

ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΩΝ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ



Κινητική μελέτη ενεργοποίησης νερού με ψυχρό πλάσμα για εξυγίανση προϊόντων φρεσκοκομμένων λαχανικών



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΞΑΝΘΟΥ ΖΑΧΑΡΟΥΛΑ-ΜΑΡΙΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΤΑΟΥΚΗΣ ΠΕΤΡΟΣ

ΑΘΗΝΑ 2018

*Στους γονείς μου, Νίκο και Βίκυ,
και τα αδέρφια μου, Μάκη και Εύα*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε παράλληλα στο Εργαστήριο Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου και στο Εργαστήριο Νανοτεχνολογίας Πλάσματος στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «Δημόκριτος». Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον επιβλέποντα καθηγητή κ. Πέτρο Ταούκη για την εμπιστοσύνη με την οποία με περιέβαλε και για την πολύτιμη και ουσιαστική καθοδήγηση που μου προσέφερε.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Ευάγγελο Γογγολίδη Διευθυντή του Εργαστηρίου Νανοτεχνολογίας Πλάσματος στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «Δημόκριτος», καθώς και όλη την ομάδα του εργαστηρίου και ιδιαίτερα τον μεταδιδακτορικό ερευνητή Παναγιώτη Δημητρακέλλη για την ουσιαστική βοήθεια που μου προσέφεραν. Ιδιαίτερος θα ήθελα να ευχαριστήσω τη μεταδιδακτορική ερευνήτρια Μαριάννα Γιαννόγλου του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου για τη συνεχή καθοδήγηση και υποστήριξη της. Το αμείωτο ενδιαφέρον της και οι χρήσιμες συμβουλές της ήταν καθοριστικές για την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας. Οφείλω ακόμη ένα μεγάλο ευχαριστώ στον ερευνητή Γιώργο Κατσαρό του Ινστιτούτου Τεχνολογίας Αγροτικών Προϊόντων για τις συμβουλές, την υποστήριξη και τη βοήθεια που μου προσέφερε. Ακόμα, θερμά ευχαριστώ σε όλη την ομάδα του Εργαστηρίου Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου.

Τέλος, ευχαριστώ βαθιά την οικογένειά μου και τους καλούς μου φίλους για τη στήριξη και τη συμπαράσταση σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Ζαχαρούλα-Μαρία Ξανθού

Αθήνα 2018

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αποτελεσματική διαχείριση του μικροβιακού φορτίου σε έτοιμες προς κατανάλωση φρεσκοκομμένες σαλάτες, που είναι συνήθως και αναπόφευκτα υψηλό λόγω των συνθηκών και των πρακτικών συγκομιδής και χειρισμού καθώς και των ευνοϊκών για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών τιμών pH και a_w , αποτελεί σημαντικό ζήτημα για τη βιομηχανία. Οι πρακτικές καθαρισμού και απολύμανσης που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος, όπως η χρήση χλωρίου, υπεροξειδίου, υπεροξικού οξέος και όζοντος, έχουν διαφορετικά πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα σχετικά με την απόδοση και τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις. Για το λόγο αυτό, απαιτείται η διερεύνηση εναλλακτικών μεθόδων για αποτελεσματική και φιλική προς το περιβάλλον απολύμανση. Η εφαρμογή ψυχρού ατμοσφαιρικού πλάσματος (Cold Atmospheric Plasma-CAP), ενός χαμηλού ιονισμού αέριο σε θερμοκρασία δωματίου, αποτελεί μια μη θερμική αναδυόμενη αντιμικροβιακή τεχνολογία με μεγάλες δυνατότητες εφαρμογής στη βιομηχανία τροφίμων, ειδικά για ευαίσθητα στη θερμότητα προϊόντα.

Σκοπός της μελέτης ήταν η έμμεση χρήση ψυχρού ατμοσφαιρικού πλάσματος ως μικροβιακό απολυμαντικό μέσω της παραγωγής ενεργοποιημένου νερού (Plasma Activated Water-PAW) και χρήσης του ως μέσο έκπλυσης έτοιμων προς κατανάλωση φρεσκοκομμένων σαλατών. Για το λόγο αυτό στην παρούσα διπλωματική πραγματοποιήθηκε μελέτη παραμέτρων ενεργοποίησης επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας, μελέτη της διατηρησιμότητας του ενεργοποιημένου νερού κατά την αποθήκευσή του σε διαφορετικές θερμοκρασίες, εύρεση των βέλτιστων συνθηκών ενεργοποίησης του νερού με ψυχρό πλάσμα και τέλος μελέτη και σύγκριση παραμέτρων ποιότητας έτοιμων προς κατανάλωση φρεσκοκομμένων φύλλων ρόκας μετά από έκπλυσή τους με υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων.

Στο πρώτο σκέλος, πραγματοποιήθηκε μελέτη παραμέτρων ενεργοποίησης απεσταγμένου νερού επεξεργασμένου με χρήση ψυχρού ατμοσφαιρικού πλάσματος σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας. Βασικός στόχος κατά τον πειραματικό σχεδιασμό ήταν η επιλογή κατάλληλης πηγής και σύνθεσης, καθώς και παραμέτρων για την παραγωγή του ψυχρού ατμοσφαιρικού πλάσματος. Η επεξεργασία του νερού πραγματοποιήθηκε με χρήση τζετ πλάσματος (εφαρμοζόμενη τάση 3-4 kV, συχνότητα 85 kHz, ισχύς 60%) και αέριο He. Το νερό επεξεργάστηκε με ψυχρό πλάσμα σε έξι χρόνους από 1 - 20 min και σε τρεις διαφορετικές ροές αερίου He (1 – 5 L/min flow rate). Σε όλες τις συνθήκες επεξεργασίας μετρήθηκαν στο νερό, η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H_2O_2) και των νιτρωδών/νιτρικών ιόντων (NO_2^- / NO_3^-), το pH και η αγωγιμότητα των δειγμάτων. Βάσει των αποτελεσμάτων, η μείωση της ροής He, οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρικών/νιτρωδών ιόντων και της αγωγιμότητας και επιτεύχθηκαν χαμηλότερες τιμές pH. Η μεταβολή της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου ως προς το χρόνο επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα περιγράφηκε με εφαρμογή σιγμοειδούς συνάρτησης, η μεταβολή του pH περιγράφηκε με χρήση λογαριθμικής συνάρτησης και της αγωγιμότητας με χρήση γραμμικής συνάρτησης. Με βάση τα αποτελέσματα αναπτύχθηκε μαθηματικό μοντέλο το οποίο συσχετίζει τη μεταβολή της αγωγιμότητας του νερού με τη ροή του αερίου He και το χρόνο επεξεργασίας. Με εφαρμογή του μοντέλου υπολογίστηκαν οι προβλεπόμενες τιμές αγωγιμότητας σε κάθε συνθήκη οι οποίες φάνηκε να συσχετίζονται πολύ καλά με τις

πειραματικές τιμές (συντελεστής συσχέτισης 0.951-0.964). Μετά από αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της μελέτης επιλέχθηκαν ως βέλτιστες συνθήκες ενεργοποίησης του νερού με χρήση ψυχρού πλάσματος :Χρόνος: 15 min, Ροή: 1 L/min, Όγκος Νερού προς Ενεργοποίηση: 25 mL . Σε αυτές τις συνθήκες, στο ενεργοποιημένο νερό μετρήθηκαν η συγκέντρωση του H_2O_2 $28.5 \cdot 10^{-5}$ M, η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων $8.28 \cdot 10^{-5}$ g/mL, η συγκέντρωση των νιτρωδών $7.1 \cdot 10^{-6}$ g/mL, το pH 4.1 και η αγωγιμότητα 41 μ S.

Στο δεύτερο σκέλος, διερευνήθηκε η διατηρησιμότητα του ενεργοποιημένου νερού, επεξεργασμένου σε όλες τις συνθήκες επεξεργασίας, σε θερμοκρασίες αποθήκευσης 5 και 15°C. Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου, των νιτρικών και των νιτρωδών ιόντων, το pH και η αγωγιμότητα των δειγμάτων ενεργοποιημένου νερού μετρήθηκαν για διάστημα 0-15 ημερών. Βάσει των αποτελεσμάτων η συγκέντρωση του υπεροξειδίου παρουσίασε εκθετική μείωση με το χρόνο αποθήκευσης. Η επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στο ρυθμό μείωσης της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου μελετήθηκε μέσω υπολογισμού των ενεργειών ενεργοποίησης (E_a) και φάνηκε να παρουσιάζει αύξηση με αύξηση του χρόνου επεξεργασίας του νερού και της ροής του αερίου (7.4-70.7 kJ). Υψηλότερη διατήρηση της συγκέντρωσης των υπεροξειδίων εμφάνισε νερό επεξεργασμένο σε ροή αερίου He 1 L/min και για χρόνο επεξεργασίας 20 min, με μείωση της συγκέντρωσης κατά 8% σε διάστημα 12 ημερών. Αντιθέτως η μείωση στη συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων ήταν πολύ μεγαλύτερη (40-50%) με τη θερμοκρασία αποθήκευσης, τη ροή και το χρόνο επεξεργασίας να μη φαίνεται να εμφανίζουν επίδραση. Παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρωδών ιόντων κατά την πρώτη ημέρα και στη συνέχεια ακολούθησε μείωση της συγκέντρωσης και σταθεροποίηση μετά από 12 ημέρες. Οι χαμηλότερες τιμές pH και η αύξηση της αγωγιμότητας που παρατηρήθηκαν κατά την αποθήκευση πιθανόν να οφείλονται στη δημιουργία υπεροξυνιτρίδιου και στην αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρωδών κατά την πρώτη μέρα αποθήκευσης. Η καλύτερη διατήρηση του νερού που επεξεργάστηκε για 15 min με ροή αερίου 1 L/min ήταν ακόμα μία παράμετρος που συντέλεσε στην επιλογή αυτών των συνθηκών για την πραγματοποίηση της έκπλυσης των φύλλων ρόκας με νερό που ενεργοποιήθηκε υπό αυτές τις συνθήκες.

Στο τελευταίο σκέλος της διπλωματικής εργασίας, πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη της αποτελεσματικότητας της επεξεργασίας φύλλων ρόκας, με έκπλυση με ενεργοποιημένο νερό που αποθήκευτηκε για 7 ημέρες στους 5°C, με ενεργοποιημένο νερό που παράχθηκε την ίδια ημέρα, με διάλυμα υπεροξειδίου ίδιας συγκέντρωσης με το ενεργοποιημένο νερό και με στείρο απεσταγμένο νερό. Η αξιολόγηση έγινε μέσω μικροβιακών αναλύσεων και μετρήσεων υφής, χρώματος και pH των φύλλων ρόκας. Βάσει των αποτελεσμάτων, το στείρο απεσταγμένο νερό και το διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου δεν επέφεραν σημαντική μείωση του ολικού μικροβιακού φορτίου (0.2–0.3 logCFU/g). Σε αντίθεση, φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό και το ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών οδήγησαν σε αρκετά ικανοποιητική μείωση του ολικού μικροβιακού φορτίου. Η αύξηση του χρόνου έκπλυσης με το φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό οδήγησε σε μείωση 1.5 logCFU/g του ολικού μικροβιακού φορτίου και σε μείωση 2.5, 1.0 και 0.9 logCFU/g των ψευδομονάδων, των ζυμών και μυκήτων και των γαλακτικών βακτηρίων αντίστοιχα. Δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή του χρώματος και της υφής των φύλλων και το pH των φύλλων παρέμεινε σταθερά στην τιμή 6.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας τεκμηριώνουν την δυνατότητα της έμμεσης εφαρμογής της καινοτόμου τεχνολογίας ψυχρού πλάσματος στον τομέα των τροφίμων και ειδικά στην παραγωγική διαδικασία ιδιαίτερα ευαίσθητων έτοιμων προς κατανάλωση φρεσκοκομμένων φυτικών προϊόντων.

Kinetic study of the activation of water with cold atmospheric plasma and its applicability as sanitizer of fresh cut salad products

Summary

Effective management of microbial load in ready-to-eat fresh cut salads - that is usually high due to harvest and handling conditions and practices - is an important issue for the industry. Currently employed cleaning and disinfecting practices with agents such as chlorine, peracetic or performic acid and ozone, have different advantages and disadvantages with regards effectiveness and environmental impact. For this reason, alternative methods need to be investigated for efficient and environment-friendly decontamination. Cold atmospheric plasma (CAP), weakly ionized gas at near room temperature, is a non-thermal emerging antimicrobial technology with great potential for application in the food industry, especially for heat sensitive products.

The aim of this study was the indirect use of cold atmospheric plasma as microbial disinfectant, by producing activated water (Plasma Activated Water-PAW), to be used as ready-to-eat fresh cut salads washing agent. This thesis investigates the activation parameters of cold water treated at various processing conditions, its sustainability during storage at different temperatures, the selection of the optimum process conditions for water activation with cold plasma and finally its application as disinfectant in ready-to-eat fresh cut rocket leaves. The quality parameters of the leaves immersed in aqueous solutions of different treatments were evaluated.

In the first part, a study of the parameters of activation of distilled water treated using cold atmospheric plasma under different processing conditions was carried out. The main objective during the experimental design was the selection of appropriate source and configuration, as well as parameters for the production of cold atmospheric plasma. The water treatment was performed using plasma jet (applied voltage 3-4 kV, frequency 85 kHz, power 60%) and helium gas. The water was treated with cold plasma at six different durations varying from 1 - 20 min and three different helium gas flow rates (1 - 5 L / min flow rate). Under all processing conditions the concentration of hydrogen peroxide (H_2O_2) and nitrate / nitrite (NO_2^- / NO_3^-), pH and conductivity of the water samples were measured. Based on the results, the reduction of the helium gas flow rate led to an increase in the nitrate / nitrite concentration and conductivity, and lower pH values were achieved. The change of peroxide concentration relative to the cold plasma water treatment time was described by applying a sigmoidal function, the change of pH was described using a logarithmic function and the change of conductivity was described using a linear function. Based on the results, a mathematical model was developed that correlates the change in water conductivity with the helium gas flow rate and the treatment time. By applying the model the predicted conductivity values in every treatment condition were estimated to correlate very well with the experimental values (correlation coefficient 0.951-0.964). After evaluation of the results, the optimal conditions of water activation using cold plasma were selected: Time: 15 min, Flow Rate: 1 L / min, Water Volume to Activate: 25 mL. Under these conditions, the H_2O_2

concentration, the concentration of nitrate and nitrite ions concentration, the pH value and the conductivity of activated water were found to be 28.5×10^{-5} M, 8.28×10^{-5} g / mL, 7.1×10^{-6} g / mL, 4.1 and 41 μ S respectively.

In the second part, the sustainability of the activated water, processed in every processing conditions, was investigated at storage temperatures of 5 and 15 ° C. The concentration of peroxide, nitrates and nitrite ions, pH and conductivity of the activated water samples were measured over 0-15 days. Based on the results, the peroxide concentration exhibited an exponential decrease with storage time. The effect of storage temperature on the reduction rate of peroxide concentration was studied by calculating the activation energies (E_a) and appeared to increase with increasing water treatment time and gas flow rate (7.4-70.7 kJ). A higher retention of the peroxide concentration appeared in the water treated with 1 L / min helium gas flow rate for 20 minutes, with an 8% concentration reduction over 12 days. In contrast, the reduction in nitrite concentration was much higher (40-50%) with storage temperature, flow rate and treatment time seeming to not have any effect. An increase in the nitrate concentration on the first day was observed, followed by a decrease in concentration and stabilization after 12 days. The lower pH values and the increase in conductivity observed during storage may be due to the formation of peroxyxynitrite and the increase in nitrate concentration on the first day of storage. The greater sustainability of the water treated for 15 minutes with a 1 L / min gas flow rate was another parameter that contributed to the selection of these conditions, so that the immersion of rocket leaves will be performed in water treated in these conditions.

In the last part of the thesis, a comparative study of the effectiveness of rocket leaves processing by rinsing with activated water stored for 7 days at 5 ° C, with activated water produced on the same day, with a solution of peroxide of the same concentration as the activated water and with sterile distilled water was carried out. The evaluation was done through microbial, texture, color and pH analyses of the rocket leaves. Based on the results, the sterile distilled water and the peroxide solution did not led to a significant reduction in the total microbial load (0.2-0.3 logCFU / g). In contrast, freshly-produced activated water and activated water stored for 7 days resulted in a fairly satisfactory reduction in the total microbial load. Increasing immersion time in freshly-produced activated water resulted in a reduction of 1.5 logCFU / g in total microbial load and a decrease of 2.5, 1.0 and 0.9 logCFU / g of pseudomonas, yeasts and fungi and lactic bacteria, respectively. No change in the color and texture of the leaves was observed and the pH of the leaves remained at a constant value of 6.

In conclusion, the results of this thesis document the potentiality of the indirect application of the innovative cold plasma technology in the food sector and especially in the production process of particularly sensitive ready-to-eat fresh cut plant products.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	3
1.1 Θερμικές Μέθοδοι.....	3
1.1.1 Παστερίωση και Αποστείρωση.....	3
1.1.2 Μικροκύματα και Ραδιοσυχνότητες.....	4
1.1.3 Ωμική Θέρμανση.....	5
1.1.4 Μειονεκτήματα Θερμικών Μεθόδων.....	6
1.2 Μη Θερμικές Μέθοδοι	7
1.2.1 Υπερψηλή Υδροστατική Πίεση (High Hydrostatic Pressure – HP).....	8
1.2.2 Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (Pulsed Electric Fields – PEF).....	11
1.2.3 Ταλαντούμενα Μαγνητικά Πεδία (Oscillating Magnetic Fields – OMFs)	12
1.2.4 Υπεριώδες Παλμικό Φώς	13
1.2.5 Ακτινοβολία (Irradiation)	14
1.2.6 Τεχνολογία Εμποδίων (Hurdle Technology)	15
1.2.7 Τεχνολογία Υπερήχων.....	16
1.3 Συνδυασμός Θερμικών και Μη Θερμικών Τεχνολογιών	17
2 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΨΥΧΡΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΩΣ ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ.....	19
2.1 Πλάσμα	21
2.2 Ιστορία	22
2.3 Το Ψυχρό Πλάσμα στην Τεχνολογία Τροφίμων	23
2.4 Πηγές Ατμοσφαιρικού Μη Θερμικού Πλάσματος (ATMOSPHERIC NONTHERMAL PLASMA – ANTP)	26
2.4.1 Εκκένωση Κορώννας.....	26
2.4.2 Τζετ Πλάσματος Ατμοσφαιρικής Πίεσης	27
2.4.3 Εκκένωση Microhollow Καθόδων.....	28
2.4.4 Εκκένωση Διηλεκτρικού Φράγματος.....	29
2.5 Ενεργοποίηση Νερού με Πλάσμα (Plasma Activated Water – PAW).....	32
2.5.1 Παραγωγή PAW και η Χημεία του	32
2.5.2 Φυσικοχημικές Ιδιότητες.....	34
2.5.3 Εφαρμογές του Ενεργοποιημένου Νερού.....	39
2.5.4 Περιορισμοί στη χρήση του PAW	45
2.5.5 Μελλοντικές Πτυχές του PAW	46
3 ΦΡΕΣΚΟΚΟΜΜΕΝΑ ΠΡΟΙΟΝΤΑ	47

3.1 Εισαγωγή.....	47
Βιομηχανία.....	47
Φρεσκοκομμένα Προϊόντα	47
Βελτιώσεις στην Παραγωγή.....	47
Ζήτηση.....	48
Βελτίωση των Ποιοτικών Χαρακτηριστικών	49
Βελτίωση της Διάρκειας Ζωής	49
Κανονισμός Ασφάλειας των Τροφίμων	50
3.2 Επισκόπηση της ευρωπαϊκής βιομηχανίας παραγωγής φρεσκοκομμένων προϊόντων	51
Ανάπτυξη και Στατιστικά.....	52
3.3 Παράγοντες Κινδύνου	54
3.4 Μικροβιολογία Φρεσκοκομμένων Προϊόντων	55
Συνολική Μικροχλωρίδα.....	56
Απολυμαντικά Μέσα	59
Υγιεινή	60
Μικροβιολογική αλλοίωση των Φρεσκοκομμένων Προϊόντων	63
Παθογόνοι Μικροοργανισμοί.....	67
3.5 Παραγωγική Διαδικασία Φρεσκοκομμένων Λαχανικών και HACCP	70
4 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	77
4.1. Παραγωγή Ψυχρού Πλάσματος και Ενεργοποίηση Νερού	77
4.1.1 Μέτρηση Υπεροξειδίου του Υδρογόνου	79
4.1.2 Μέτρηση Νιτρικών και Νιτρικών Ιόντων	80
4.1.3 Μέτρηση του pH.....	82
4.1.4 Μέτρηση Αγωγιμότητας	83
4.2 Μελέτη της Επίδρασης Ενεργοποιημένου με Ψυχρό Πλάσμα νερού και άλλων Μέσων Απολύμανσης στο Μικροβιακό Φορτίο και σε Ποιοτικά χαρακτηριστικά Φυλλώδους Σαλάτας Ρόκας.....	83
4.2.1 Έκπλυση με Ενεργοποιημένο Νερό και Μικροβιολογική Ανάλυση	84
4.2.2 Μέτρηση Χρώματος.....	85
4.2.3 Μέτρηση του pH.....	86
4.2.4 Ανάλυση υφής	86
5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	89
5.1 Κινητική μελέτη ενεργοποίησης νερού με εφαρμογή ψυχρού πλάσματος	89
5.1.1 Μελέτη μεταβολής της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής πλάσματος.....	89
5.1.2 Μελέτη της μεταβολής της συγκέντρωσης νιτρικών και νιτρικών ιόντων σε νερό συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής πλάσματος	91

