
7. Ito, M., Ohta, T., & Hori, M. (2012). Plasma agriculture. *Journal of the Korean Physical Society*, 60, 937-943. <https://doi.org/10.3938/jkps.60.937>
8. Lee, H. W., Lee, H., Kang, S., Kim, H., Won, I., Jeon, S., & Lee, J. (2013). Synergistic sterilization effect of microwave-excited nonthermal Ar plasma, H₂O₂, H₂O and TiO₂, and a global modeling of the interactions. *Plasma Sources Science and Technology*, 22(5), 055.008. <https://doi.org/10.1088/0963-0252/22/5/055008>
9. Lee, K. N., Paek, K. H., Ju, W. T., & Lee, Y. H. (2006). Sterilization of bacteria, yeast, and bacterial endospores by atmospheric-pressure cold plasma using helium and oxygen. *Journal of Microbiology*, 44(3), 269-275.
10. Liu, F., Sun, P., Bai, N., Tian, Y., Zhou, H., Wei, S., Zhou, Y., Zhang, J., Zhu, W., & Becker, K. (2010). Inactivation of bacteria in an aqueous environment by a direct current, cold atmospheric pressure air plasma microjet. *Plasma Processes and Polymers*, 7(3-4), 231-236. <https://doi.org/10.1002/ppap.200900070>
11. Liu, K., Wang, C., Hu, H., Lei, J., & Han, L. (2016). Indirect treatment effects of water-air MHCD jet on the inactivation of Penicillium Digitatum suspension. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 44(11), 2729-2737. <https://doi.org/10.1109/TPS.2016.2608926>
12. Liu, Z., Zhou, C., Liu, D., He, T., Guo, L., Xu, D., & Kong, M. G. (2019). Quantifying the concentration and penetration depth of long-lived RONS in plasma-activated water by UV absorption spectroscopy. *AIP Advances*, 9(1), 015014. <https://doi.org/10.1063/1.5037660>
13. Ma, R., Wang, G., Tian, Y., Wang, K., Zhang, J., & Fang, J. (2015). Non-thermal plasma-activated water inactivation of food-borne pathogen on fresh produce. *Journal of Hazardous Materials*, 300, 643-651. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.07.061>
14. Maeda, Y., Igura, N., Shimoda, M., & Hayakawa, I. (2003). Bactericidal effect of atmospheric gas plasma on Escherichia coli K12. *International Journal of Food Science and Technology*, 38(8), 889-892.
15. Merenyi, G., Lind, J., Naumov, S., & Sonntag, C. V. (2010). Reaction of ozone with hydrogen peroxide (peroxone process): a revision of current mechanistic concepts based on thermokinetic and quantum-chemical considerations. *Environmental Science & Technology*, 44(9), 3505-3507. <https://doi.org/10.1021/es100277d>
16. Misra, N., Kaur, S., Tiwari, B. K., Kaur, A., Singh, N., & Cullen, P. (2015). Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of wheat flour. *Food Hydrocolloids*, 44, 115-121. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.08.019>
17. Misra, N., Schlüter, O., & Cullen, P. (2016). Plasma in food and agriculture. In *Cold plasma in food and agriculture* (pp. 1-16). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801365-6.00001-9>
18. Naïtali, M., Kamgang-Youbi, G., Herry, J. M., Bellon-Fontaine, M. N., & Brisset, J. L. (2010). Combined effects of long-living chemical species during microbial inactivation using atmospheric plasma-treated water. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(22), 7662-7664. <https://doi.org/10.1128/AEM.01615-10>
19. NOP. (2003). *National Organic Program, Federal Register*
20. Ohta, T., Ito, M., Iseki, S., & Hori, M. (2010). *Inactivation mechanism of Penicillium digitatum using atmospheric pressure plasma*. TENCON 2010-2010 IEEE Region 10 Conference. <https://doi.org/10.1109/TENCON.2010.5685967>

21. Palou, L., Usall, J., Smilanick, J. L., Aguilar, M. J., & Vinas, I. (2002). Evaluation of food additives and low toxicity compounds as alternative chemicals for the control of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on citrus fruit. *Pest Management Science*, 58(5), 459-466. <https://doi.org/10.1002/ps.477>