5.1.3 Μελέτη μεταβολής του pH συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής πλάσματος	94
5.1.4 Μελέτη μεταβολής της αγωγιμότητας συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής πλάσματος ..	95
5.2 Κινητική μελέτη αντιστρεπτότητας ενεργοποιημένου νερού	98
5.2.1 Συγκέντρωση υπεροξειδίου κατά την αποθήκευση	98
5.2.2 Μελέτη της μεταβολής της συγκέντρωσης νιτρικών και νιτρωδών ιόντων επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού κατά την αποθήκευση	107
5.2.3 Τιμή pH ενεργοποιημένου νερού κατά την αποθήκευση	114
5.2.4 Αγωγιμότητα ενεργοποιημένου νερού κατά την αποθήκευση	117
5.3 Μελέτη της επίδρασης επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερό σε παραμέτρους ποιότητας φρεσκοκομμένης σαλάτας ρόκας	120
5.3.1 Μικροβιολογική Ανάλυση	120
5.3.2 Μελέτη της επίδρασης επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερό στην υφή, το χρώμα και το pH φύλλων ρόκας.....	125
6 ΣΥΝΟΨΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	127
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	131

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα προϊόντα από φρεσκοκομμένα λαχανικά και φρούτα είναι από τα πιο δημοφιλή προϊόντα στην αγορά τα τελευταία 30 χρόνια. Τα φρεσκοκομμένα προϊόντα ήταν πάντα δημοφιλή στους καταναλωτές λόγω των υπέροχων γεύσεων, της φυσικής θρεπτικής ποιότητας και της φρεσκάδας τους. Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά, μαζί με την πρόσθετη ευκολία, συνεχίζουν να οδηγούν στην αύξηση των πωλήσεων των φρεσκοκομμένων προϊόντων. Η Διεθνής Ένωση Φρεσκοκομμένων Προϊόντων (IFPA) ορίζει τα φρεσκοκομμένα προϊόντα ως "κάθε φρούτο ή λαχανικό ή συνδυασμός αυτού που έχει μεταλλαχτεί φυσικά από την αρχική του μορφή, αλλά παραμένει φρέσκο". Τα φρεσκοκομμένα προϊόντα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε μικροβιακές προσβολές εξαιτίας των αλλαγών που υφίστανται οι ιστοί κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Οι εργασίες επεξεργασίας, όπως κοπή και τεμαχισμός, όχι μόνο δίνουν ευκαιρίες μόλυνσης στους μικροοργανισμούς, αλλά και προκαλούν ζημιά στους ιστούς των φρούτων και των λαχανικών και στην κυτταρική δομή, με αποτέλεσμα τη διαρροή θρεπτικών και κυτταρικών υγρών. Σε αντίθεση με άλλους τύπους επεξεργασίας, όπως η κατάψυξη ή η κονσερβοποίηση, δε γίνεται θερμική επεξεργασία στα προϊόντα για τη μείωση των μικροβιακών πληθυσμών. Ο μόνος τρόπος ελέγχου του μικροβιακού πληθυσμού κατά τη διεργασία παραγωγής φρεσκοκομμένων φρούτων και λαχανικών είναι η έκπλυση με υδατικά διαλύματα αντιμικροβιακής δράσης, όπως είναι το χλωριωμένο, το οζονοποιημένο και το οξινισμένο νερό, αλλά και το διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου. Μία εναλλακτική λύση απολυμαντικού μέσου είναι και το ενεργοποιημένο νερό.

Η επεξεργασία τροφίμων με ψυχρό πλάσμα είναι μια νέα αναδυόμενη μη θερμική μέθοδος. Έχει δείξει δυνατότητες τόσο για στερεά όσο και για υγρά τρόφιμα. Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί αύξηση του αριθμού των επιστημονικών δημοσιεύσεων σχετικά με τις εξελίξεις στην επιστήμη του ψυχρού πλάσματος και τις εφαρμογές του για αποστείρωση εν γένει και ειδικότερα των τροφίμων. Ωστόσο η εφαρμογή ψυχρού πλάσματος σε τρόφιμο μπορεί να είναι και έμμεση με ενεργοποίηση του νερού με ψυχρό πλάσμα. Το ενεργοποιημένο νερό, το οποίο χαρακτηρίζεται από χαμηλές τιμές pH, υψηλές τιμές αγωγιμότητας και δυναμικού οξειδοαναγωγής καθώς επίσης περιέχει και δραστικά είδη οξυγόνου και αζώτου, θα μπορούσε να αποτελέσει εναλλακτική μέθοδο απολύμανσης των τροφίμων. Το πλεονέκτημα του ενεργοποιημένου νερού είναι ότι είναι εύκολο να εφαρμοστεί και γι'αυτό το λόγο μπορεί να αντικαταστήσει τις παραδοσιακές μεθόδους απολύμανσης που εφαρμόζονται μέχρι σήμερα. Η αποτελεσματικότητα της αντιμικροβιακής του δράσης οφείλεται στη συνεργιστική δράση των χαρακτηριστικών του που προαναφέρθηκαν.

Καθώς πρόκειται για μια νέα μέθοδο χρήζει περαιτέρω μελέτης. Γι'αυτό το λόγο στην παρούσα διπλωματική πραγματοποιήθηκε μελέτη παραμέτρων ενεργοποίησης επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας, μελέτη της διατηρησιμότητας του ενεργοποιημένου νερού κατά την αποθήκευσή του σε διαφορετικές θερμοκρασίες, εύρεση των βέλτιστων συνθηκών ενεργοποίησης του νερού με ψυχρό πλάσμα και τέλος μελέτη και σύγκριση παραμέτρων ποιότητας έτοιμων προς

κατανάλωση φρεσκοκομμένων φύλλων ρόκας μετά από έκπλυσή τους με υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων.

1 ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

1.1 Θερμικές Μέθοδοι

Οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενες και πλέον συμβατικές μέθοδοι επεξεργασίας των τροφίμων είναι θερμικές. Βασικότερος στόχος τους, είναι η επίτευξη της μέγιστης ασφάλειας και η ποιοτική σταθεροποίηση του τροφίμου, η οποία εξασφαλίζεται κυρίως με την καταστροφή των παθογόνων και αλλοιογόνων μικροοργανισμών και των σπορίων τους και με την απενεργοποίηση ενζύμων. Οι βασικότερες θερμικές μέθοδοι επεξεργασίας των τροφίμων συνοψίζονται παρακάτω.

1.1.1 Παστερίωση και Αποστείρωση

Η παστερίωση είναι ίσως η πιο διαδεδομένη θερμική διεργασία επεξεργασίας τροφίμων. Εφαρμόζεται σε υγρά τρόφιμα, τα οποία θερμαίνονται σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 100°C με σκοπό την καταστροφή των παθογόνων μικροοργανισμών (κυρίως σε τρόφιμα χαμηλής οξύτητας, όπως το γάλα) και σε κάποιες περιπτώσεις για την καταστροφή αλλοιογόνων μικροοργανισμών (κυρίως σε όξινα τρόφιμα). Ο βασικός εξοπλισμός της παστερίωσης είναι ένας εναλλάκτης θερμότητας ο οποίος θερμαίνει το υγρό τρόφιμο χρησιμοποιώντας ως μέσο θέρμανσης νερό ή ατμό.

Όταν στο τελικό τρόφιμο δεν πρέπει να υπάρχει κανένας μικροοργανισμός ή σπόριο (μηδενική ανοχή) τότε χρησιμοποιείται η αποστείρωση, η οποία πραγματοποιείται σε αρκετά υψηλή θερμοκρασία και για ένα αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Έτσι τα αποστειρωμένα τρόφιμα έχουν διάρκεια ζωής πάνω από έξι μήνες σε περιβαλλοντικές συνθήκες. Κλασσική διεργασία αποστείρωσης είναι αυτή της αποστείρωσης κονσερβοποιημένων τροφίμων. Σε μία σταθερή θερμοκρασία ο ρυθμός μείωσης των μικροοργανισμών είναι:

$$-\frac{dN}{dt} = kN \Rightarrow \ln\left(\frac{N}{N_{IT}}\right) = -kt \Rightarrow \log\left(\frac{N}{N_{IT}}\right) = -\frac{t}{D}$$

όπου N: ο αριθμός των ζώντων μικροοργανισμών σε χρόνο t

N_{IT} : ο αριθμός των ζώντων μικροοργανισμών σε χρόνο 0

k: η σταθερά του ρυθμού καταστροφής (s^{-1})

$D=2.303/k$: ο χρόνος θερμικού θανάτου ή ο χρόνος που απαιτείται για υποδεκαπλασιασμό του

πληθυσμού (s).

Ο χρόνος υποδεκαπλασιασμού D μειώνεται με αύξηση της θερμοκρασίας σύμφωνα με τη σχέση:

$$\log\left(\frac{D_1}{D_2}\right) = \frac{T_2 - T_1}{z}$$

όπου z: η σταθερά θερμικής αντίστασης του μικροοργανισμού (°C ή °F) (Ωραιοπούλου & Τσιμογιάννης, 2016).

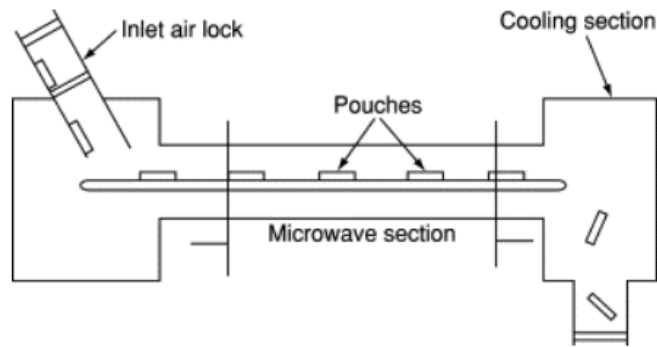
1.1.2 Μικροκύματα και Ραδιοσυχνότητες

Η επεξεργασία με μικροκύματα και ραδιοσυχνότητες (Microwave and Radio Frequency Processing) ενός τροφίμου αναφέρεται στη χρήση ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων συγκεκριμένων συχνοτήτων για την παραγωγή θερμότητας στο τρόφιμο μέσω ενός διηλεκτρικού κι ενός ιοντικού μηχανισμού. Πρόκειται για δύο εναλλακτικές θερμικές μεθόδους, οι οποίες προτιμώνται από τη συμβατική θέρμανση, επειδή απαιτείται λιγότερος χρόνος για την επίτευξη της επιθυμητής θερμοκρασίας της διεργασίας. Η θερμική επίδραση είναι πιθανά ο μοναδικός μηχανισμός που προκαλεί τον θάνατο των μικροοργανισμών κατά την εφαρμογή μικροκυμάτων σ' ένα τρόφιμο. Ενώ τα τελευταία 30 χρόνια έχουν αναφερθεί βιομηχανικά συστήματα παστερίωσης και αποστείρωσης τροφίμων με τη χρήση μικροκυμάτων, δεν είναι γνωστή η χρήση εμπορικών συστημάτων θέρμανσης με ραδιοσυχνότητες.

Η παστερίωση μικροκυμάτων έχει τα ακόλουθα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα (Swart et al., 2003):

1. Τα αμινοξέα μπορεί να τροποποιηθούν κατά τη διάρκεια της διαδικασίας.
2. Τα μικροκύματα επιτυγχάνουν την παστερίωση λόγω της παραγωγής θερμότητας. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου επί των μικροοργανισμών πρέπει να εξεταστεί περαιτέρω.
3. Τα παστεριωμένα προϊόντα με μικροκύματα διατηρούν τις ιδιότητες του φρέσκου προϊόντος.
4. Είναι μία τεχνολογία υψηλής απόδοσης και χαμηλής ενέργειας.
5. Ο σχεδιασμός του συστήματος είναι υψίστης σημασίας για την επιτυχή επεξεργασία.
6. Η αποτελεσματικότητα της θέρμανσης σχετίζεται με το σχεδιασμό και μπορεί να είναι περισσότερο ή λιγότερο ομοιόμορφη από τις συμβατικές μεθόδους.
7. Τα λειτουργικά έξοδα είναι υψηλά.
8. Τα μαγνητρόνια έχουν σχετικά μικρή διάρκεια ζωής και είναι απαραίτητα για τη μετατροπή της ηλεκτρικής ενέργειας σε ενέργεια μικροκυμάτων.
9. Ανάλογα με τον σχεδιασμό, μπορεί να απαιτείται μικρότερος χώρος στο εργοστάσιο.
10. Η ασφάλεια έχει μεγάλη σημασία, καθώς μπορεί να προκληθεί βλάβη στα μάτια και σε άλλους ιστούς που απορροφούν τα μικροκύματα.
11. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο μικροί στατικοί φούρνοι μικροκυμάτων (οικιακή παστερίωση) όσο και σύνθετες διατάξεις μικροκυμάτων με κινούμενες ζώνες (βιομηχανική εφαρμογή). Στην Εικόνα 1.1 παρουσιάζεται ένα σχηματικό διάγραμμα ενός συστήματος μικροκυμάτων για την επεξεργασία τροφίμων υπό πίεση.
12. Τα μικροκύματα δεν είναι απαραίτητα αποτελεσματικά για τη θανάτωση βακτηρίων, ειδικά σε προϊόντα με μεγάλο αριθμό πληθυσμών.

13. Είναι μία ιδανική μέθοδος για προϊόντα τα οποία είναι ευαίσθητα στη θερμότητα.



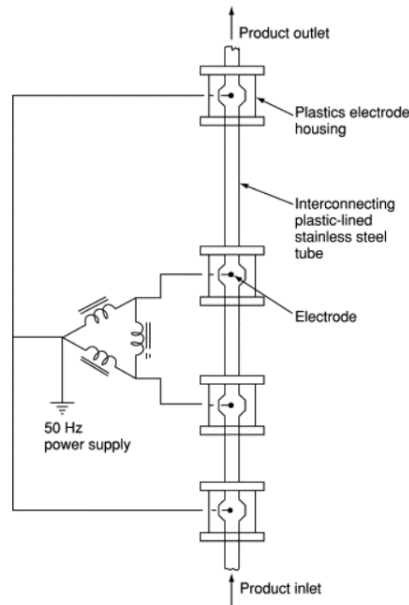
Εικόνα 1.1. Σχηματική απεικόνιση συστήματος μικροκυμάτων για επεξεργασία τροφίμων υπό πίεση (Swart et al., 2003)

1.1.3 Ωμική Θέρμανση

Τα τελευταία χρόνια οι βιομηχανίες έχουν υιοθετήσει τη μέθοδο της ωμικής θέρμανσης. Κατά την ωμική θέρμανση, ρεύμα διέρχεται μέσα από το τρόφιμο και λόγω της ηλεκτρικής του αντίστασης παράγεται εσωτερικά σε αυτό θερμότητα. Το ποσό της παραγόμενης θερμότητας εξαρτάται άμεσα από την ένταση του εισερχόμενου ρεύματος και την ηλεκτρική αγωγιμότητα του τροφίμου. Τα λιπαρά, τα σάκχαρα και τα σιρόπια δεν είναι επομένως κατάλληλα για να επεξεργαστούν με τη μέθοδο της ωμικής θέρμανσης σε αντίθεση με τα τρόφιμα που έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό και άλατα. (Jakób, et al., 2010; Swart et al., 2003)

Η παστερίωση με ωμική θέρμανση υπερτερεί έναντι της συμβατικής, γιατί είναι πιο αποτελεσματική όσον αφορά την καταστροφή των μικροβίων και την απενεργοποίηση των ενζύμων και μάλιστα σε πολύ μικρότερο χρόνο. Επιπλέον, λόγω του μικρού χρόνου επεξεργασίας τα θρεπτικά συστατικά των τροφίμων διατηρούνται σχεδόν αναλλοίωτα παράγοντας καλύτερης ποιότητας προϊόντα. Τέλος, επειδή η παροχή θερμότητας στο τρόφιμο είναι πολύ γρήγορη και ομοιόμορφη, υπάρχει ενεργειακή οικονομία γεγονός που καθιστά την ωμική θέρμανση μια τεχνολογία αρκετά φιλική προς το περιβάλλον (Darvishi et al., 2012; Jakob et al, 2010).

Ο ωμικός θερμαντήρας (Εικόνα 1.2) παρέχει μια εναλλακτική λύση για σωληνοειδείς εναλλάκτες θερμότητας για την επεξεργασία ιξωδών και σωματιδιακών τροφίμων. Ο σχεδιασμός ενός ωμικού θερμαντήρα βασίζεται στην αρχή ότι παράγεται ηλεκτρικό δυναμικό σε μια κινούμενη στήλη προϊόντος. Για λόγους ασφαλείας, τα ηλεκτρόδια εισόδου και εξόδου της στήλης είναι γειωμένα.



Εικόνα 1.2. Σχηματική απεικόνιση ωμικού θερμαντήρα (Swart et al., 2003)

Η στήλη του θερμαντήρα είναι διατεταγμένη κατά τέτοιο τρόπο ώστε να εμφανίζεται ανοδική ροή στη στήλη, ενώ το προϊόν θερμαίνεται προοδευτικά στην απαιτούμενη θερμοκρασία. Η αντίθλιψη διατηρείται σταθερά σε 1 bar όταν θερμαίνονται τα προϊόντα μέχρι τους 90 °C, αλλά απαιτείται πίεση 4 bar μέχρι τη μέγιστη θερμοκρασία των 140 °C. Η αντίθλιψη ελέγχεται με ρύθμιση της πίεσης στην επιφάνεια του προϊόντος σε μια προθερμασμένη δεξαμενή χρησιμοποιώντας αποστειρωμένο πεπιεσμένο αέρα (Swart et al., 2003).

Η τεχνολογία ωμικής θέρμανσης προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών μεθόδων επεξεργασίας. Αυτά είναι (Swart et al., 2003):

1. η ικανότητα χειρισμού σωματιδιακών τροφίμων που περιέχουν σωματίδια μεγέθους 25 mm³,
2. η απουσία κινούμενων μερών (εξαιρείται η αντλία τροφοδοσίας), η οποία μπορεί να βλάψει τα ευαίσθητα στη διάτμηση τρόφιμα,
3. την ικανότητα να θερμαίνουν τα τρόφιμα σε συνεχή ροή χωρίς την ανάγκη για οποιεσδήποτε επιφάνειες μεταφοράς θερμότητας,
4. σημαντικά μειωμένος κίνδυνος ρύπανσης,
5. η παραγωγή θερμότητας στα στερεά του προϊόντος χωρίς να εξαρτάται η θερμική αγωγιμότητα από τα υγρά,
6. την απουσία θορύβου κατά τη διάρκεια της λειτουργίας,
7. χαμηλό κόστος συντήρησης,
8. την ευκολία ελέγχου και την άμεση εκκίνηση ή απενεργοποίηση.

1.1.4 Μειονεκτήματα Θερμικών Μεθόδων

Μέθοδοι όπως αυτές που παρουσιάστηκαν βασίζονται στην αύξηση της θερμοκρασίας. Ωστόσο, με την επίτευξη υψηλών θερμοκρασιών, υπάρχουν ανεπιθύμητες δράσεις που

ευνοούνται και επιταχύνονται, υποβαθμίζοντας την ποιότητα του τροφίμου. Στον όρο ποιότητα συμπεριλαμβάνονται τόσο τα οργανοληπτικά του χαρακτηριστικά (οσμή, γεύση, χρώμα), που αποτελούν σημαντικό κριτήριο των καταναλωτών, όσο και τα συστατικά του, όπως για παράδειγμα βιταμίνες και πρωτεΐνες. Φυσικά, οι συνθήκες θερμικής επεξεργασίας που χρησιμοποιούνται, επιδιώκουν τη μεγαλύτερη δυνατή ελαχιστοποίηση των ανεπιθύμητων μεταβολών, επιτυγχάνοντας ταυτόχρονα τον έλεγχο της μικροβιακής κατάστασης και της ενζυμικής ενεργότητας του τροφίμου. Για την εφαρμογή της απαιτούμενης θερμικής επεξεργασίας, λαμβάνονται υπόψη τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εκάστοτε τροφίμου, όπως η ενεργότητα, το pH, το νερό και τα άλλα συστατικά του.

Με τη θερμική επεξεργασία, επιφέρονται μεταβολές στη δομή των πρωτεϊνών, για παράδειγμα στο γάλα, χωρίς όμως απαραίτητα να μειώνεται η θρεπτική τους αξία. Όσον αφορά τις βιταμίνες, περισσότερο θερμοευαίσθητες εμφανίζονται οι Β1 και η C, ενώ η Β2 και οι λιποδιαλυτές βιταμίνες Α, D, Ε εμφανίζουν μεγαλύτερη σταθερότητα στις υψηλότερες θερμοκρασίες. Ακόμη, ευαίσθησια παρουσιάζουν και οι υδατάνθρακες, στους οποίους προκαλούνται αλλοιώσεις που επιδρούν στις ιδιότητες της διαλυτότητας, της υδρόλυσης και της ζελατινοποίησης του αμύλου. Οι υδατάνθρακες μαζί με τις πρωτεΐνες δημιουργούν αντιδράσεις καστανώσης παράγοντας μελανοιδίνες (Τζιά, 1999). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα και την αλλοίωση του χρώματος του τελικού προϊόντος αλλά των οργανοληπτικών του χαρακτηριστικών. Τέλος, όλες οι μεταβολές που προκαλούνται στα συστατικά του τροφίμου έχουν εμφανή επίδραση στο άρωμα και τη φυσική κατάσταση του.

1.2 Μη Θερμικές Μέθοδοι

Παραδοσιακά, τα περισσότερα διατηρημένα τρόφιμα επεξεργάζονται με θερμικές μεθόδους, όπου το τρόφιμο υποβάλλεται σε θερμοκρασία από 60°C έως 100°C για μερικά δευτερόλεπτα έως και λεπτά. Κατά την επεξεργασία αυτή μια μεγάλη ποσότητα ενέργειας μεταφέρεται στο τρόφιμο, η οποία μπορεί να διεγείρει ανεπιθύμητες αντιδράσεις σε αυτό, με αποτέλεσμα πιθανώς τη δημιουργία ανεπιθύμητων αλλαγών στο τρόφιμο καθώς και παραγωγή παραπροϊόντων που οδηγούν σε αλλοιώσεις.

Έτσι, αποτέλεσε βασική επιδίωξη, η εύρεση μεθόδων διατήρησης των τροφίμων με μη θερμικές μεθόδους, οι οποίες θα μείωναν την υποβάθμιση της ποιότητάς τους που προκαλείται από τις θερμικές. Κατά τις μη θερμικές μεθόδους, λοιπόν, η θερμοκρασία του τροφίμου παραμένει σε θερμοκρασίες αρκετά μικρότερες από εκείνες που επικρατούν στις θερμικές, καθώς επίσης και οι μεταβολές στις βιταμίνες, τα θρεπτικά συστατικά και το άρωμα είναι οι ελάχιστες δυνατές. Τέλος, λαμβάνεται ως προτέρημα αυτών, η χαμηλή κατανάλωση ενέργειας, δεδομένου ότι οι θερμοκρασίες κινούνται σε χαμηλότερες τιμές από εκείνες των θερμικών μεθόδων επεξεργασίας.

Στις μεθόδους της κατηγορίας αυτής, συμπεριλαμβάνονται μεταξύ άλλων, η υπερυψηλή υδροστατική πίεση (High Hydrostatic Pressure – HP), τα ταλαντούμενα μαγνητικά πεδία (Oscillating Magnetic Fields – OMF), τα υψηλής έντασης παλμικά ηλεκτρικά πεδία (High Intensity Pulsed Electric Fields), η χρήση έντονου υπεριώδους παλμικού φωτός (Intense UV-

Light Pulses), η ακτινοβολία (Irradiation), η χρήση χημικών και βιοχημικών και η τεχνολογία εμποδίου (Hurdle Technology). Οι προαναφερθείσες τεχνολογίες χρησιμοποιούνται τόσο για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών που υπάρχουν στα τρόφιμα όσο και για τη διατήρηση του τροφίμου.

Κάθε μια από τις μη θερμικές μεθόδους έχει συγκεκριμένες εφαρμογές όσον αφορά τον τύπο του τροφίμου που μπορεί να επεξεργαστεί. Για παράδειγμα, η HP, τα OMF, η χρήση αντιμικροβιακών ουσιών (χημικών και βιοχημικών), η εφαρμογή παλμικού φωτός και η τεχνολογία εμποδίου είναι χρήσιμες τόσο για υγρά όσο και για στερεά τρόφιμα, ενώ τα ηλεκτρικά παλμικά πεδία είναι πιο κατάλληλα για υγρά και η ακτινοβολία για στερεά τρόφιμα. Ακόμη, η χρήση παλμικού φωτός είναι πιο χρήσιμη στην επιφανειακή παστερίωση. Η ακτινοβολία, η χρήση παλμικού φωτός και το μαγνητικό πεδίο μπορούν να χρησιμοποιηθούν για επεξεργασία συσκευασμένων φαγητών, μειώνοντας τον κίνδυνο επιμόλυνσης του τροφίμου. Από τα παραπάνω παραδείγματα καταλαβαίνει κανείς, πως η χρήση των περισσότερων μεθόδων περιορίζεται κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, όπως αυτές του τροφίμου και η επιλογή της καταλληλότερης είναι απόρροια πολλών παραμέτρων.

1.2.1 Υπερυψηλή Υδροστατική Πίεση (High Hydrostatic Pressure – HP)

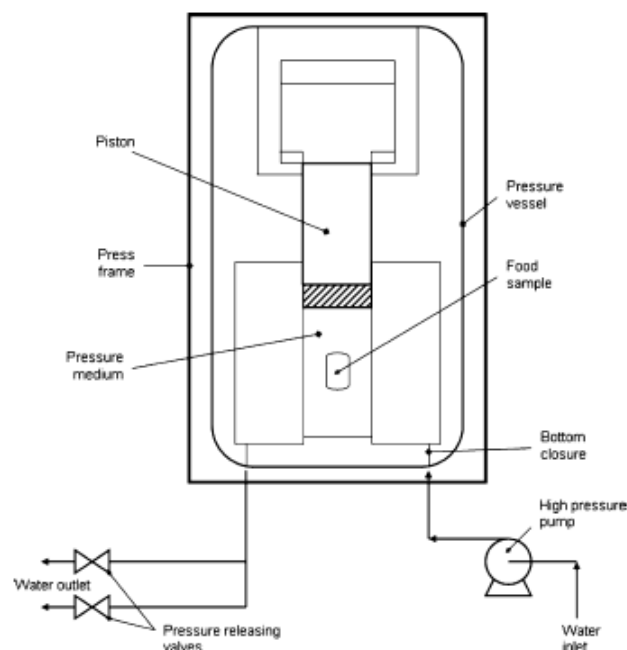
Σήμερα, υπάρχουν αρκετές καινοτόμες επιχειρήσεις που βασίζονται στην τεχνολογία της υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης, σε διάφορους τομείς, όπως η επεξεργασία κρέατος, πολτών και χυμών, θαλασσιών, γαλακτοκομικών προϊόντων, φρούτων και λαχανικών. Η μικροβιακή απενεργοποίηση και η διατήρηση είναι, τα κύρια χαρακτηριστικά που έχουν καταστήσει αποδεκτή την τεχνολογία αυτή στη βιομηχανία τροφίμων. Ωστόσο, η μέθοδος αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για πολλές ακόμα λειτουργίες, όπως η τροποποίηση της δομής των πρωτεϊνών σε προϊόντα που έχουν ως βάση τις πρωτεΐνες (όπως τα γαλακτοκομικά), ακόμα και την ψύξη, παγόλυση.

Η τεχνολογία αυτή χρησιμοποιούνταν παραδοσιακά στους τομείς παραγωγής κεραμικών, υπερκραμάτων και χάλυβα. Τα τελευταία χρόνια ερευνάται και από τη βιομηχανία τροφίμων. Γενικά η εφαρμογή της HP, το εύρος της οποίας κυμαίνεται από 100 - 1000 MPa ανάλογα με το τρόφιμο αλλά και άλλες παραμέτρους, έχει ως αποτέλεσμα την απενεργοποίηση των βακτηρίων και των ενζύμων, χωρίς ωστόσο να αλλοιώνεται η γεύση και το άρωμα του τροφίμου. Η Υπερυψηλή Υδροστατική Πίεση ουσιαστικά δίνει τη δυνατότητα ψυχρής παστερίωσης εντός της τελικής συσκευασίας και βρίσκει εφαρμογή σε ένα μεγάλο εύρος τροφίμων (αυγά, κρέας και προϊόντα κρέατος, γαλακτοκομικά, ψάρια και θαλασσινά, χυμοί φρούτων και λαχανικών, σάλτσες για ζυμαρικά και άλλα). Μπορεί να εφαρμοστεί ανεξαρτήτως της γεωμετρίας και του μεγέθους των τελικών προϊόντων. Η HP επιτυγχάνει την απενεργοποίηση μικροοργανισμών παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής με ταυτόχρονη διατήρηση βιταμινών, υφής και συστατικών γεύσης και αρώματος του τροφίμου. Η αρχή λειτουργίας έγκειται στη διάρρηξη των εξωτερικών τοιχωμάτων μικροοργανισμών εξαιτίας της πολύ μεγάλης υδροστατικής πίεσης, χωρίς όμως να αλλοιώνεται η εμφάνιση του τροφίμου εξαιτίας της μηχανικής πίεσης. Η κατασκευή ενός μηχανήματος υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης είναι μια εξειδικευμένη και πολύ ακριβή διαδικασία. Ένα τυπικό σύστημα ΥΠ αποτελείται από τα δοχεία υψηλής πίεσης (high pressure vessels) με τα

καλύμματά τους, το σύστημα που δημιουργεί την υδροστατική πίεση, ένα σύστημα ελέγχου της θερμοκρασίας, το οποίο συνήθως βρίσκεται μέσα στα δοχεία και ένα σύστημα ελέγχου όλου του συστήματος, που περιλαμβάνει τα απαραίτητα όργανα και συσκευές.

Ουσιαστικά, η υπερυψηλή υδροστατική πίεση είναι η εφαρμογή πίεσης ομοιόμορφα σε όλη την επιφάνεια του τροφίμου. Η συμπίεση του έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας του τροφίμου κατά περίπου 3°C ανά 100 MPa αν το μέσο μεταφοράς είναι το νερό, η οποία όμως σε ομοιογενή τρόφιμα είναι ομοιόμορφη όπως και η συμπίεση (Scott & Hui, 2004). Η πίεση αυτή μπορεί να δημιουργηθεί με διάφορους τρόπους όπως περιγράφεται παρακάτω :

- Άμεση συμπίεση, η οποία δημιουργείται με τη συμπίεση ενός μέσου μετάδοσης της πίεσης από ένα έμβολο μικρής διαμέτρου. Η μέθοδος αυτή επιτρέπει πολύ γρήγορη συμπίεση, όμως οι περιορισμοί που προκύπτουν από την δυναμική της υψηλής πίεσης ανάμεσα στο έμβολο και στην εσωτερική επιφάνεια του δοχείου πίεσης (high pressure vessel) (Εικόνα 1.3) περιορίζει την χρήση αυτής της μεθόδου σε εργαστηριακή κλίμακα ή πιλοτικές μονάδες εργοστασίων.
- Έμμεση συμπίεση, στην οποία χρησιμοποιείται ένας ενισχυτής πίεσης για να αντλήσει το μέσο μεταφοράς πίεσης από μία δεξαμενή σένα κλειστό δοχείο υψηλής πίεσης μέχρι να αποκατασταθεί η επιθυμητή πίεση. Η μέθοδος αυτή χαρακτηρίζεται ως η καταλληλότερη για βιομηχανική χρήση.
- Η μέθοδος θέρμανσης του μέσου μεταφοράς της πίεσης, χρησιμοποιεί επέκταση του μέσου πίεσης με αύξηση της θερμοκρασίας για την παραγωγή υψηλής πίεσης. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ακόμη όταν η υπερυψηλή πίεση χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με θέρμανση. Ωστόσο στην περίπτωση αυτή, απαιτείται εξαιρετικά ακριβής έλεγχος της θερμοκρασίας στο εσωτερικό του δοχείου πίεσης.



Εικόνα 1.3. Σχηματική απεικόνιση συστήματος υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης (Ortega-Rivas, 2012)

Τα συστήματα συμπίεσης μπορούν να λειτουργούν είτε ως ψυχρά (cold isostatic pressing - CIPs, 20°C - 25°C και 500-6000 atm), θερμά (warm isostatic pressing - WIPs, 25°C - 200°C) και ακόμη πιο θερμά συστήματα (hot isostatic pressing - HIPs, έως 2200°C και 1000-4000 atm) (Gustavo et al., 1998; Sahu, 2001). Επιπλέον, τα συστήματα μπορεί να είναι ασυνεχούς, ημισυνεχούς και συνεχούς λειτουργίας. Η επιλογή του εξοπλισμού εξαρτάται στο είδος του τροφίμου που επρόκειτο να επεξεργαστεί. Τα στερεά προϊόντα με μεγάλα στερεά σωματίδια μπορούν να επεξεργαστούν μόνο σε ασυνεχή συστήματα. Αντιθέτως, τα υγρά και άλλα τρόφιμα που μπορούν να αντληθούν έχουν το πλεονέκτημα διαχείρισης τόσο σε ασυνεχή όσο και συνεχή διεργασία.

Η επίδραση της υπερυψηλής πίεσης στους μικροοργανισμούς έχει παρατηρηθεί ότι είναι παρόμοια με αυτή της υψηλής θερμοκρασίας. Παραδείγματα των επιδράσεων της HPP σε αρκετούς μικροοργανισμούς φαίνονται στον Πίνακα 1.1.

Πίνακας 1.1. Επίδραση υπερυψηλής υδροστατικής πίεσης σε διάφορους μικροοργανισμούς

Συνθήκες			
Μικροοργανισμοί	Πίεση (MPa)	Χρόνος (min)	Δεκαδική Μείωση
Saccharomyces cerevisiae	300	5	5
Aspergillus awamori	300	5	5
Listeria innocua	360	5	1
Listeria monocytogenes	350	10	4
Vibrio parahaemolyticus	172	10	2.5
Salmonella typhimurium	345	10	1.8
Ολικός πληθυσμός	340	5	1.9

Τα μοντέλα που προτείνονται για τη μικροβιακή αδρανοποίηση με ΥΠ ακολουθούν εξίσωση πρώτης τάξης ως εξής:

$$\log\left(\frac{N}{N_{IT}}\right) = -kt = -2.303\left(\frac{t}{D_{10}}\right)$$

όπου N είναι το μικροβιακό φορτίο μετά το χρόνο επαφής t, N είναι το αρχικό μικροβιακό φορτίο, k είναι η σταθερά ρυθμού αντίδρασης και D₁₀ ο δεκαδικός χρόνος μείωσης.

Ένα άλλο μοντέλο που διατυπώνεται από έρευνα με ζύμες προϋποθέτει ότι η αλλαγή του D₁₀ με πίεση ακολουθεί την εξής εξίσωση:

$$\log\left(\frac{D}{D_{10R}}\right) = \frac{P - P_R}{z(P)}$$

όπου οι δείκτες R υποδεικνύουν συνθήκες σε πίεση αναφοράς και $z(P)$ είναι η αύξηση της πίεσης που απαιτείται για να επιτευχθεί ένας κύκλος μείωσης ενός λογάριθμου στο D_{10} (Ortega-Rivas, 2012).

Όπως επισημάνθηκε προηγουμένως, η ΥΠ αντιπροσωπεύει μία από τις σημαντικότερες πρόσφατες εξελίξεις στην τεχνολογία τροφίμων και, ως εκ τούτου, το δυναμικό της για χρήση σε πολλές εφαρμογές στη βιομηχανία τροφίμων είναι μεγάλο. Στις σχετικές εφαρμογές της ΥΠ περιλαμβάνεται η απολύμανση του νωπού γάλατος και ορισμένων τυροπηγμάτων και τυριών που παράγονται από το νωπό γάλα, η μείωση της έντασης της επεξεργασίας θερμότητας για τα παρασκευασμένα κρύα φαγητά που περιέχουν θερμοευαίσθητα συστατικά τροφίμων και η υγιεινή και η αύξηση της διάρκειας ζωής των ψωμιών, αιθέρια ελαίων, αρωματικών εκχυλισμάτων και βοτάνων. Η ΥΠ προσφέρει μια μοναδική ευκαιρία για την ανάπτυξη νέων τροφίμων με υψηλή θρεπτική και αισθητική ποιότητα, βελτιωμένη υφή, μεγαλύτερη λειτουργικότητα και αυξημένη διάρκεια ζωής. Η επεξεργασία με υπερυψηλή πίεση έχει τη δυνατότητα βελτίωσης της μικροβιολογικής ασφάλειας και της ποιότητας των τροφίμων, όπως το κρέας, το γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα. Η υψηλή πίεση συμπιέζει το σημείο πήξης του νερού και το σημείο τήξης του πάγου, επιτρέποντας τη λήψη διαφόρων μορφών πάγου υψηλής πυκνότητας. Αυτές οι επιδράσεις της πίεσης επί του διαγράμματος στερεής-υγρής φάσης του νερού έχουν διάφορες πιθανές εφαρμογές, συμπεριλαμβανομένης της αποψύξεως με υποβοηθητική πίεση και της μη καταψυγμένης αποθήκευσης σε χαμηλή θερμοκρασία υπό πίεση. Οι προοπτικές επέκτασης του φάσματος των εφαρμογών της ΥΠ στη βιομηχανία τροφίμων εξαρτάται από την περαιτέρω έρευνα, τόσο από τον ακαδημαϊκό χώρο όσο και από τη βιομηχανία. Η ενσωμάτωση ορθών πρακτικών παρασκευής για την εξασφάλιση της αποτελεσματικότητας των λειτουργιών της ΥΠ μπορεί επίσης να αποτελέσει προτεραιότητα. Είναι απαραίτητες περισσότερες μελέτες που αφορούν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ της εφαρμοζόμενης πίεσης και των συστατικών τροφίμων, με επίκεντρο κυρίως τα θρεπτικά χαρακτηριστικά (Ortega-Rivas, 2012).

1.2.2 Παλμικά Ηλεκτρικά Πεδία (Pulsed Electric Fields – PEF)

Η μέθοδος των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων ανήκει στις μη θερμικές διεργασίες, και χρησιμοποιείται για τη διατήρηση της ασφάλειας των τροφίμων και την αύξηση του χρόνου ζωής τους που επιτυγχάνεται με την απενεργοποίηση αλλοιογόνων και παθογόνων μικροοργανισμών. Η εφαρμογή της μεθόδου στοχεύει κατά κύριο λόγο σε ρευστά τρόφιμα, αν και πειράματα έχουν γίνει και σε στερεά τρόφιμα, όπως σε κρέας και ψάρια (Klonoowski et al., 2006). Η διαδικασία των υψηλής συχνότητας παλμικών ηλεκτρικών πεδίων, περιλαμβάνει την εφαρμογή παλμών υψηλού δυναμικού (τυπικά $20-80 \text{ kV}\cdot\text{cm}^{-1}$) σε ένα υλικό τροφίμου που τοποθετείται ανάμεσα σε δύο ηλεκτρόδια. Η μέθοδος PEF διεξάγεται είτε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, είτε χαμηλότερες ή ελαφρώς υψηλότερες τιμές από αυτή, για διάρκεια κάθε παλμού $<1 \text{ sec}$ και ελαχιστοποιεί την ενεργειακή απώλεια λόγω θέρμανσης του τροφίμου. Όσον αφορά τις επιπτώσεις της στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου, η τεχνολογία PEF θεωρείται ανώτερη των παραδοσιακών μεθόδων θερμικής

επεξεργασίας των τροφίμων, επειδή ελαχιστοποιεί τις μεταβολές στα φυσικά και οργανοληπτικά χαρακτηριστικά (Quass, 1997).

Τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών και των ενζύμων. Ωστόσο, η απενεργοποίηση συμβαίνει όταν υπερβαίνεται ένα ανώτερο όριο της έντασης ηλεκτρικού πεδίου. Βασισόμενη στη θεωρία της διηλεκτρικής ρήξης, το εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο επάγει μια διαφορά ηλεκτρικού δυναμικού σε όλη την επιφάνεια της κυτταρικής μεμβράνης γνωστή ως διαμεμβρανικό δυναμικό. Όταν λοιπόν, το δυναμικό αυτό φτάσει μια οριακή τιμή, στη μεμβράνη δημιουργείται ηλεκτροδιάτρηση ή δημιουργία πόρων. Αυτή η αύξηση διαπερατότητας της κυτταρικής μεμβράνης είναι μη αντιστρεπτή εάν το μέγεθος του εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου είναι ίσο ή ελαφρώς μεγαλύτερο της κρίσιμης τιμής. Η οριακή τιμή του διαμεμβρανικού δυναμικού εξαρτάται από τον μικροοργανισμό ή το ένζυμο, καθώς επίσης και από το μέσο στο οποίο αναπτύσσεται ο μικροοργανισμός ή το ένζυμο (Gustavo et al., 1998)

Πιο συγκεκριμένα, η ηλεκτροδιάτρηση (electroporation) είναι το φαινόμενο που συμβαίνει όταν υψηλού δυναμικού παλμικά ηλεκτρικά πεδία, αποσταθεροποιούν προσωρινά το διπλό στρώμα των λιπιδίων και τις πρωτεΐνες μιας κυτταρικής μεμβράνης (Schoenbach et al., 2001; Joshi et al., 2002). Οι μεμβράνες πλάσματος των κυττάρων γίνονται διαπερατές σε μικρού μεγέθους μόρια, ύστερα από την έκθεσή τους σε ηλεκτρικά πεδία, και η διαπερατότητα έχει ως αποτέλεσμα τη διόγκωση και τελικά τη ρήξη των κυτταρικών μεμβρανών. Δηλαδή, η κύρια μεταβολή που προκαλείται στα κύτταρα των μικροοργανισμών λόγω PEF, είναι η αύξηση της διαπερατότητάς των κυτταρικών μεμβρανών εξαιτίας της συμπίεσης και της δημιουργίας 'πόρων' σε αυτή (Huang et al., 2003; Wouters et al., 2001).

Τέλος, η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών με τη μέθοδο αυτή, αυξάνεται με ταυτόχρονη αύξηση στην ισχύ του ηλεκτρικού πεδίου, τον αριθμό των παλμών, τη διάρκεια του παλμού, το είδος του παλμού, τη θερμοκρασία του μέσου, τη φάση ανάπτυξης των βακτηρίων και της ιοντικής ισχύς του μέσου.