22. Parish, M., Beuchat, L., Suslow, T., Harris, L., Garrett, E., Farber, J., & Busta, F. (2003). Methods to reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 161-173. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00033.x>
23. Park, G., Ryu, Y. H., Hong, Y. J., Choi, E. H., & Uhm, H. S. (2012). Cellular and molecular responses of *Neurospora crassa* to non-thermal plasma at atmospheric pressure. *Applied Physics Letters*, 100(6), 063703. <https://doi.org/10.1063/1.3684632>
24. Puligundla, P., Lee, T., & Mok, C. (2018). Effect of intermittent corona discharge plasma treatment for improving microbial quality and shelf life of kumquat (*Citrus japonica*) fruits. *LWT*, 91, 8-13. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.019>
25. Shen, J., Tian, Y., Li, Y., Ma, R., Zhang, Q., Zhang, J., & Fang, J. (2016). Bactericidal effects against *S. aureus* and physicochemical properties of plasma activated water stored at different temperatures. *Scientific Reports*, 6(1), 28505. <https://doi.org/10.1038/srep28505>
26. Smilanick, J., Brown, G., & Eckert, J. (2006). The biology and control of postharvest diseases. *Fresh Citrus Fruits*, 339-396.
27. Suslow, T. (1997). Postharvest Chlorination: Basic Properties & Key Points for Effective Distribution.
28. Timoshkin, I. V., Maclean, M., Wilson, M. P., Given, M. J., MacGregor, S. J., Wang, T., & Anderson, J. G. (2012). Bactericidal effect of corona discharges in atmospheric air. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 40(10), 232. <https://doi.org/10.1109/TPS.2012.2193621>
29. Traylor, M. J., Pavlovich, M. J., Karim, S., Hait, P., Sakiyama, Y., Clark, D. S., & Graves, D. B. (2011). Long-term antibacterial efficacy of air plasma-activated water. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 44(47), 472001. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/44/47/472001>
30. Van Gils, C., Hofmann, S., Boekema, B., Brandenburg, R., & Bruggeman, P. (2013). Mechanisms of bacterial inactivation in the liquid phase induced by a remote RF cold atmospheric pressure plasma jet. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 46(17), 175203. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/46/17/175203>
31. Wargenau, A., Fleißner, A., Bolten, C. J., Rohde, M., Kampen, I., & Kwade, A. (2011). On the origin of the electrostatic surface potential of *Aspergillus niger* spores in acidic environments. *Research in Microbiology*, 162(10), 1011-1017. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.07.006>
32. Wu, S., Zhang, Q., Ma, R., Yu, S., Wang, K., Zhang, J., & Fang, J. (2017). Reactive radical-driven bacterial inactivation by hydrogen-peroxide-enhanced plasma-activated-water. *The European Physical Journal Special Topics*, 226(13), 2887-2899. <https://doi.org/10.1140/epjst/e2016-60330-y>
33. Xu, D., Wang, B., Xu, Y., Chen, Z., Cui, Q., Yang, Y., Chen, H., & Kong, M. G. (2016). Intracellular ROS mediates gas plasma-facilitated cellular transfection in 2D and 3D cultures. *Scientific Reports*, 6(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/srep27872>
34. Yagyu, Y., Hatayama, Y., Hayashi, N., Mishima, T., Nishioka, T., Sakudo, A., Ihara, T., Ohshima, T., Kawasaki, H., & Suda, Y. (2016). Direct plasma disinfection of green mold spore on citrus by atmospheric pressure dielectric barrier discharge for agricultural applications. *Transactions of the Materials Research Society of Japan*, 41(1), 127-130. <https://doi.org/10.14723/tmrsj.41.127>