1.2.3 Ταλαντούμενα Μαγνητικά Πεδία (Oscillating Magnetic Fields – OMFs)

Η χρήση των ταλαντούμενων μαγνητικών πεδίων για την απενεργοποίηση των μικροοργανισμών έχει το πλεονέκτημα παστερίωσης των τροφίμων με ταυτόχρονη βελτίωση της ποιότητας και του χρόνου ζωής σε σύγκριση με τις παραδοσιακές μεθόδους παστερίωσης. Γενικά, τα μαγνητικά πεδία επηρεάζουν την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή των μικροοργανισμών, αυξάνοντας το ρυθμό σύνθεσης του DNA, αλλάζοντας τη λειτουργία των βιομορίων και των βιομεμβρανών σε κατεύθυνση παράλληλη ή κάθετη με αυτή του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου και αλλάζουν την ιοντική μετατόπιση μέσω της μεμβράνης του κυτταροπλάσματος, με αποτέλεσμα την μεταβολή του ρυθμού αναπαραγωγής τους.

Μαγνητικά πεδία συνήθως δημιουργούνται εφαρμόζοντας ρεύμα σε ηλεκτρικό πηνίο. Η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών απαιτεί πυκνότητα μαγνητικής ροής της τάξεως των 5 έως 50 Tesla. OMFs τέτοιας πυκνότητας μπορούν να δημιουργηθούν χρησιμοποιώντας είτε

υπεραγωγίμα πηνία, είτε πηνία που παράγουν συνεχούς τάσης πεδία ή τέλος πηνία που τροφοδοτούνται από εκφορτιζόμενο πυκνωτή.

Οι βιολογικές μεμβράνες επιδεικνύουν ισχυρό προσανατολισμό στο μαγνητικό πεδίο εξαιτίας της εγγενούς ανισοτροπικής δομής των μεμβρανών. Ο προσανατολισμός των κυτταρικών μεμβρανών παράλληλος ή κάθετος με αυτόν του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου, εξαρτάται από την ολική ανισοτροπία των βιομορίων, όπως οι πρωτεΐνες που σχετίζονται με τις μεμβράνες.

Η χρήση των OMFs στη διατήρηση των τροφίμων, βοηθά στην απενεργοποίηση των μικροοργανισμών χωρίς να προσδίδει μη επιθυμητά χαρακτηριστικά. Τρόφιμα, όπως το τυρί και η μπύρα είναι προϊόντα ζύμωσης από μικροοργανισμούς. Η ζύμωση πέρα από τα επιθυμητά όρια έχει ως αποτέλεσμα την αλλοίωση των προϊόντων. Επομένως, οι μικροοργανισμοί πρέπει να απενεργοποιηθούν με το πέρας της ζύμωσης και αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την εφαρμογή των ταλαντούμενων μαγνητικών πεδίων. Μελέτη έδειξε ότι, απενεργοποίηση μικροοργανισμών με OMF πραγματοποιείται με πυκνότητα μεγαλύτερη των 2 T. Ένας μόνο παλμός, με πυκνότητα ροής μεταξύ 5 έως 50 T και συχνότητα 5 έως 500 kHz μειώνει τον αριθμό των μικροοργανισμών κατά τουλάχιστον δύο λογαρίθμους (Hofmann, 1985).

Ωστόσο, η πιο σημαντική αξίωση των τροφίμων, ώστε να μπορούν να διατηρηθούν επιτυχώς με την εφαρμογή μαγνητικών πεδίων, είναι η υψηλή ηλεκτρική αντίσταση, μεγαλύτερη από 10 έως 25 $\frac{Ohm}{cm}$. Πολλά τρόφιμα έχουν ηλεκτρική αντίσταση σε αυτό το εύρος. Για παράδειγμα, ο χυμός πορτοκαλιού έχει αντίσταση 30 $\frac{Ohm}{cm}$. Η ένταση του εφαρμοζόμενου μαγνητικού πεδίου είναι συνάρτηση της ηλεκτρικής αντίστασης και του πάχους του τροφίμου που πρόκειται να επεξεργαστεί. Μεγαλύτερες μαγνητικές εντάσεις χρησιμοποιούνται για μικρότερες τιμές ηλεκτρικής αντίστασης και υψηλότερες τιμές πάχους (Gustavo et al., 1998).

1.2.4 Υπεριώδεις Παλμικό Φώς

Η τεχνολογία υπεριώδους παλμικού φωτός, είναι μία μη χημική, μη θερμική απλή προσέγγιση απολύμανσης, που έχει, συγκριτικά με άλλες μεθόδους, λιγότερες απαιτήσεις ως προς τη συντήρηση.

Το υπεριώδες φως ορίζεται ως η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία σε περιοχή φασμάτων από 100 έως 400 nm και χωρίζεται σε τέσσερα εύρη μηκών κύματος : UV-A (315-400 nm), UV-B (280-315 nm), UV-C (200-280 nm) και UV κενού (100-200 nm) (Krishnamurthy et al., 2008). Το UV-C φως καταστρέφει το DNA των μικροοργανισμών, προκαλώντας τη διαμόρφωση θανατηφόρων φωτοπροϊόντων (photoproducts) και διμερών πυριμιδίνης (pyrimidine dimers) στο μικροβιακό DNA (Ahmed & Rhaman, 2012). Η δημιουργία τέτοιων δεσμών αποτρέπει το μικροβιακό κύτταρο από την αναπαραγωγή, εμποδίζοντας την αντιγραφή του DNA.

Η τεχνολογία όμως του υπεριώδους παλμικού φωτός είναι μια νέα τεχνολογία που χρησιμοποιεί υπεριώδες φως, και είναι πιο αποτελεσματική από τη συμβατική μέθοδο υπεριώδους φωτός που περιγράφηκε παραπάνω. Είναι και αυτή μη χημική και μη θερμική μέθοδος, η οποία απαιτεί ελάχιστο χρόνο επεξεργασίας. Σε ένα σύστημα υπεριώδους παλμικού φωτός, μία energized xenon gas lamp εκπέμπει έντονο παλμικό φως με ένα συνεχές ευρυζωνικό (broadband) φάσμα από το υπεριώδες έως το υπέρυθρο. Το φάσμα είναι ιδιαίτερα πλούσιο και αποτελεσματικό στην περιοχή της υπεριώδους. Η διάρκεια ενός παλμού είναι τόσο μικρή όσο μερικά εκατοστά microseconds.

Η απενεργοποίηση των μικροοργανισμών πραγματοποιείται κυρίως λόγω δημιουργίας φωτοχημικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα όταν φωτόνια στην περιοχή του υπεριώδους απορροφούνται από μικροβιακά συστατικά. Τα φωτόνια του υπεριώδους, τα οποία είναι τα βασικά σωματίδια του υπεριώδους φωτός, μεταφέρουν ένα μεγάλο ποσό ενέργειας, και έχουν την ικανότητα διάσπασης ή δημιουργίας χημικών δεσμών. Στην περίπτωση των μικροβιακών κυττάρων, οι χημικές αντιδράσεις που επάγονται από τα φωτόνια, γίνονται κυρίως στη δομή των πρωτεϊνών και του DNA (Jay et al.,2005). Όσον αφορά το DNA, προκαλούνται διασπάσεις σε αλυσίδες του, διασταυρούμενες συνδέσεις ανάμεσα στις έλικές του, υδρόλυση των πυριμιδινών και σχηματισμός διμερών πυριμιδίνης μεταξύ γειτονικών κατάλοιπων. Ακόμη πιο αποτελεσματικά δρα το παλλόμενο υπεριώδες φως, το οποίο περιλαμβάνει πολυχρωματική ακτινοβολία στη φασματική περιοχή από το υπεριώδες έως το υπέρυθρο, και δεν περιορίζεται μόνο στις φωτοχημικές αντιδράσεις, αλλά έχει φωτοθερμικές και φωτοφυσικές επιδράσεις στα μικροβιακά κύτταρα (Krishnamurthy et al.,2007; Fine & Gervais, 2004). Οι Fine & Gervais (2004), ανέφεραν ότι το θερμικό στρες εξαιτίας της διαφοράς μεταξύ της απορρόφησης παλμικού υπεριώδους φωτός από έναν μικροοργανισμό και του περιβάλλοντος μέσου προκαλεί εξάτμιση του νερού στο βακτηριακό κύτταρο, οδηγώντας σε διάρρηξή του.

1.2.5 Ακτινοβολία (Irradiation)

Η ακτινοβολία στη βιομηχανία τροφίμων, είναι η έκθεση του τροφίμου σε μία πηγή ιοντίζουσας ακτινοβολίας, ώστε να παραληφθεί το τελικό προϊόν με τις επιθυμητές ιδιότητες. Τα τρόφιμα υφίστανται αυτή την επεξεργασία κυρίως για λόγους διατήρησης, όπως η επέκταση του χρόνου ζωής (shelf-life) του τροφίμου, η μείωση του μικροβιακού φορτίου ή η εξάλειψη παθογόνων μικροοργανισμών. Κατά τη διαδικασία της ακτινοβολίας, θα πρέπει να ληφθούν υπ όψη αρκετές παράμετροι, ώστε να μπορεί η μέθοδος να καταστεί βιώσιμη στον τομέα των τροφίμων. Για παράδειγμα, ιδιαίτερη σημασία θα πρέπει να δοθεί:

- στην ετήσια διακίνηση
- τις εποχιακές διακυμάνσεις κατά τη διακίνηση
- τα φυσικά χαρακτηριστικά του τροφίμου (σχήμα, δομή, σύσταση)
- τις απαιτήσεις ως προς τους χειρισμούς και την αποθήκευση
- τα αποδεκτά όρια ακτινοβολίας και οι βέλτιστες δόσεις για το εκάστοτε τρόφιμο

Ο βέλτιστος σχεδιασμός του συστήματος ακτινοβολίας θα εξαρτηθεί από τη φυσική μορφή του προϊόντος, καθώς και από τις συνθήκες κάτω από τις οποίες επρόκειτο να επεξεργαστεί,

να αποθηκευτεί και να μεταφερθεί. Η συσκευασία του προϊόντος πιθανώς να έχει σημαντική επίδραση στο κόστος της ολικής διεργασίας (Ahmed & Rahman, 2012). Τα φρούτα και τα λαχανικά, θα μπορούσαν να επεξεργαστούν με ακτινοβολία σε μικρό χρονικό διάστημα από τη συγκομιδή τους, ενώ το κρέας και τα θαλασσινά, θα πρέπει να ψυχθούν πριν την εφαρμογή της μεθόδου αυτής για περισσότερη ασφάλεια.

Η ιοντίζουσα ακτινοβολία, είναι μια ευρεία έννοια, που περιγράφει οποιαδήποτε ακτινοβολία με επαρκή ενέργεια ώστε να προκαλέσει απελευθέρωση των ηλεκτρονίων από τα άτομα. Η ακτινοβολία μπορεί να είναι αποτέλεσμα από αποσύνθεση ραδιενεργών υλικών ή ακτίνες X, ή ηλεκτρόνια υψηλής ενέργειας από έναν επιταχυντή. Για την εφαρμογή της μεθόδου στα τρόφιμα, ο FAO/WHO, (2003) (Codex General Standars) επιτρέπει τη χρήση των εξής τύπων ιοντίζουσας ακτινοβολίας : ακτίνες γ από τα ραδιονουκλεοτίδια ^{60}Co και ^{137}Cs , ακτίνες X παραγόμενες από μηχανικές πηγές που λειτουργούν σε ενεργειακά επίπεδα μικρότερα των 5 MeV (Mega electron Volt), και ηλεκτρόνια παραγόμενα από μηχανικές πηγές που λειτουργούν σε ενεργειακά επίπεδα μικρότερα των 10 MeV (Ahmed & Rahman, 2012). Τα όρια για τη μέγιστη ενέργεια για τις ακτίνες X ή τα ηλεκτρόνια, είναι βασισμένα στις ανησυχίες σχετικά με την πιθανότητα σχηματισμού ραδιοενεργών προϊόντων στο τρόφιμο (IAEA, 2002).

Όταν το τρόφιμο ακτινοβολείται, σχηματίζονται ελεύθερες ρίζες. Οι μικροοργανισμοί καταστρέφονται από τις ρίζες που σχηματίζονται στα κύτταρά τους αντιδρώντας με το DNA τους, ως εκ τούτου σπάζοντας του δεσμούς και εμποδίζοντας την αντιγραφή. Σε αντίθεση με τις θερμικές κατεργασίες, η μέθοδος αυτή δεν καταστρέφει τα ένζυμα που εμφανίζουν ανθεκτικότητα. Για την αδρανοποίησή τους, απαιτούνται υψηλότερες δόσεις ακτινοβολίας, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει τη δημιουργία δευτερογενούς ραδιενέργειας. Για την αποφυγή δημιουργίας της, επομένως, προτείνεται συνδυασμένη τεχνική θερμικής κατεργασίας ακολουθούμενη από ακτινοβολία.

Τέλος, οι ιοντίζουσες ακτινοβολίες μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα την πρόκληση χημικών δράσεων με ταυτόχρονη υποβάθμιση των ποιοτικών χαρακτηριστικών των τροφίμων, όπως ανεπιθύμητες μεταβολές χρώματος, γεύσης και υφής. Αναφέρεται ότι το γάλα, τα γαλακτοκομικά προϊόντα και το κρέας αποκτούν δυσάρεστη οσμή μετά την ακτινοβολία, ενώ στα φρούτα και λαχανικά έχει παρατηρηθεί αποικοδόμηση των πηκτινών και μεταβολή της υφής των προϊόντων κατά την ακτινοβολή τους. Για τους λόγους αυτούς η ακτινοβολία με ιοντίζουσες ακτινοβολίες πραγματοποιείται κυρίως σε κατεψυγμένα προϊόντα απουσία οξυγόνου (Θωμόπουλος, 1981; Gould, 1999).

1.2.6 Τεχνολογία Εμποδίων (Hurdle Technology)

Η πλειοψηφία των τεχνικών διατήρησης των τροφίμων, βασίζεται στη καθυστέρηση ή παρεμπόδιση της μικροβιακής ανάπτυξης, χρησιμοποιώντας παράγοντες που επηρεάζουν περισσότερο την επιβίωση και την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, όπως είναι η θερμοκρασία, η ενεργότητα νερού, το δυναμικό οξειδοαναγωγής, το pH, τα διαθέσιμα υποστρώματα, η διαθεσιμότητα του οξυγόνου, η συγκέντρωση σημαντικών διαλυτών συστατικών και τα συντηρητικά. Έτσι, η χρήση μεθόδων για τον έλεγχο πολλών εκ των

παραμέτρων αυτών, μπορεί να οδηγήσει σε λύσεις στον τομέα διατήρησης και παρασκευής των τροφίμων. Στα περισσότερα τρόφιμα, τόσο καινοτόμα όσο και συμβατικά, ένας συνδυασμός από διάφορους παράγοντες που μπορούν να λειτουργήσουν ως συντηρητικό (hurdles), οι οποίοι φυσικά δεν θα πρέπει να επηρεάζονται από την ύπαρξη των μικροβιακών πληθυσμών, μπορεί να εξασφαλίσει τελικά τη μικροβιακή σταθερότητα και ασφάλεια του τροφίμου. Η τεχνολογία εμποδίου, ουσιαστικά, απεικονίζει τη συνεργιστική σχέση μεταξύ των παραγόντων στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών (Σαββαΐδης, 2002; 2003; Gustavo et al., 1998)

Ένας μεγάλος τομέας εφαρμογής της μεθόδου είναι τα φρούτα. Η διατήρησή τους για μεγάλο χρονικό διάστημα καθίσταται αρκετά δύσκολη αποτελώντας πρόκληση για τη βιομηχανία τροφίμων. Ένας από τους κυριότερους λόγους είναι η υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία και η αυξημένη ενεργότητα του νερού, που ευνοούν την μικροβιακή ανάπτυξη. Η μέγιστη τιμή της ενεργότητας, ώστε το τρόφιμο να είναι μικροβιολογικά σταθερό είναι $a_w=0.85$. Ενυδατικές και διαλυτές ουσίες, για προσαρμογή της ενεργότητας στα επιθυμητά όρια μπορούν να αποτελέσουν διάφορα σάκχαρα, άλατα και πολυόλες. Ωστόσο, πολλές φορές οι ποσότητες που απαιτούνται να εισαχθούν ώστε να φτάσει το τρόφιμο σε μια μικροβιακή σταθερότητα ($a_w=0.85$), προκαλούν αλλοιώσεις στη δομή του τροφίμου, όπως για παράδειγμα 'αφυδατωμένη' όψη. Το πρόβλημα αυτό, μπορεί να ξεπεραστεί, με μικρή μείωση της ενεργότητας από τις προστιθέμενες ουσίες, σε συνδυασμό με άλλες τεχνολογικές μεθόδους, όπως είναι η θερμική επεξεργασία. Η αρχική ιδέα της τεχνολογίας εμποδίων, παρουσιάστηκε για τη διατήρηση των προϊόντων κρέατος (Leistner, 1987).

Η επίτευξη ελέγχου πολλών εκ των παραμέτρων, μπορεί να πραγματοποιηθεί σε συνδυασμό με πολλές από τις προαναφερθείσες μη θερμικές μεθόδους επεξεργασίας, όπως τα υψηλής έντασης παλμικά ηλεκτρικά πεδία, τα οποία προκαλούν ηλεκτροχημική αστάθεια στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων και η υψηλή υδροστατική πίεση, η οποία μαζί με θερμική επεξεργασία ή με προσθήκη άλλων ουσιών, όπως οξέων για μείωση του pH, δίνει ακόμη καλύτερα αποτελέσματα σε πληθώρα τροφίμων.

1.2.7 Τεχνολογία Υπερήχων

Η χρήση υπερήχων υψηλής έντασης αποτελεί για τη βιομηχανία τροφίμων τα τελευταία χρόνια ένα πολύ αποδοτικό μέσο για διεργασίες μεγάλης κλίμακας, όπως η γαλακτωματοποίηση, η ομογενοποίηση, η εκχύλιση, η κρυσταλλοποίηση, η αφυδάτωση, η παστερίωση χαμηλής θερμοκρασίας, η απαέρωση, η απενεργοποίηση ενζύμων, η μείωση του μεγέθους σωματιδίων και η τροποποίηση του ιξώδους. Το ξαφνικό αυτό άλμα φυσικά που σημειώθηκε στη χρήση των υπερήχων οφείλεται καταρχήν στον πιο αποδοτικό σχεδιασμό και τη μεγαλύτερη αποδοτικότητα των συστημάτων επεξεργασίας μεγάλης κλίμακας και συνεχούς ροής.

Οι υπέρηχοι χρησιμοποιούνται, όπως και τα ηχητικά κύματα, αλλά σε υψηλότερες συχνότητες, μεταξύ 18 και 500 MHz. Οι υπέρηχοι ως γνωστόν χρησιμοποιούνται για τη διάρρηξη του κυτταροπλάσματος και την απομόνωση της κυτταροπλασματικής μεμβράνης από το κύτταρο. Οι υπέρηχοι σε συνδυασμό με την πίεση (Mano-Thermo-Sonication)

βελτιώνουν τις διεργασίες της παστερίωσης και της αποστείρωσης ορισμένων υγρών τροφίμων. Οι τιμές D_{10} (ελάττωση του μικροβιακού πληθυσμού κατά περίπου 90%) ορισμένων μικροοργανισμών είναι χαμηλότερες από τις αντίστοιχες τιμές των μεθόδων θερμικής επεξεργασίας τροφίμων. Συνήθως οι υπέρηχοι δε χρησιμοποιούνται στη συντήρηση των τροφίμων λόγω των βλαβερών επιδράσεων στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά τους.

Η εφαρμογή των υπερήχων σε μια επεξεργασία μπορεί να πραγματοποιηθεί με τρεις βασικούς μηχανισμούς

1. Απευθείας εφαρμογή στο προϊόν
2. Σύζευξη με μια άλλη συσκευή επεξεργασίας
3. Βύθιση σε λουτρό υπερήχων

1.3 Συνδυασμός Θερμικών και Μη Θερμικών Τεχνολογιών

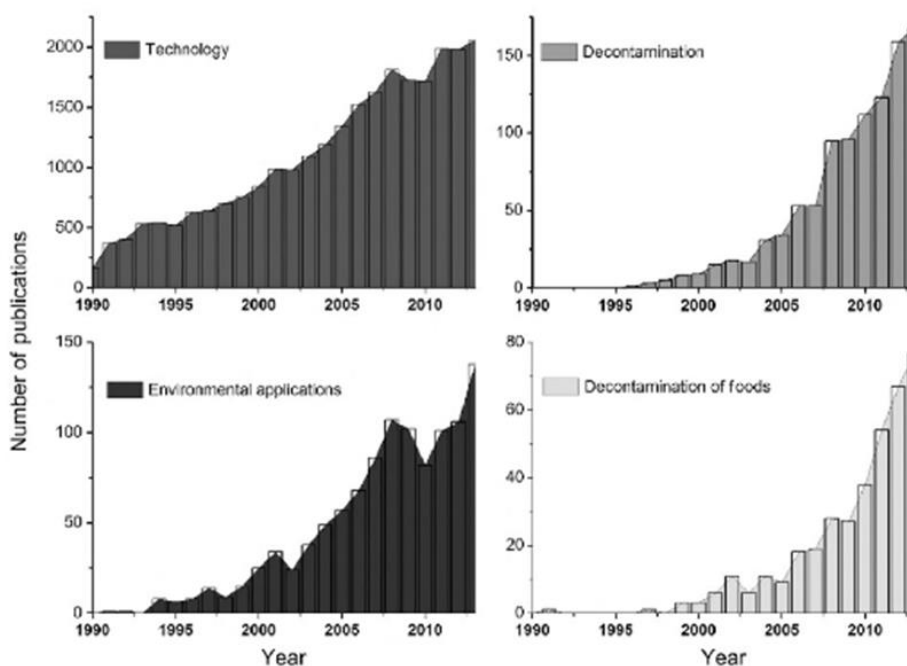
Καλύτερα αποτελέσματα στην επεξεργασία των τροφίμων, μπορούν να επιτευχθούν με τη χρήση συνδυασμένων τεχνικών, εκμεταλλευόμενοι τις μεταβολές που προκαλούνται από την καθεμία. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η υψηλή υδροστατική πίεση, με την οποία επιτυγχάνεται αδρανοποίηση των μικροοργανισμών και κάποιων ενζύμων, σε συνδυασμό με τη θερμική επεξεργασία με την οποία μπορεί να πραγματοποιηθεί απενεργοποίηση των σπορίων που είναι ανθεκτικά στην πίεση. Η πίεση, προκαλεί βλάστηση των σπορίων και η υψηλή θερμοκρασία απενεργοποίηση των κυττάρων που έχουν βλαστήσει. Όπως στην προηγούμενη περίπτωση, έτσι και στα υψηλής έντασης μαγνητικά πεδία, μπορεί να εφαρμοστεί συνδυασμός της μεθόδου με θέρμανση για απενεργοποίηση τόσο των μικροοργανισμών αλλά και των σπορίων τους. Ακόμη, η τεχνολογία εμποδίων και η HP χρησιμοποιούνται πιο συνηθισμένα σε εμπορική κλίμακα.

Οι μη θερμικές διεργασίες, αναμένεται να προκαλούν την ελάχιστη ποιοτική υποβάθμιση, συγκριτικά με τις μεταβολές που προκαλούνται από τις θερμικές διεργασίες. Είναι σημαντικό, ως εκ τούτου, η εκτενής εκτίμηση των αλλαγών στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά των τροφίμων, στις συγκεντρώσεις και στη δομή τόσο των λιπιδίων, των πρωτεϊνών, των υδρογονανθράκων και των βιταμινών, όσο και των υπόλοιπων θρεπτικών συστατικών τους.

2 ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΨΥΧΡΟΥ ΠΛΑΣΜΑΤΟΣ ΩΣ ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Η λίστα των μη θερμικών τεχνολογιών εκτείνεται πέρα από όσα αναφέρθηκαν στο προηγούμενο κεφάλαιο. Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει επί του παρόντος καμία ιδανική μέθοδος για την επίτευξη αποστείρωσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Η μη θερμική τεχνολογία πλάσματος (Non Thermal Plasma -NTP) εμφανίστηκε ως μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος. Έχει δείξει δυνατότητες τόσο για στερεά όσο και για υγρά τρόφιμα. Αυτό φαίνεται από την Εικόνα 2.1, η οποία δείχνει την αύξηση του αριθμού των επιστημονικών δημοσιεύσεων σχετικά με τις εξελίξεις στην επιστήμη του ψυχρού πλάσματος και τις εφαρμογές του για αποστείρωση εν γένει και ειδικότερα των τροφίμων. Στον πίνακα 2.1 παρουσιάζεται μια λίστα επιλεγμένων ομάδων που ασχολούνται με την εφαρμογή της τεχνολογίας του ψυχρού πλάσματος στα τρόφιμα.

Οι περισσότερες μη θερμικές τεχνολογίες αρχικά αναπτύχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν σε άλλους τομείς και αργότερα επεκτάθηκαν για εφαρμογές επεξεργασίας τροφίμων. Για παράδειγμα, η υπερυψηλή πίεση (HP) χρησιμοποιήθηκε αρχικά για την επεξεργασία κεραμικών και υλικών, ενώ οι υπέρηχοι για διαγνώσεις και μη επεμβατική παρακολούθηση. Ομοίως, το πλάσμα έχει μακρά ιστορία εφαρμογών στην επεξεργασία ημιαγωγών και ηλεκτρονικών, και έχει πρόσφατα εξαπλωθεί σε βιολογικές εφαρμογές και εφαρμογές τροφίμων.



Εικόνα 2.1. Αριθμός δημοσιεύσεων για την τεχνολογία πλάσματος, τη μικροβιακή αδρανοποίηση με χρήση πλάσματος και τη μικροβιακή αδρανοποίηση στα τρόφιμα με χρήση πλάσματος τις τελευταίες δύο δεκαετίες (Misra et al., 2016)

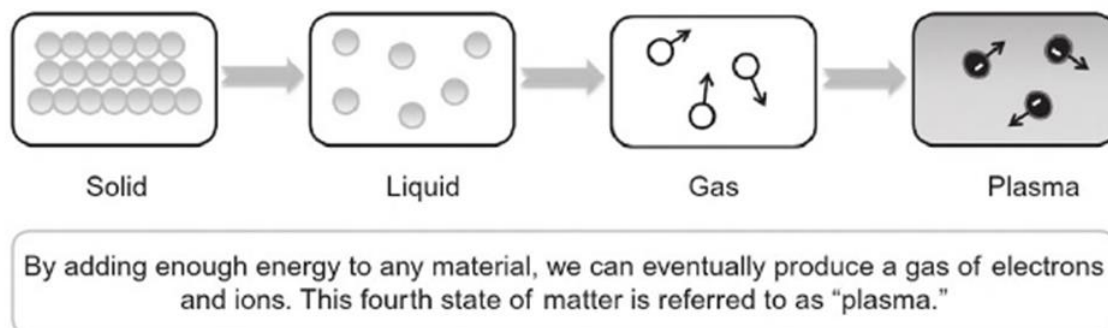
Πίνακας 2.1. Ερευνητές που διερευνούν εφαρμογές της τεχνολογίας ψυχρού πλάσματος στη βιομηχανία τροφίμων (Misra et al., 2016)

Names	Affiliation	Topics	References
Annapure and Deshmukh	Institute of Chemical Technology, Mumbai, India	Food grain processing	Sarangapani et al. (2016) and Thirumdas et al. (2015)
Berardinelli and Ragni	University of Bologna, Italy	Resistive barrier discharges for decontamination of eggs and fresh produce	Berardinelli et al. (2016), Pasquali et al. (2016), Ragni et al. (2010), and Tappi et al. (2014, 2016)
Bourke and Cullen	Dublin Institute of Technology, Ireland	Decontamination of fresh produce; property modification of foods and food packaging polymers	Misra et al. (2015), Misra et al. (2014a,b), and Pankaj et al. (2014)
Cheorun Jo	Seoul National University, Seoul, Republic of Korea	Decontamination of meat and meat products, and dairy foods	Kim et al. (2013, 2015) and Yong et al. (2015)
Ehlbeck	Leibniz Inst. for Plasma Research and Technology (INP), Greifswald, Germany	Plasma sources for decontamination of food materials	Ehlbeck et al. (2011) and Schnabel et al. (2015)
Ishikawa and Hori	Nagoya University, Japan	Decontamination of meat and citrus fruits	Ishikawa et al. (2012, 2014) and Ishikawa and Hori (2014)
Keener	Purdue University, Indiana, USA	Fresh produce and egg decontamination	Donner and Keener (2011), Keener et al. (2012), and Klockow and Keener (2009)
Mastwijk, Matser, and Nierop Groot	Wageningen University & Research, The Netherlands	Decontamination of food packaging	van Bokhorst-van de Veen et al. (2015)
Matan	Walailak University, Thailand	Synergistic use of cold plasma and essential oils for food decontamination	Matan et al. (2014, 2015)
Niemira	United States Department of Agriculture, PA, USA	Decontamination of whole fresh fruits	Lacombe et al. (2015), Niemira (2012), and Niemira and Sites (2008)
Potts and Diver	Glasgow University, UK; Anacail Ltd., UK	Decontamination of fresh foods and bakery products	http://www.anacail.com/
Schlüter	Leibniz Institute for Agricultural Engineering (ATB), Potsdam, Germany	Plasma jet and cooled microwave plasma gas decontamination of fresh produce and spices; property modification of protein fractions	Bußler et al. (2015) and Hertwig et al. (2015)

Names	Affiliation	Topics	References
Shama	Loughborough University, UK	Decontamination of fresh fruits	Perni et al. (2008a,b) and Shaw et al. (2015)
Shiratani	Kyushu University, Japan	Effect on seed sprouting; decontamination of seeds	Hayashi et al. (2014) and Kitazaki et al. (2014)

2.1 Πλάσμα

Το πλάσμα αναφέρεται συχνά ως η τέταρτη κατάσταση της ύλης, σύμφωνα με ένα σχήμα που απεικονίζει την αύξηση του επιπέδου ενέργειας από στερεό σε υγρό προς αέριο και τελικά σε μια ιονισμένη κατάσταση, του πλάσματος αερίου, η οποία παρουσιάζει μοναδικές ιδιότητες. Η ιεραρχία των αυξανόμενων ενεργειακών επιπέδων απεικονίζεται στην Εικόνα 2.2. Έτσι, οποιαδήποτε πηγή ενέργειας που μπορεί να ιονίσει ένα αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή πλάσματος. Το πλάσμα αποτελείται από αρκετά διεγερμένα ατομικά, μοριακά, ιοντικά και ριζικά είδη, που συνυπάρχουν με πολλά δραστικά είδη, όπως ηλεκτρόνια, θετικά και αρνητικά ιόντα, ελεύθερες ρίζες, άτομα αερίου, μόρια σε θεμελιώδη ή σε διεγερμένη κατάσταση και κβάντα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας (UV φωτόνια και ορατό φως). Τα ελεύθερα ηλεκτρικά φορτία - ηλεκτρόνια και ιόντα - καθιστούν το πλάσμα ηλεκτρικά αγωγίμο, εσωτερικά διαδραστικό και ανταποκρίνεται έντονα στα ηλεκτρομαγνητικά πεδία (Fridman A. , 2008). Τα πιο ενεργά χημικά είδη στο πλάσμα χαρακτηρίζονται συχνά από την αποτελεσματική τους αντιμικροβιακή δράση.



Εικόνα 2.2. Εικονική αναπαράσταση των τεσσάρων καταστάσεων της ύλης (Misra et al., 2016).

Το πλάσμα μπορεί να υποδιαιρεθεί σε πλάσμα ισορροπίας (θερμικό) και μη ισορροπίας (χαμηλής θερμοκρασίας). Εάν ένα αέριο θερμαίνεται σε επαρκώς υψηλή θερμοκρασία (της τάξης των 20.000 K) για την επίτευξη ιονισμού του αερίου, αυτό το πλάσμα θα αναφέρεται ως "θερμικό πλάσμα". Στο θερμικό πλάσμα, όλα τα χημικά είδη, ηλεκτρόνια και ιόντα συνυπάρχουν σε θερμοδυναμική ισορροπία θερμοκρασίας. Το πλάσμα χαμηλής θερμοκρασίας μπορεί να διακλαδιστεί περαιτέρω σε πλάσμα οιονεί ισορροπίας (τυπικά 100-150 °C) και πλάσμα μη ισορροπίας (<60 °C). Στον πρώτο τύπο, υπάρχει μια τοπική θερμοδυναμική ισορροπία μεταξύ των ειδών, ενώ στην τελευταία, η ψύξη των ιόντων και των μη φορτισμένων μορίων είναι πιο αποτελεσματική από τη μεταφορά ενέργειας από τα ηλεκτρόνια και το αέριο παραμένει σε χαμηλή θερμοκρασία. Γι' αυτό το λόγο το πλάσμα μη

ισορροπίας ονομάζεται επίσης Non Thermal Plasma (NTP) ή ψυχρό πλάσμα. Τα πλάσματα μη ισορροπίας λαμβάνονται τυπικά μέσω ηλεκτρικών εκκενώσεων σε αέρια.

Ο όρος "ψυχρό πλάσμα" χρησιμοποιήθηκε πρόσφατα για να διακρίνει το πλάσμα μίας ατμόσφαιρας, που βρίσκεται κοντά σε θερμοκρασία δωματίου, από άλλα NTP. Η δημιουργία ομοιόμορφου, καλά ελεγχόμενου ψυχρού πλάσματος σε ατμοσφαιρικές πιέσεις έχει πλέον γίνει πραγματικότητα, δίνοντας έτσι την ευκαιρία για ασφαλή και ελεγχόμενη εφαρμογή πλάσματος σε τρόφιμα και βιολογικές επιφάνειες, συμπεριλαμβανομένων των ιατρικών εφαρμογών.

Το ψυχρό πλάσμα αποκτάται σε ατμοσφαιρικές ή σε μειωμένες πιέσεις (κενό) και απαιτεί λιγότερη ισχύ. Το ψυχρό πλάσμα μπορεί να παραχθεί με ηλεκτρική εκκένωση σε αέριο σε χαμηλότερη πίεση ή με τη χρήση μικροκυμάτων. Τυπικές διατάξεις για την παραγωγή πλάσματος σε ατμοσφαιρική πίεση περιλαμβάνουν την εκκένωση κορώνας, την εκκένωση διηλεκτρικού φράγματος (DBD), το πλάσμα ραδιοσυχνότητας και την εκκένωση τόξου. Αντίθετα, τα θερμικά πλάσματα παράγονται σε υψηλότερες πιέσεις και απαιτούν περισσότερη ισχύ.

2.2 Ιστορία

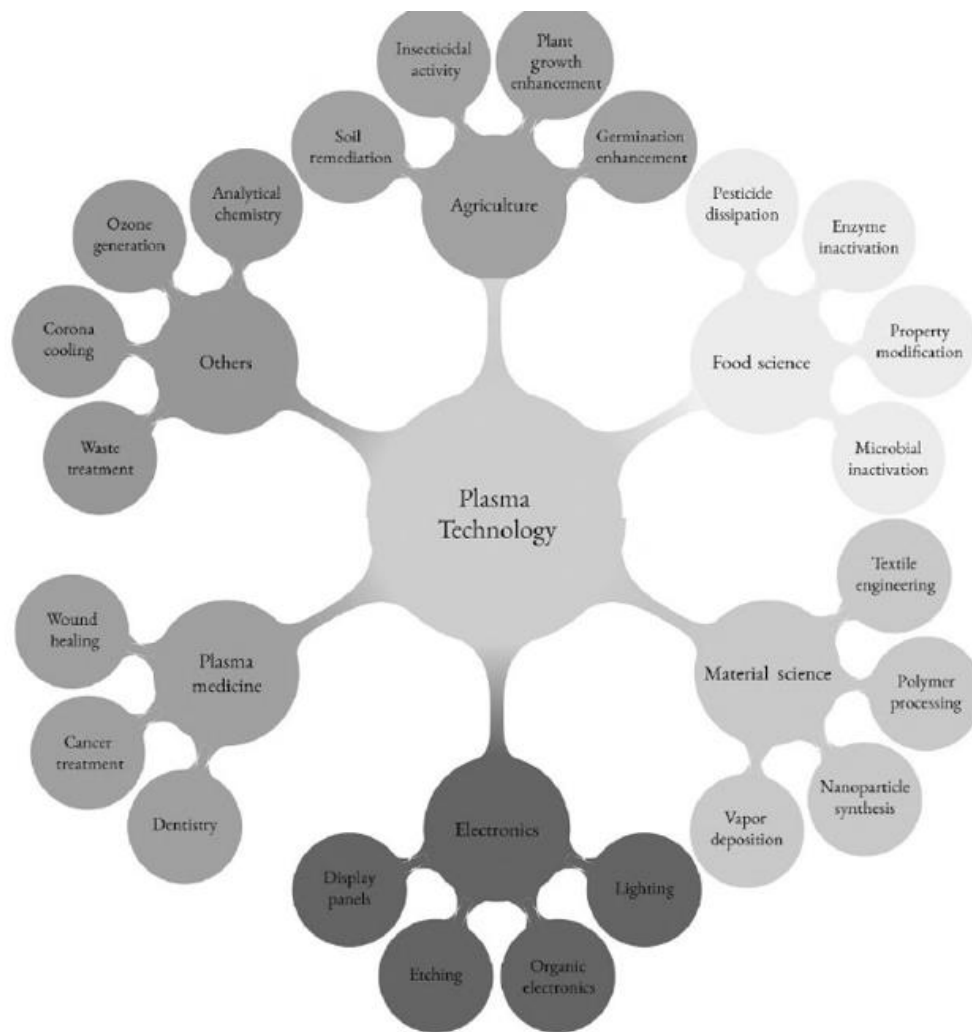
Το πλάσμα στη φύση, όπως ο κεραυνός και το Βόρειο Σέλας, είναι κάτι εντυπωσιακό για τους ανθρώπους. Οι πρώτες έρευνες σε ηλεκτρικές εκκενώσεις διεξήχθησαν από τον Ernst Siemens, ο οποίος το 1857 αναφέρθηκε στα φαινόμενα των DBD. Το 1928, ο Αμερικανός επιστήμονας Irving Langmuir παρατήρησε ότι τα ηλεκτρόνια, τα ιόντα και τα ουδέτερα άτομα σε ένα ιονισμένο αέριο θα μπορούσαν να θεωρηθούν ως σωματιδιακή ύλη παρασυρόμενη σε κάποιο είδος ρευστού μέσου. Αυτό ονομάστηκε μέσο μεταφοράς πλάσματος, παρόμοιο με το πλάσμα που δημιούργησε ο Τσέχος φυσιολόγος Jan Purkinje για να υποδηλώσει το διαυγές υγρό που παραμένει μετά την αφαίρεση όλων των σωματιδιακών υλών του αίματος. Ωστόσο, προέκυψε ότι δεν υπήρχε ρευστό μέσο που να παρασύρει τα ηλεκτρόνια, τα ιόντα και τα ουδέτερα άτομα σε ένα ιονισμένο αέριο. Παρά το γεγονός αυτό, το όνομα επικράτησε και ο όρος "πλάσμα" αναφέρεται τώρα σε οποιοδήποτε σύστημα με ηλεκτρόνια και ιόντα, όπου τα φορτισμένα σωματίδια καθορίζουν τις ιδιότητες του συστήματος.

Μετά το σημαντικό έργο του Langmuir, η φυσική του πλάσματος εμφανίστηκε ως ένα σημαντικό πεδίο έρευνας. Ο Townsend ήταν ο πρώτος που περιέγραψε τη ροή ρεύματος μέσω ενός αερίου, περιγράφοντας την αρχή της αυτοσυνοχής λόγω της ισορροπίας ιονισμού κατά τη διαδικασία εκκένωσης του αερίου (Townsend, 1915; 1925). Η επεξεργασία πλάσματος χρησιμοποιείται από τη δεκαετία του 1970 για τη χάραξη υλικών ημιαγωγών (Manos & Flamm, 1989). Η εφαρμογή πλάσματος στο πλαίσιο της εξελισσόμενης βιομηχανίας ηλεκτρονικών υπολογιστών ξεκίνησε τη δεκαετία του '80, ιδιαίτερα για την κατασκευή μικροσκοπικών κυκλωμάτων. Από την τελευταία δεκαετία του 20^{ου} αιώνα, η ανάπτυξη και η εξέλιξη του πλάσματος ατμοσφαιρικής πίεσης έχει εξαλείψει την ανάγκη για δαπανηρούς θαλάμους κενού και συστήματα άντλησης. Στα επόμενα χρόνια, εμφανίστηκαν αρκετές άλλες εφαρμογές πλάσματος, όπως η επεξεργασία νερού και η διατήρηση τροφίμων. Πιο πρόσφατα, ψυχρά πλάσματα παράχθηκαν μέσα σε σφραγισμένες πλαστικές

συσκευασίες και αυτό αναφέρεται ως "τεχνολογία πλάσματος εντός συσκευασίας". (Misra, et al., 2014, Patil, et al., 2014)

2.3 Το Ψυχρό Πλάσμα στην Τεχνολογία Τροφίμων

Στην Εικόνα 2.3 παρουσιάζεται μια επισκόπηση των εφαρμογών της τεχνολογίας μη θερμικού πλάσματος αερίου σε διάφορους τομείς της επιστήμης και της τεχνολογίας. Είναι προφανές ότι το φάσμα των εφαρμογών καλύπτει πολλές πτυχές της καθημερινής ζωής και σχεδόν όλες τις μεγάλες βιομηχανίες. Ωστόσο, μερικές από τις πρώτες εφαρμογές, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, περιλαμβάνουν τη χρήση πλάσματος σε ηλεκτρονικά, ειδικά για την επεξεργασία υλικών, όπως η χάραξη επιφανειών ημιαγωγών. Οι τηλεοράσεις πλάσμα με βάση το DBD είναι ίσως η πιο γνωστή εφαρμογή πλάσματος. Άλλες εφαρμογές επεξεργασίας υλικών περιλαμβάνουν τη χρήση πλάσματος στη βιομηχανία πολυμερών και κλωστοϋφαντουργικών για την τροποποίηση επιφανειών. Τα ψυχρά πλάσματα γίνονται ολοένα και πιο σημαντικά στη νανοτεχνολογία, ειδικά για τη σύνθεση νανοσωματιδίων. Τα ψυχρά πλάσματα είναι επίσης μια εναλλακτική τεχνολογία για την απορρύπανση αέριων φάσεων από πτητικές οργανικές ενώσεις που εκπέμπονται από διάφορες βιομηχανίες και δοκιμάζονται για την καταστροφή υγρών φάσεων ρύπων σε βιομηχανικά απόβλητα (Misra N., 2015) Το ψυχρό πλάσμα ακολουθεί την επιτυχία της εφαρμογής όζοντος, η οποία αποτελεί προκάτοχο του για διεργασίες απολύμανσης, που τυπικά παράγονται με εκκένωση κορώνας. Εκτός από τις διάφορες βιομηχανικές χρήσεις, το πλάσμα είναι γενικά ένα χρήσιμο εργαλείο στην αναλυτική χημεία, ειδικά για ιονισμό μορίων και ατόμων για οπτική φασματοσκοπία και φασματομετρία μάζας (Kadam et al., 2016). Μια σημαντική ανάλυση των εξελίξεων στην επιστήμη και την τεχνολογία του πλάσματος που εκτείνεται την τελευταία δεκαετία αποκαλύπτει ότι οι εφαρμογές του πλάσματος στη βιολογία είναι ένα από τα πιο συναρπαστικά και πολυεπιστημονικά πεδία. Αυτό σηματοδοτεί τη μετάβαση από την επεξεργασία άψυχων αντικειμένων σε ζωντανά ή κυτταρικά αντικείμενα. Τέτοιες εφαρμογές περιλαμβάνουν την επεξεργασία τροφίμων, φυτικών υλικών και φαρμάκων για ζώα και ανθρώπους.



Εικόνα 2.3. Επισκόπηση των εφαρμογών του μη θερμικού πλάσματος σε διάφορους τομείς της επιστήμης και της τεχνολογίας (Misra et al., 2016)

Το ψυχρό πλάσμα είναι μια νεοφερμένη τεχνολογία στο πεδίο των τροφίμων. Προκειμένου να εκτιμηθούν οι δυνατότητες που προσφέρει το ψυχρό πλάσμα για τη βιομηχανία τροφίμων, μπορεί κανείς να συγκρίνει τους περιορισμούς των μη θερμικών τεχνολογιών και τα πλεονεκτήματα του ψυχρού πλάσματος. Με βάση την επιστημονική και μη επιστημονική βιβλιογραφία και τα διπλώματα ευρεσιτεχνίας, τα πλεονεκτήματα που περιγράφονται για την εφαρμογή ψυχρού πλάσματος για τη διατήρηση των τροφίμων μπορούν να συνοψιστούν ως εξής (Misra et al., 2016):

1. Το ψυχρό πλάσμα προσφέρει υψηλή αποτελεσματικότητα απενεργοποίησης μικροβίων σε χαμηλές θερμοκρασίες (γενικά <math>< 50\text{ }^\circ\text{C}</math>). Αυτό επιτρέπει την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής, βελτιώνοντας έτσι την αποτελεσματικότητα της αλυσίδας εφοδιασμού.
2. Το ψυχρό πλάσμα είναι συμβατό με τις περισσότερες υπάρχουσες συσκευασίες και τροποποιημένες ατμόσφαιρες.

3. Τα ενεργά χημικά είδη στο πλάσμα χαρακτηρίζονται από υψηλή διάχυση και συνεπώς δρουν γρήγορα και έχουν πρόσβαση σε ολόκληρη την επιφάνεια των τροφίμων στις περισσότερες περιπτώσεις.

4. Το ψυχρό πλάσμα είναι ασφαλές για τα περισσότερα τρόφιμα, αν όχι για όλα. Επιπλέον, θα μπορούσε να βοηθήσει στη μείωση της χρήσης συντηρητικών.

5. Η εφαρμογή της τεχνολογίας ψυχρού πλάσματος δεν κάνει χρήση νερού ή διαλυτών. Επομένως, θεωρείται επίσης φιλική προς το περιβάλλον.

6. Γενικά, το ψυχρό πλάσμα δεν αφήνει υπολείμματα, δεδομένου ότι παρέχεται επαρκής χρόνος για την πραγματοποίηση των αντιδράσεων ανασυνδυασμού. Ωστόσο, αυτό μπορεί να μην είναι καθολικά αληθές και απαιτεί εκτεταμένες μελέτες για την επικύρωσή του.

7. Οι περισσότερες πηγές ψυχρού πλάσματος απαιτούν χαμηλή κατανάλωση ενέργειας. Ως εκ τούτου, η τεχνολογία ψυχρού πλάσματος είναι ενεργειακά αποδοτική.

Ένα άλλο κύριο σημείο που πρέπει να σημειωθεί εδώ είναι ότι η τεχνολογία είναι εφαρμόσιμη τόσο για στερεά όσο και για υγρά τρόφιμα. Οι διάφορες διατάξεις των πηγών πλάσματος επιτρέπουν τη δημιουργία πλασμάτων σε διαφορετικές ατμόσφαιρες αερίων (για την επεξεργασία μιας σειράς προϊόντων) και επίσης επιτρέπουν τις εκκενώσεις κάτω από την επιφάνεια του νερού. Αν και παραπάνω συνοψίστηκαν τα πλεονέκτημα της τεχνολογίας ψυχρού πλάσματος, επιθυμούμε επίσης να αναφέρουμε ότι δεν είναι απαραίτητα η προτιμότερη τεχνολογία για την απολύμανση όλων των κατηγοριών τροφίμων.

Μερικοί από τους περιορισμούς της τεχνολογίας ψυχρού πλάσματος περιλαμβάνουν (Misra et al., 2016):

1. Επί του παρόντος, ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που σχετίζονται με τη χρήση ψυχρού πλάσματος στα τρόφιμα συνδέεται με τον ακριβή έλεγχο της χημείας των αντιδράσεων πλάσματος αερίου, ιδίως λόγω των διαφορετικών επιπέδων υγρασίας που εισάγονται από τα τρόφιμα.

2. Το ψυχρό πλάσμα από μίγμα αερίων, όπου περιέχεται οξυγόνο μπορεί να μην είναι κατάλληλο για την επεξεργασία τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, καθώς τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου που σχηματίζονται θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε οξειδωση.

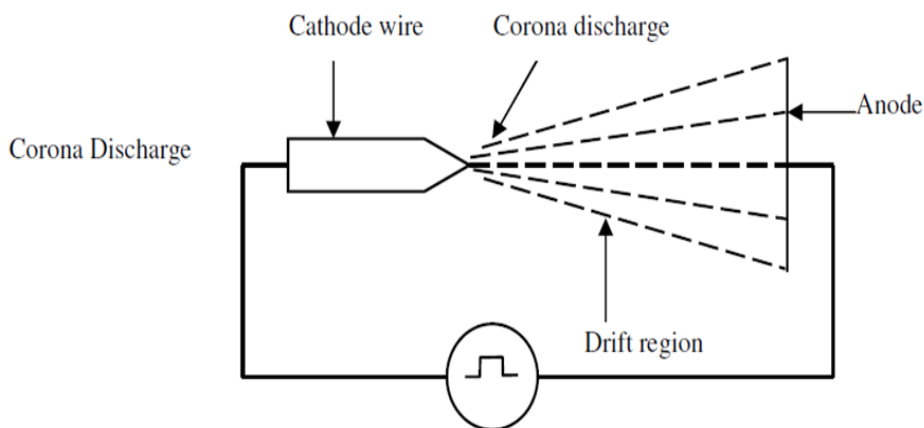
3. Το κόστος της επεξεργασίας με πλάσμα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το κόστος του μίγματος αερίου ή του αερίου από το οποίο παράγεται το πλάσμα. Η συνολική διαδικασία μπορεί να αποδειχθεί δαπανηρή εάν λειτουργεί με χρήση ευγενών αερίων.

4. Η παραγωγή πλάσματος, όταν πραγματοποιείται σε πολύ υψηλές τάσεις, απαιτεί πρόσθετα μέτρα ασφαλείας. Επίσης απαιτούνται κατάλληλα μέτρα για την καταστροφή και την εξάτμιση των αερίων.

2.4 Πηγές Ατμοσφαιρικού Μη Θερμικού Πλάσματος (ATMOSPHERIC NONTHERMAL PLASMA – ANTP)

2.4.1 Εκκένωση Κορώννας

Η πρώτη μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή ANTP ήταν η εκκένωση κορώννας (Roth, 1995; 2001; Fridman et al., 2005; Chang et al., 1991; Kogelschatz, 2004). Υπάρχει σε διάφορες μορφές, ανάλογα με την πολικότητα του πεδίου και τη γεωμετρική διαμόρφωση του ηλεκτροδίου. Αυτός ο τύπος εκκένωσης είναι το χαρακτηριστικό ενός ζεύγους ασύμμετρων ηλεκτροδίων και προκύπτει από το ηλεκτρικό πεδίο που περιβάλλει διατάξεις ανομοιογενών ηλεκτροδίων που τροφοδοτούνται με συνεχή ή παλμική τάση συνεχούς ρεύματος. Σε ένα μη ομοιόμορφο ηλεκτρικό πεδίο, όπως για παράδειγμα το διάκενο στο επίπεδο του σημείου ή το κυλινδρικό κενό του σύρματος, το υψηλό ηλεκτρικό πεδίο κοντά στο σημειακό ηλεκτρόδιο ή στο καλώδιο ηλεκτροδίου υπερβαίνει κατά πολύ την αντοχή διάσπασης του αερίου και δημιουργείται ασθενώς ιονισμένο πλάσμα. Οι κορώννες είναι επομένως μη ομοιόμορφες εκκενώσεις που αναπτύσσονται στην περιοχή υψηλού πεδίου κοντά στο αιχμηρό ηλεκτρόδιο που απλώνεται προς το επίπεδο ηλεκτρόδιο. Το φαινόμενο αυτό της τοπικής διάσπασης ονομάζεται εκκένωση κορώννας (Corona Discharge). Η Εικόνα 2.4 δείχνει ένα σχήμα διάταξης κορώννας από σημείο σε επίπεδο. Η κορώννα είναι θετική όταν το ηλεκτρόδιο με την ισχυρότερη καμπυλότητα συνδέεται με τη θετική έξοδο τροφοδοσίας και αρνητική όταν αυτό το ηλεκτρόδιο είναι συνδεδεμένο στον αρνητικό πόλο τροφοδοσίας. Η ανάπτυξη μιας εκκένωσης κορώννας εξελίσσεται διαδοχικά μέσω των ακόλουθων σταδίων: (1) γίνεται ασύμμετρη διαμόρφωση ηλεκτροδίου, (2) εφαρμόζεται υψηλή τάση και διατίθεται ελεύθερο ηλεκτρικό φορτίο. (3) μια χιονοστιβάδα συσσωρεύεται και αφήνει πίσω μια περιοχή χώρου φόρτισης (4) τα φωτόνια από τη χιονοστιβάδα δημιουργούν νέους φορείς φόρτισης έξω από την περιοχή χώρου φόρτισης. (5) μια νέα χιονοστιβάδα αναπτύσσεται πιο κοντά στην κάθοδο. Η πιο σημαντική εφαρμογή μεγάλης κλίμακας της εκκένωσης κορώννας είναι στους ηλεκτροστατικούς κατακρυμνηστές (ESP), οι οποίοι χρησιμοποιούνται για τη συλλογή σκόνης από βιομηχανικά αέρια. Εκτός από το ESP, οι εκκενώσεις κορώννας χρησιμοποιούνται επίσης σε καθαρισμό νερού, ηλεκτροφωτογραφία, μηχανήμα αντιγραφής, εκτυπωτές και πιστόλι ψεκασμού υγρού και σε επίστρωση σκόνης. Ωστόσο, η περιορισμένη περιοχή και η ανομοιομορφία του πεδίου έχουν περιορίσει την εφαρμογή της στην επεξεργασία υλικών.

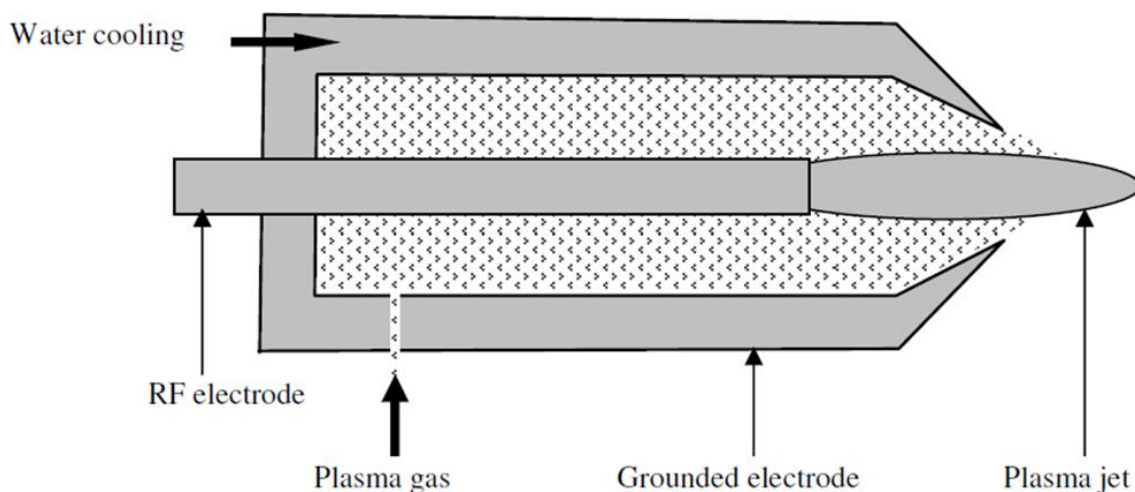


Εικόνα 2.4. Διάταξη εκκένωσης κορώνας (Nehra et al., 2008)

2.4.2 Τζετ Πλάσματος Ατμοσφαιρικής Πίεσης

Ένας άλλος τύπος εκκένωσης που είναι ικανός να παράγει μη θερμικό πλάσμα σε ατμοσφαιρική πίεση είναι το jet πλάσματος ατμοσφαιρικής πίεσης. Μία διάταξη του Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) φαίνεται στην Εικόνα 2.5. Το APPJ (Schutze, et al., 1998; Jeong, et al., 1998; Herrmann et al., 1999; Park et al., 2001; Selwyn et al., 2001; Babayan, et al., 2001) που αναπτύχθηκε από τον Jeong (University of California, Los Angeles) σε συνεργασία με τον Park (Εθνικό Εργαστήριο του Los Alamos) αποτελείται από δύο ομόκεντρα ηλεκτρόδια μέσω των οποίων ρέει ένα μίγμα ηλίου, οξυγόνου ή άλλων αερίων. Σε αυτή τη διάταξη, το εσωτερικό ηλεκτρόδιο συνδέεται με ισχύ ραδιοσυχνότητας 13,56 MHz σε τάση μεταξύ 100-250 V και το εξωτερικό ηλεκτρόδιο γειώνεται. Εφαρμόζοντας ισχύ RF, η εκκένωση αναφλέγεται και λειτουργεί σε ένα αέριο τροφοδοσίας, το οποίο ρέει μεταξύ ενός εξωτερικού γειωμένου, κυλινδρικού ηλεκτροδίου και ενός κεντρικού ηλεκτροδίου και παράγει ένα ρεύμα εκροής πολύ αντιδραστικών χημικών ειδών υψηλής ταχύτητας. Τα κεντρικά ηλεκτρόδια που λειτουργούν με ισχύ ραδιοσυχνότητας επιταχύνουν τα ελεύθερα ηλεκτρόνια. Αυτά τα ενεργειακά ηλεκτρόνια υφίστανται ανελαστικές συγκρούσεις με το αέριο τροφοδοσίας, παράγοντας διεγερμένα μόρια, άτομα, ελεύθερες ρίζες και επιπλέον ζεύγη ιόντων-ηλεκτρονίων. Μόλις το αέριο εξέρχεται από τον χώρο εκκένωσης, τα ιόντα και τα ηλεκτρόνια χάνονται γρήγορα με ανασυνδυασμό, αλλά τα ρεύματα εκροής εξακολουθούν να περιέχουν ουδέτερα μετασταθή είδη και ρίζες. Τα βασικά λειτουργικά χαρακτηριστικά του APPJ είναι τα εξής: (1) παράγει μια σταθερή, ομοιογενή και ομοιόμορφη εκκένωση σε ατμοσφαιρική πίεση, (2) λειτουργεί σε ισχύ ραδιοσυχνότητας (RF) 250 W και συχνότητα 13,56 MHz, (3) το ιονισμένο αέριο από το jet πλάσματος εξέρχεται μέσω του ακροφυσίου, όπου κατευθύνεται πάνω στο υπόστρωμα, (4) λειτουργεί χωρίς διηλεκτρικό κάλυμμα πάνω από το ηλεκτρόδιο, αλλά είναι απαλλαγμένο από νημάτια, ταινίες και τόξα, (4) η θερμοκρασία του αερίου της εκκένωσης είναι τόσο χαμηλή όσο 50°C, επιτρέποντάς την μη καταστροφική επεξεργασία ή έως και 300°C, γεγονός που επιτρέπει την πιο «επιθετική» επεξεργασία πιο στιβαρών επιφανειών, (5) παρουσιάζει μεγάλη ομοιότητα με την εκκένωση DC χαμηλής πίεσης. Αυτή η τεχνολογία δείχνει ικανή να χρησιμοποιηθεί σε εφαρμογές υλικών που περιορίζονται τώρα στο κενό. Αυτά τα χαρακτηριστικά δίνουν στο APPJ τη

δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί σε μεγάλο πλήθος εφαρμογών. Η χρήση του είναι σημαντική στην επεξεργασία υλικών, για παράδειγμα σε εφαρμογές, όπως η χάραξη πολυαμιδίου, βολφραμίου, τανταλίου και διοξειδίου του πυριτίου. Το ταχέως εκρέον ρεύμα δραστικών ειδών στην τεχνολογία APPJ χρησιμοποιείται επίσης σε εφαρμογές, όπως απολύμανση υλικών και στην απομάκρυνση ραδιονουκλιδίων από επιφάνειες και εξοπλισμούς. Επιπλέον, χρησιμοποιείται για τον καθαρισμό μεγάλων βιομηχανικών τμημάτων πιο αποτελεσματικά από τους διαλύτες, για αποστείρωση χειρουργικών και οδοντιατρικών συσκευών και νοσοκομειακών επιφανειών και αφαίρεση χρωμάτων από τούβλα, καθιστώντας το αποτελεσματικό για την αφαίρεση του γκράφιτι, αλλά και στην κλωστοϋφαντουργία.

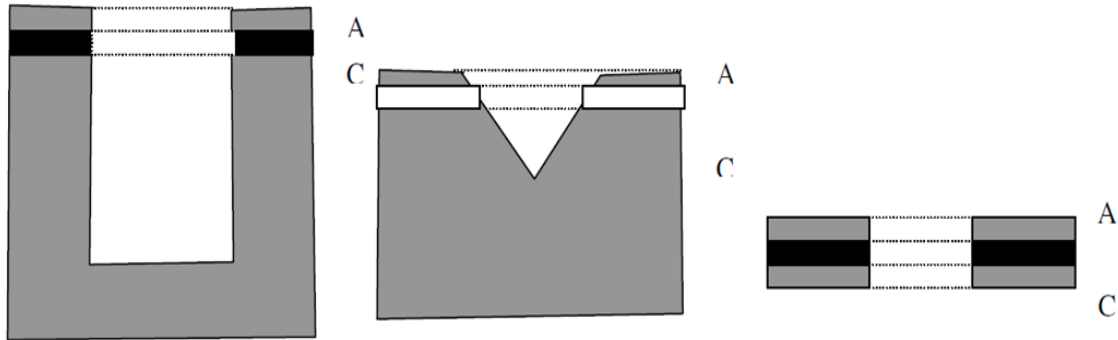


Εικόνα 2.5. Διάταξη τζετ πλάσματος ατμοσφαιρικής πίεσης (Nehra et al., 2008)

2.4.3 Εκκένωση Microhollow Καθόδων

Η τρίτη μέθοδος για την παραγωγή ANTP βασίζεται στη χρήση της ιδέας των microhollow ηλεκτροδίων καθόδου (Εικόνα 2.6). Αυτό το είδος εκκένωσης με την τροποποιημένη κάθοδο είναι γνωστό ως Hollow Cathode Discharge (HCD). Το HCD (White, 1959) αποτελείται από μια κάθοδο, η οποία περιέχει κάποιο είδος οπής ή μπορεί να είναι ένας κούφιος κύλινδρος, σφαιρικό τμήμα ή απλώς ένα ζεύγος επίπεδων παράλληλων πλακών και μια αυθαίρετα διαμορφωμένη άνοδος. Το HCD χρησιμοποιήθηκε αρχικά ως πηγή ρεύματος ηλεκτρονίων υψηλής πυκνότητας σε χαμηλή πίεση αερίου για την ανάπτυξη ψευδοδιακοπών υψηλής ισχύος. Οι κύριες αιτίες δημιουργίας ηλεκτρονίων σε κούφιας καθόδους περιλαμβάνουν: (1) εκπομπή δευτερογενών ηλεκτρονίων από την κάθοδο που οφείλεται σε ιόντα και υπεριώδη φωτόνια, (2) εκπομπές δευτερογενών ηλεκτρονίων λόγω βομβαρδισμού μετασταθών ατόμων στην κάθοδο, ωστόσο, η ροή τους στην κάθοδο είναι πολύ μικρότερη από εκείνη των ιόντων, (3) εκκρεμές ή φαινόμενο πεντάλ για την ταλαντωτική κίνηση των ηλεκτρονίων μεταξύ των αντίθετων επιφανειών καθόδου υπό την επίδραση των θετικών πλασμάτων. Σε ένα συγκεκριμένο εύρος τιμών για το προϊόν pD , όπου p είναι η πίεση και D η διάμετρος της διάταξης καθόδου, το ρεύμα ενισχύεται από την κίνηση των ταλαντούμενων ηλεκτρονίων. Από μια θεμελιώδη άποψη, η λειτουργία του HCD σε υψηλή πίεση μπορεί να επιτευχθεί μειώνοντας τη διάμετρο της οπής σε τιμές της τάξεως μερικών δεκάδων μικρομέτρων. Το αποτέλεσμα αυτό της HCD μπορεί να επιτευχθεί σε ατμοσφαιρική πίεση. Έτσι, για τις

εκκενώσεις ατμοσφαιρικής πίεσης σε HCD, η τυπική διάμετρος οπών θα πρέπει να είναι σε περιοχή μικρόμετρων και επομένως ο όρος Microhollow Discharge Cathode (MHCD) (Schoenbach et al., 1997; Frame et al., 1997; Schoenbach & Stark, 1998; Nehra et al., 2005) προκύπτει λόγω του απαιτούμενου μικρού μεγέθους του ανοίγματος της καθόδου για λειτουργία υψηλής πίεσης.



Εικόνα 2.6. Τυπικές γεωμετρίες ηλεκτροδίων της εκκένωσης microhollow καθόδων (Nehra et al., 2008)

Το πλάσμα MHCD μπορεί να λειτουργεί είτε σε λειτουργία συνεχούς ή παλμικού ρεύματος και δύο νόμοι καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τις ιδιότητές του. Το προϊόν (pd) πίεσης p και αποστάσεως ανόδου-καθόδου d υπακούει στον γνωστό νόμο Paschen, ο οποίος καθορίζει την απαιτούμενη τάση διάσπασης για μια δεδομένη τιμή p και d , καθώς και την ταυτότητα του αερίου λειτουργίας. Ένας δεύτερος νόμος, μοναδικός για το HCD, περιλαμβάνει το προϊόν (pD) στο οποίο το D είναι η διάσταση ενός ανοίγματος στην κάθοδο. Ο νόμος ομοιότητας για το HCD είναι η προσπάθεια της επέκτασης του εύρους πίεσεως για τη λειτουργία της καθόδου. Οι τυπικές γεωμετρίες ηλεκτροδίων του MHCD φαίνονται στην Εικόνα 2.6. Στην πραγματικότητα, τα MHCDs είναι υψηλής πίεσης και συνεχούς ρεύματος, εκκενώσεις αερίων μεταξύ δύο επίπεδων παράλληλων ηλεκτροδίων που διαχωρίζονται από λεπτά στρώματα διηλεκτρικού υλικού με μία κεντρική οπή σε κάθε ηλεκτρόδιο. Το πάχος του υλικού των ηλεκτροδίων και των διηλεκτρικών στρωμάτων είναι της τάξης των 100 μm , ενώ η διάμετρος της οπής κυμαίνεται μεταξύ 100-200 μm . Τα πλάσματα MHCD έχουν χρησιμοποιηθεί για διάφορες εφαρμογές, όπως αποκατάσταση αερίων ρύπων, ιατρική αποστείρωση και βιολογική απολύμανση, καθαρισμός μεταλλικών επιφανειών, εναπόθεση διαμαντιών κλπ.

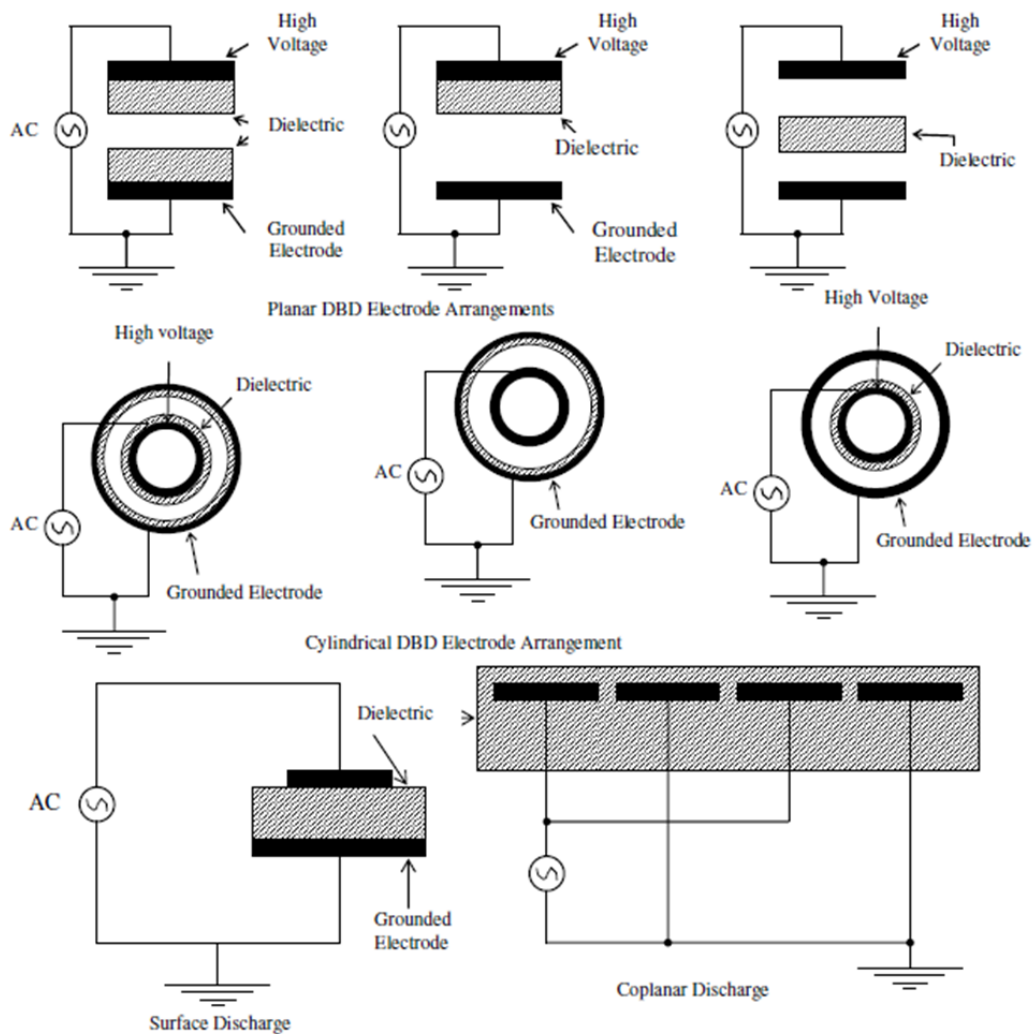
2.4.4 Εκκένωση Διηλεκτρικού Φράγματος

Η εκκένωση διηλεκτρικού φράγματος (DBD) είναι ένας ειδικός τύπος εκκενώσεως εναλλασσόμενου ρεύματος, ο οποίος παρέχει ένα ισχυρό θερμοδυναμικό, μη ισορροπημένο πλάσμα σε ατμοσφαιρική πίεση και σε μέτρια θερμοκρασία αερίου. Παράγεται σε μια διάταξη αποτελούμενη από δύο ηλεκτρόδια, τουλάχιστον ένα από τα οποία είναι καλυμμένο με διηλεκτρικό στρώμα τοποθετημένο μεταξύ των μεταλλικών ηλεκτροδίων. Λόγω της παρουσίας χωρητικής ζεύξης, απαιτούνται χρονικά μεταβαλλόμενες τάσεις για την

λειτουργία του DBD. Μία από τις σημαντικότερες διαφορές μεταξύ της κλασσικής και της DBD εκκένωσης είναι ότι στην πρώτη τα ηλεκτρόδια έρχονται σε άμεση επαφή με το αέριο λειτουργίας και τα πλάσματα και κατά συνέπεια κατά τη διάρκεια της διαδικασίας εκκένωσης, γίνεται διάβρωση των ηλεκτροδίων. Αντίθετα, στο DBD τα ηλεκτρόδια διαχωρίζονται από τον χώρο που συμβαίνει η εκκένωση με ένα διηλεκτρικό φράγμα, το οποίο τα προστατεύει από τη διάβρωση. Μια άλλη θεμελιώδης διαφορά είναι ότι τα DBD δεν μπορούν να λειτουργούν με τάση συνεχούς ρεύματος, επειδή η χωρητική σύζευξη του διηλεκτρικού απαιτεί εναλλασσόμενη τάση, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Η DBD λειτουργεί με τάσεις εναλλασσόμενου ρεύματος εύρους 1-100 kV και από χαμηλές συχνότητες έως και αρκετά megahertz. Το ψυχρό πλάσμα DBD μπορεί να παραχθεί σε διάφορα μέσα εργασίας μέσω ιονισμού με ηλεκτρική εκκένωση υψηλής συχνότητας και υψηλής τάσης.

Υπάρχουν διάφορες διατάξεις και γεωμετρίες της μεθόδου DBD. Αυτές περιλαμβάνουν τη κλασσική εκκένωση όγκου, την επιφανειακή εκκένωση και τη συνεπίπεδη.

Οι εκκενώσεις όγκου μπορούν επίσης να έχουν είτε επίπεδες είτε ομοαξονικές διατάξεις. Σε επίπεδες διατάξεις ηλεκτροδίων, τα δύο ηλεκτρόδια είναι παράλληλα μεταξύ τους και υπάρχουν ένα ή δύο διηλεκτρικά φράγματα είτε (i) στο ηλεκτρόδιο με ηλεκτρική ενέργεια ή στο γειωμένο ηλεκτρόδιο, ή (ii) και στα δύο ηλεκτρόδια, ή (iii) μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων. Τα ηλεκτρόδια σε DBD μπορούν επίσης να διατάσσονται με ομοαξονικό τρόπο όπου το ένα ηλεκτρόδιο είναι μέσα στο άλλο με τουλάχιστον ένα ή δύο διηλεκτρικά φράγματα τοποθετημένα είτε (i) στην εξωτερική πλευρά του εσωτερικού ηλεκτροδίου / στην εσωτερική πλευρά του εξωτερικού ηλεκτροδίου, είτε (ii) και στα δύο ηλεκτρόδια, ή (iii) μεταξύ των δύο ηλεκτροδίων. Εκτός από τις εκκενώσεις όγκου, υπάρχουν και άλλες διατάξεις που χρησιμοποιούν είτε επίπεδη είτε ομοαξονική γεωμετρία. Η διάταξη επιφανειακής εκκένωσης (Pietsch & Humpert, 2002) έχει ένα λεπτό και μακρύ ηλεκτρόδιο σε μια διηλεκτρική επιφάνεια και ένα αντίθετο ηλεκτρόδιο στην άλλη πλευρά της διηλεκτρικής επιφάνειας. Σε αυτή τη διάταξη, ο χώρος εκκένωσης δεν είναι σαφώς καθορισμένος και έτσι η εκκένωση διαδίδεται κατά μήκος της διηλεκτρικής επιφάνειας. Υπάρχουν επίσης συνδυασμοί των επιφανειακών και των διατάξεων όγκου, όπως η συνεπίπεδη διάταξη (Hulka & Pietsch, 2002; Gibalon et al., 2002) που χρησιμοποιείται στον πίνακα απεικόνισης πλάσματος. Η συνεπίπεδη διάταξη εκκένωσης χαρακτηρίζεται από ζεύγη μακρών παράλληλων ηλεκτροδίων με αντίθετη πολικότητα, τα οποία είναι ενσωματωμένα εντός ενός διηλεκτρικού όγκου κοντά σε μια επιφάνεια. Εκτός από αυτές τις διατάξεις, άλλες παραλλαγές του DBD (Lee & Yeom, 2005) χρησιμοποιούνται επίσης σε διάφορες εφαρμογές. Οι τυπικές διατάξεις του DBD φαίνονται στην Εικόνα 2.7.



Εικόνα 2.7. Τυπικές διατάξεις ηλεκτροδίων σε DBD (Nehra et al., 2008)

Οι τεχνολογίες DBD έχουν πολλές δυνατότητες (Χυ, 2001; Kogelschatz et al., 1987; 1999; Kogelschatz., 1990; Dakrouri et al., 2002) και χρησιμοποιούνται ευρέως σε μεγάλο αριθμό τεχνικών εφαρμογών. Το πλεονέκτημα του DBD έναντι άλλων εκκενώσεων έγκειται στο να έχει τη δυνατότητα να δουλεύει με μη θερμικό πλάσμα σε ατμοσφαιρική πίεση. Αρχικά, αυτή η τεχνολογία χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή όζοντος για την επεξεργασία του πόσιμου νερού. Από τότε ο αριθμός των βιομηχανικών εφαρμογών αυτής της τεχνολογίας παρουσίασε τεράστια αύξηση. Εκτός από τη σύνθεση του όζοντος, σήμερα το φαινόμενο του DBD στα αέρια χρησιμοποιείται ευρέως στην παραγωγή ακτινοβολίας διεγερτών στις φασματικές περιοχές UV / VUV, στην επιφανειακή επεξεργασία, στον τομέα της προστασίας του περιβάλλοντος, στην άντληση λέιζερ CO₂, στον έλεγχο της ρύπανσης, στην κλωστοϋφαντουργία, και πιο πρόσφατα σε πίνακες απεικόνισης πλάσματος (τηλεοράσεις πλάσμα) και σε πολλές άλλες τεχνολογικές διεργασίες στην επιστήμη και τη βιομηχανία. Από όλες αυτές τις εφαρμογές του DBD, ο σχηματισμός διεγερτών είναι ένας από τους σημαντικότερους τομείς εφαρμογής της τεχνολογίας DBD και εξελίχθηκε αρκετά την τελευταία δεκαετία.

2.5 Ενεργοποίηση Νερού με Πλάσμα (Plasma Activated Water – PAW)

Οι περισσότερες από τις μελέτες σχετικά με την αντιμικροβιακή δράση του πλάσματος έχουν διεξαχθεί κατά την εφαρμογή του πλάσματος αερίου απευθείας πάνω στα τρόφιμα για να επιτευχθεί η μέγιστη αποτελεσματικότητα της μικροβιακής αδρανοποίησης. Αλλά κάποιοι ερευνητές έχουν αναφέρει ότι υπάρχουν μερικές αρνητικές επιπτώσεις, όπως η απώλεια χρώματος, η αλλαγή της επιφανειακής τοπογραφίας λόγω χάραξης και η αποικοδόμηση βιοδραστικών ενώσεων μετά την επιφανειακή επεξεργασία (Misra, et al., 2014). Για να ξεπεραστούν αυτά τα προβλήματα, το ενεργοποιημένο νερό με πλάσμα (Plasma Activated Water - PAW), το οποίο αποκαλείται επίσης οξύ πλάσματος (Adamovich, et al., 2017; Puač et al., 2017; Schnabel, et al., 2016; Scholtz et al., 2015) και περιέχει κυρίως αντιδραστικά είδη, θα μπορούσε να αποτελέσει εναλλακτική μέθοδο απολύμανσης των τροφίμων. Κάποιες μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη χρήση του PAW για την βακτηριακή απενεργοποίηση και τον αποτελεσματικό έλεγχο της ανάπτυξης των βακτηριδίων. Το πλεονέκτημα του PAW είναι ότι είναι εύκολο να εφαρμοστεί και γι' αυτό το λόγο μπορεί να αντικαταστήσει τις παραδοσιακές μεθόδους απολύμανσης που εφαρμόζονται μέχρι σήμερα. Παρόλα αυτά, θα απαιτηθούν περαιτέρω μελέτες με έμφαση στην αξιολόγηση του κύκλου ζωής του PAW, προκειμένου να εξεταστεί η τεχνολογία σε βιομηχανική κλίμακα.

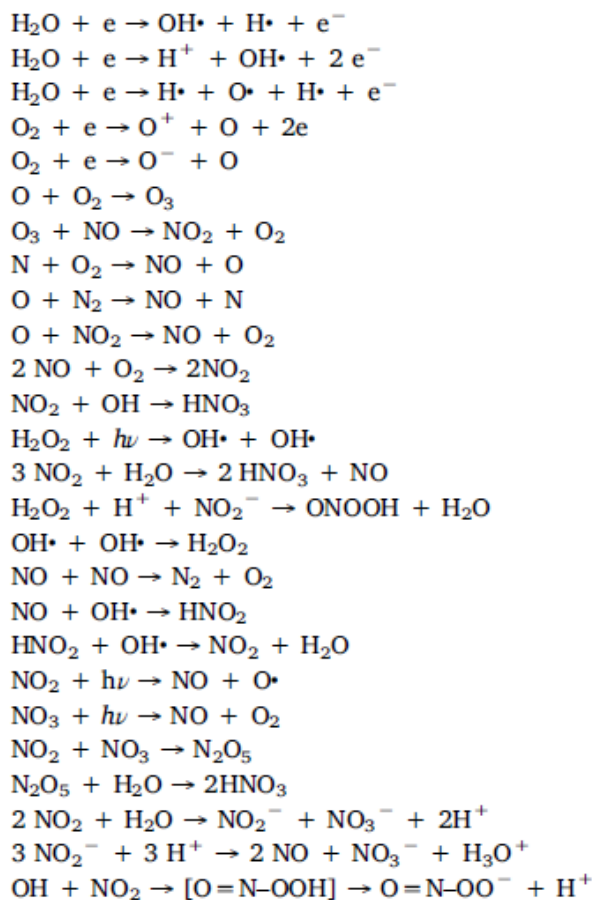
2.5.1 Παραγωγή PAW και η Χημεία του

Ο τύπος και η συγκέντρωση των αντιδρώντων ειδών που υπάρχουν στο PAW εξαρτώνται από τα αέρια και τα υγρά που χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία του πλάσματος (Lukes et al., 2012; 2014). Ανάλογα με το χημικό περιβάλλον, την τάση διέγερσης και τον τρόπο παραγωγής, μπορούν να σχηματιστούν δραστικά είδη οξυγόνου (ROS) και δραστικά είδη αζώτου (RNS). Τα είδη σχηματίζονται στη διεπιφάνεια του υγρού ή υγρού-αερίου. Οι υπάρχουσες διατάξεις της βιβλιογραφίας συνοψίζονται στον Πίνακα 2.2. Είναι προφανές ότι εκτός από τις χρησιμοποιούμενες πηγές πλάσματος, ο χρόνος επεξεργασίας και τα χρησιμοποιούμενα αέρια, η απόσταση μεταξύ υγρού και πλάσματος και η φύση των ηλεκτροδίων είναι επίσης σημαντικοί παράμετροι που δεν πρέπει να υποτιμηθούν. Για παράδειγμα, η χρήση οξυγόνου, αζώτου και νερού για την παραγωγή PAW, θα έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός αριθμού πρωτογενών ειδών (συμπεριλαμβανομένου του ατομικού οξυγόνου, του απλού οξυγόνου, του υπεροξειδίου, του όζοντος, των ριζών υδροξυλίου και του διεγερμένου και ατομικού αζώτου) που στη συνέχεια θα συνεχίσουν να αντιδρούν ώστε να σχηματίσουν δευτερογενή είδη (συμπεριλαμβανομένου του υπεροξειδίου του υδρογόνου, του υπεροξυνιτρίτη, του νιτρικού οξειδίου, των νιτρικών και των νιτρωδών ιόντων) (Brisset & Pawlat, 2016; Lukes et al., 2014). Ο Πίνακας 2.3 δείχνει τις πιθανές χημικές αντιδράσεις που εμφανίζονται κατά τη διάρκεια παραγωγής PAW. Αυτές είναι οι κύριες χημικές αντιδράσεις που έχουν σαν αποτέλεσμα το σχηματισμό ROS και RNS στο PAW, τα οποία και είναι υπεύθυνα για την αντιμικροβιακή του δράση. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.2, υπάρχουν δύο σημαντικές προσεγγίσεις για τη δημιουργία PAW. Το ένα αφορά την επαφή του πλάσματος με το νερό, ενώ το άλλο προκαλεί το πλάσμα απευθείας στο νερό. Η χημεία και τα προϊόντα αντίδρασης του PAW που παράγονται πάνω από την επιφάνεια του νερού είναι διαφορετικά από το PAW που παράγεται με την απευθείας επαφή μέσα στο υγρό.

Πίνακας 2.2.Επισκόπηση των συστημάτων πλάσματος που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή ενεργοποιημένου πλάσματος νερού (Thirumdas, et al., 2018)

ΤΡΟΠΟΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ		ΚΡΙΣΙΜΟΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ	ΧΗΜΕΙΑ
1. Πλάσμα σε επαφή με το υγρό			
Εκκένωση πάνω από το νερό	Εκκένωση πλάσματος τόξου πάνω από υγρό διάλυμα	- Ροή αέρα - Απόσταση μεταξύ ηλεκτροδίων - Απόσταση μεταξύ ηλεκτροδίων και υγρού	- H ₂ O ₂ - Νιτρικά - Νιτρώδη - Ριζικά ανιόντα υπεροξειδίου
Εκκένωση με ψεκασμό νερού	Αύξησης της επιφάνειας με ψεκασμό υγρού	- Χρόνος Επεξεργασίας	- Μονό οξυγόνο - Ρίζες υδροξυλίου - Όζον
Εκκένωση αερίου σε φυσαλίδες	Παραγωγή εκκένωσης μέσα στις φυσαλίδες	- Τύπος αερίου - Πηγή Τάσης	- •OH, ¹ O ₂ , •O ₂ ⁻
2. Πλάσμα απευθείας στο νερό			
	Ηλεκτρική εκκένωση απευθείας στο νερό	- Απόσταση από το τέλος του πλάσματος και της επιφάνειας του νερού - Αέρια - Τύπος Ηλεκτροδίων(π.χ. γραφίτης, χαλκός) - Τάση Λειτουργίας - Ρεύμα εκκένωσης - Συχνότητα - Μέγεθος ηλεκτροδίου	- Υπεροξείδιο του υδρογόνου - Υπεροξείδια - Νιτρώδη - Νιτρικά - Ριζικά ανιόντα υπεροξειδίου - Όζον - Ρίζες μονοξειδίου του αζώτου - Ρίζες υδροξυλίου

Πίνακας 2.3. Χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της δημιουργίας PAW με αποτέλεσμα το σχηματισμό των ROS και RNS (Thirumdas, et al., 2018).



2.5.2 Φυσικοχημικές Ιδιότητες

pH

Το pH είναι το μέτρο της συγκέντρωσης ιόντων υδρογόνου ενός διαλύματος. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα μεταξύ των χημικών ειδών που σχηματίζονται στο πλάσμα και στο νερό οδηγούν σε οξίνιση. Το pH του PAW μειώνεται δραστικά με την αύξηση του χρόνου επεξεργασίας λόγω του σχηματισμού ισχυρών οξέων. Στο δίπλωμα ευρεσιτεχνίας για το ενεργοποιημένο νερό από πλάσμα που αναπτύχθηκε από τους Remen et al.(2016) αναφέρθηκε ότι ο σωστός συνδυασμός τόσο του μη θερμικού όσο και του θερμικού πλάσματος για την παραγωγή PAW έχει ως αποτέλεσμα ένα ελεγχόμενο pH (από 0 έως 7). Οι Oehmigen et al. (2010) ανέφεραν ότι η οξίνιση των υγρών μέσω της αντίδρασης με το πλάσμα έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία υπεροξειδίων του υδρογόνου, του νιτρικού οξέος και του υπεροξυνοϊδικού οξέος. Οι σχηματισμοί νεοσχηματισθέντων χημικών ειδών στο PAW αποδίδονται στη μείωση του pH. Αυτό θα μπορούσε να είναι ένας από τους κύριους λόγους για την αντιμικροβιακή δραστηριότητα του PAW. Οι Riordan et al. (2005) ανέφεραν ότι η διάλυση αυτών των ιόντων είναι το αποτέλεσμα της διαλυτότητάς τους, της φύσης της διεπιφάνειας αερίου/στερεού/υγρού και η σχέση μεταξύ των αερίων φάσεων και των

διαλελυμένων ομολόγων στην υδατική φάση. Οι Ma et al. (2015) στην έρευνα τους παρατήρησαν μια γρήγορη πτώση του pH κατά την αρχική φάση της επεξεργασίας με πλάσμα, ενώ στη συνέχεια έφτασε σε ένα σταθερό εύρος. Το pH μειώθηκε από 7 σε 3,2 μετά από 10 λεπτά ενεργοποίησης χρησιμοποιώντας jet ατμοσφαιρικού πλάσματος (αέριο εργασίας Ar/O₂) και δεν παρουσίασε καμία αλλαγή μετά από 10 λεπτά (Ma et al., 2015). Οι Xu et al. (2016) επίσης παρατήρησαν μια παρόμοια μείωση του pH έως 3.7 μετά από 5 λεπτά επεξεργασίας. Η μείωση του pH και ο σχηματισμός των ενώσεων οξίνισης στο PAW μπορεί να ποικίλλουν από διάταξη σε διάταξη (Bruggeman & Leys, 2009) και ανάλογα με το αέριο τροφοδοσίας που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του πλάσματος (Tian, et al., 2015). Οι Shainsky et al. (2012), εξέτασαν την εξάρτηση των τιμών του pH του PAW σε διαφορετικά αέρια τροφοδοσίας (Ar, O₂, Air) που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή πλάσματος. Δεν αναφέρθηκε σημαντική μεταβολή στο pH του νερού όταν δημιουργήθηκε PAW από αέριο αργόν, ενώ παρατηρήθηκε πτώση του pH όταν δημιουργήθηκε από οξυγόνο και αέρα με τιμές pH 2.01 και 2.07, αντίστοιχα. Επιπλέον, οι μελέτες αποθήκευσης του PAW αποκάλυψαν ότι οι τιμές pH μειώθηκαν ελαφρά κατά την αποθήκευση του PAW που δημιουργήθηκε από πλάσμα αέρα, αλλά το pH του PAW που δημιουργήθηκε από το οξυγόνο παρουσίασε γραμμική αύξηση. Επιπλέον, παρατήρησαν μείωση του pH του PAW από 2,07 σε 1,5 μετά από 70 ώρες αποθήκευσης. Οι Shen et al. (2016) διερεύνησαν το pH του PAW σε διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης (25 °C, 4 °C, -20 °C, -80 °C) έως και 30 ημέρες αποθήκευσης. Παρατηρήθηκε μείωση του pH στο 2,3 από 6,8 μετά από 20 λεπτά ενεργοποίησης πλάσματος, όμως δε βρέθηκε σημαντική μεταβολή στις τιμές pH του PAW που αποθηκεύτηκε σε διαφορετικές θερμοκρασίες έως και 30 ημέρες. Αυτό δείχνει ότι η απόδοση απενεργοποίησης του PAW θα μπορούσε να διαρκέσει για ένα μήνα. Η ενεργοποίηση απεσταγμένου νερού με πλάσμα για 20 λεπτά μείωσε το pH στο 2,8 (Traylor, et al., 2011). Αυτοί οι ερευνητές βρήκαν επίσης ότι το pKa του PAW μετά την ενεργοποίηση είναι παρόμοιο με την τιμή pKa του νιτρώδους οξέος.

ORP (Δυναμικό Οξειδοαναγωγής)

Το δυναμικό οξειδοαναγωγής (ORP) μετρά την ικανότητα ενός διαλύματος να οξειδώνει ή να μειώνει μια άλλη ουσία και εξαρτάται από τη συγκέντρωση των οξειδωτικών και τις δυνάμεις τους. Το πλεονέκτημα της μέτρησης του ORP του νερού είναι ότι παρέχει μια γρήγορη και μοναδική αξιολόγηση της δυνατότητας απολύμανσης (Suslow, 2004). Το ORP θεωρείται ως ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τη μικροβιακή αδρανοποίηση, η οποία καταστρέφει την κυτταρική μεμβράνη των μικροβίων και τον αμυντικό μηχανισμό τους (Mcferon, 1993). Από αυτά τα είδη ROS που σχηματίζονται στο PAW, το υπεροξείδιο του υδρογόνου εμπλέκεται κυρίως στις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής, όπου μπορεί να συμπεριφέρεται ως οξειδωτικό ($E^0 = 1,77 \text{ V}$) ή ως αναγωγικό ($E^0 = -0,7 \text{ V}$) (Lukes et al., 2012). Οι Zhang et al. (2016), ανέφεραν ότι η προσθήκη οξειδωτικών χημικών ουσιών οδηγεί σε αύξηση του ORP και παρατηρήθηκε αύξηση κατά 63,3% των τιμών του ORP απεσταγμένου νερού μετά την ενεργοποίηση πλάσματος για 20 λεπτά χρησιμοποιώντας πλάσμα αερίου Ar/O₂. Οι Xu et al. (2016), μελέτησαν την παραγωγή PAW με jet πλάσματος ατμοσφαιρικής πίεσης για 5, 10 και 15 λεπτά χρησιμοποιώντας μίγμα αερίων αργού και οξυγόνου (Ar 98% και O₂ 2%). Παρατηρήθηκε αύξηση στην τιμή ORP από 146 mV σε 314 mV έπειτα από 5 λεπτά

κατεργασίας και σε περαιτέρω αύξηση των χρόνων ενεργοποίησης στα 10 και 15 λεπτά παρατήρησε τιμές ORP 397 mV και 467 mV, αντίστοιχα. Χρησιμοποίησαν επίσης OES για να εξετάσει τα δραστικά είδη που σχηματίστηκαν στο PAW και διαπίστωσε τη συμφωνία μεταξύ των αποτελεσμάτων OES και των τιμών του ORP. Οι Tian et al. (2015), παρατήρησαν υψηλότερες τιμές ORP (έως και 20%) για το PAW που δημιουργήθηκε με πλάσμα στο εσωτερικού του νερού σε σύγκριση με το PAW που δημιουργήθηκε με πλάσμα πάνω από την επιφάνεια του νερού. Οι Locke et al. (2012), ανέφεραν ότι το πλάσμα ηλεκτρικής εκκένωσης πάνω την επιφάνεια του νερού έχει σημαντικές διαφορές στις ιδιότητες του από εκείνες που έχει όταν παράγεται άμεσα στο νερό λόγω της χαμηλότερης αντοχής στην αποσύνθεση, της πυκνότητας και της αγωγιμότητας του ατμοσφαιρικού αερίου. Όπως και το pH, οι διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης του PAW δεν προκάλεσαν καμία σημαντική αλλαγή στις τιμές ORP, αλλά διαφορετικοί χρόνοι αποθήκευσης είχαν ως αποτέλεσμα τη μείωση των τιμών ORP (Shen et al., 2016). Αυτό δείχνει ότι οι τιμές ORP δεν αντισταθμίζονται με τη θερμοκρασία.

Αναφορικά έχει βρεθεί ότι PAW με τιμή ORP 550 mV οδήγησε στη μείωση του αριθμού των βακτηρίων σε φράουλες κατά 3,5 log μετά από 15 λεπτά εφαρμογής PAW (Ma, et al., 2015). Όσο υψηλότερες είναι οι τιμές ORP, τόσο ισχυρότερη είναι η οξειδωτική ικανότητα και υπάρχει υψηλότερη αντιμικροβιακή δράση (Ma, et al., 2015).

Αγωγιμότητα

Η αγωγιμότητα είναι ένα μέτρο της ικανότητας του νερού να διευκολύνει τη ροή ηλεκτρικού ρεύματος μέσω αυτού. Η παρουσία εξωγενών ιόντων στο νερό επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό την αγωγιμότητα. Τα δραστικά είδη και τα ιόντα που παράγονται κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας πλάσματος διαλύονται εύκολα στο νερό, γεγονός που μεταβάλλει προφανώς την αγωγιμότητα. Ο σχηματισμός των ROS και RNS κατά τη διάρκεια της ενεργοποίησης του νερού με πλάσμα συμβάλει σημαντικά στην αύξηση της αγωγιμότητας του PAW. Η αγωγιμότητα μετριέται γενικώς σε μικρομόρια ανά εκατοστόμετρο ή σε microsiemens ανά εκατοστό και η αγωγιμότητα του απεσταγμένου νερού κυμαίνεται μεταξύ 0,5 και 3 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Οι Ma et al. (2015), διαπίστωσαν ότι η αγωγιμότητα απεσταγμένου νερού ήταν 450 $\mu\text{S}/\text{cm}$ μετά την ενεργοποίηση με jet πλάσματος αερίου Ar/O_2 για 20 λεπτά λόγω της δημιουργίας δραστικών ιόντων. Επίσης, οι Tian et al. (2015) έδειξαν ότι η αγωγιμότητα είναι 18,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$ μετά από 20 λεπτά ενεργοποίησης του νερού με πλάσμα με την χρήση microjet πλάσματος. Οι ληφθείσες τιμές αγωγιμότητας παρατηρήθηκαν ότι είναι πολύ μικρότερες σε σύγκριση με αυτές που αναφέρθηκαν από τους Ma et al. (2015). Και οι δύο συγγραφείς χρησιμοποίησαν παρόμοιο αέριο για την παραγωγή πλάσματος, αλλά η εφαρμοζόμενη τάση (0,40-0,42 kV) ήταν πολύ χαμηλότερη στην περίπτωση του PAW που παράχθηκε χρησιμοποιώντας το microjet πλάσματος και αυτό μπορεί να είναι ο λόγος για τη χαμηλή αγωγιμότητα. Επιπλέον, η αγωγιμότητα του PAW που παράγεται μέσα στο νερό είναι μεγαλύτερη σε σύγκριση με την αγωγιμότητα του PAW που παράγεται με πλάσμα πάνω από την επιφάνεια του νερού. Σε μια άλλη μελέτη που διεξήχθη από τους Xu et al. (2016) για την παραγωγή PAW με χρήση jet ατμοσφαιρικού πλάσματος παρατηρήθηκε γραμμική αύξηση της αγωγιμότητας (218 $\mu\text{S}/\text{cm}$) από 17 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (μη επεξεργασμένο νερό) μετά από 15 λεπτά ενεργοποίησης του πλάσματος.

Επιπλέον αύξηση της αγωγιμότητας οδηγεί σε ισχυρότερη ένταση ακτινοβολιών και υψηλότερη πυκνότητα ηλεκτρονίων κατά την εκκένωση (Locke et al., 2012). Όταν υπάρχει άζωτο στο μίγμα αερίου που χρησιμοποιείται για την παραγωγή πλάσματος η αύξηση της αγωγιμότητας οφείλεται στη χημεία του υπεροξειδίου (Brisset et al., 2011). Όμως, όταν δουλεύουμε με αέρια άνευ αζώτου, η αγωγιμότητα αποδίδεται στα ιόντα H_3O^+ που σχηματίζονται στο νερό, αφού δεν υπάρχουν οξειδία του αζώτου (Lukes, et al., 2012). Οι Lukes et al. (2008) διεξήγαγαν μια μελέτη σχετικά με την επίδραση της εφαρμοζόμενης τάσης και της αγωγιμότητας του νερού στην ένταση της υπεριώδους ακτινοβολίας που σχηματίζεται από τη διάταξη εκκένωσης κορώνας. Η αύξηση της αγωγιμότητας του νερού επηρέασε σημαντικά την ένταση εκπομπής της ακτινοβολίας UV. Επίσης παρατηρήθηκε παρόμοια αύξηση στην ακτινοβολούμενη ισχύ στην περιοχή UV με την αύξηση της αγωγιμότητας του νερού (Bruggeman & Leys, 2009). Οι Laurita et al. (2015) διερεύνησαν την επίδραση του νανοδευτεκαδικού παλμικού πλάσματος DBD στο pH και την αγωγιμότητα του PAW και παρατήρησαν αύξηση της αγωγιμότητας στα 1435 $\mu S/cm$ από 1.5 $\mu S/cm$ μετά από 10 λεπτά ενεργοποίησης. Ο Πίνακας 2.4 παρουσιάζει μια επισκόπηση των ερευνών σχετικά με τις φυσικές και χημικές παραμέτρους των PAW που παράχθηκαν από διαφορετικές διατάξεις πλάσματος (π.χ. DBD, jets κτλ.) και αέρια λειτουργίας.

Πίνακας 2.4. Αποτελέσματα μελετών που διεξήχθησαν σχετικά με τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του PAW (Thirumdas, et al., 2018).

Συσκευές Πλάσματος	Άεριο Λειτουργίας	Χρόνος Ενεργοποίησης (min)	pH	ORP (mV)	Αγωγιμότητα ($\mu S/cm$)
Plasma jet	Ar/O ₂	15	3.0	550	450
Plasma microjet	Air	20	2.3	540	-
Plasma microjet	Ar/O ₂	20	6.1	250	18.8
DBD micro discharge	Air	15	2.7	-	-
Plasma jet	Ar/O ₂	15	3.7	467	218
Gliding arc	Air, O ₂ , N ₂	15	2.8, 3.2, 3.0	-	1100, 300, 500
Plasma microjet	Ar/O ₂	20	-	490	-
High voltage electrode	Argon	15	3.0	-	200
DBD	Air, O ₂	20	2.1, 2.2	-	-
Low frequency plasma jet	He	5	4.2	-	-

DBD with hollow electrodes	Air	10	1.9	550	2000
Gliding arc	Argon	2	3.6–3.7	-	50–70

Υπεροξειδίο του Υδρογόνου

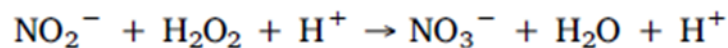
Το H_2O_2 είναι ROS που σχηματίζεται στο PAW και παίζει σημαντικό ρόλο στις αντιμικροβιακές ιδιότητες του PAW. Αρκετοί ερευνητές διερεύνησαν τις χημικές διεργασίες για τον σχηματισμό H_2O_2 και αξιολόγησαν τη σημασία του για την αντιμικροβιακή δράση του PAW. Οι αναλυτικές μέθοδοι για τη μέτρηση του H_2O_2 περιλαμβάνουν προσδιορισμούς, όπως ιωδομετρική τιτλοδότηση, τιτλοποίηση υπερμαγγανικού, οξαλικό τιτάνιο (φασματοφωτόμετρο), κτ προσδιορισμού ενζύμου υπεροξειδάσης. Στο όξινο περιβάλλον, η συγκέντρωση του H_2O_2 μαζί με το ανιόν υπεροξειδίου συνεισφέρει στο σημαντικότερο μέρος των οξειδωτικών ιδιοτήτων του PAW (Shainsky et al., 2010). Οι Lukes et al. (2008), ανέφεραν ότι ο μηχανισμός σχηματισμού H_2O_2 είναι ο ανασυνδυασμός των ριζών OH που σχηματίζονται από την ηλεκτρονική επίδραση της διάστασης του μοριακού νερού. Οι van Gils et al. (2013) έχουν ερμηνεύσει ότι όλες οι προσροφούμενες ρίζες OH θα μετατραπούν σε H_2O_2 και στη συνέχεια σχηματίζονται έτσι H_2O_2 στην αέρια φάση που έπειτα θα μεταφερθούν στο επεξεργαζόμενο υγρό. Οι Stara & Krčma (2004), διερεύνησαν τους παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή υπεροξειδίου του υδρογόνου κατά την ενεργοποίηση. Ανέφεραν ότι η εφαρμοζόμενη τάση και η διάρκεια επεξεργασίας αύξησαν γραμμικά τον σχηματισμό υπεροξειδίου του υδρογόνου. Για παράδειγμα, οι Ikawa et al. (2010) διαπίστωσαν την ύπαρξη 1.469 mM συγκέντρωση H_2O_2 στο ενεργοποιημένο νερό με πλάσμα από ήλιο μετά από 180 s ενεργοποίησης. Σε άλλες μελέτες η συγκέντρωση H_2O_2 που σχηματίστηκε σε PAW εκτιμήθηκε ότι είναι 22,4 μ M μετά από 20 λεπτά ενεργοποίησης με πλάσμα αέρα (Shen et al., 2016). Όπως αναφέρθηκε από τους Luke et al. (2008), η συγκέντρωση του H_2O_2 εξαρτάται από την αγωγιμότητα του νερού μετά την ενεργοποίηση. Σε όξινο περιβάλλον, η συζευγμένη βάση ((HO_2^-) που μετρήθηκε χρησιμοποιώντας φασματοφωτομετρία μάζας) H_2O_2 μπορεί να οδηγήσει στην επιπρόσθετη παραγωγή H_2O_2 (van Gils et al., 2013). Οι συγγραφείς έχουν παρατηρήσει ότι η τελική συγκέντρωση H_2O_2 που παράγεται είναι περίπου 0,6 mM και επαρκεί για να αναστείλει τη βακτηριακή ανάπτυξη.

Οι Shainsky et al. (2010), πραγματοποίησαν πειράματα για την παραγωγή PAW με άμεση έκθεση του απεσταγμένου νερού στο πλάσμα DBD. Παρατηρήθηκε συγκέντρωση 58.7 mM H_2O_2 αμέσως μετά την έκθεση στο πλάσμα, το οποίο μειώθηκε στα 0.2 mM μετά από τα 15 λεπτά ενεργοποίησης. Για παράδειγμα, ο χρόνος ημιζωής του H_2O_2 είναι 1 ms στη διεπιφάνεια αερίου - υγρού και είναι συγκριτικά υψηλότερος από τον χρόνο ημιζωής των απλών οξυγόνων και των υδροξυλίων που έχουν 1 μ s και 1 ns αντίστοιχα (Møller et al., 2007). Ωστόσο, το H_2O_2 θεωρείται το σταθερό τελικό προϊόν στο νερό και έχει χρόνο ημιζωής από 8 h - 20 ημέρες (Sun, et al., 2012). Μετά από κινητική μελέτη σε PAW που παράχθηκε με DBD και αέρα, μετρήθηκε συγκέντρωση H_2O_2 200 μ M, η οποία 25 λεπτά μετά την ενεργοποίηση μειώθηκε σε περίπου 110 μ M (Laurita et al., 2015). Ο σχηματισμός νιτρικών ιόντων από την αντίδραση μεταξύ των νιτρώδων ιόντων και του υπεροξειδίου του υδρογόνου έπειτα από

την ενεργοποίηση θα μπορούσε να αποτελέσει έναν από τους λόγους για τη μείωση της συγκέντρωσης υπεροξειδίου του υδρογόνου (Burlica et al., 2010).

Νιτρώδη και Νιτρικά Ιόντα

Η ανίχνευση νιτρώδων και νιτρικών ιόντων στο PAW είναι η κύρια απόδειξη για το σχηματισμό των RNS. Τα τελευταία χρόνια υπήρξε αρκετό ενδιαφέρον για τα συγκεκριμένα ιόντα και την αντιμικροβιακή τους δράση. Οι Shen et al. (2016), ανέφεραν ότι τα νιτρικά ιόντα στο PAW σχηματίζονται ως δευτερογενή προϊόντα και επεκτείνουν την αντιμικροβιακή δραστηριότητα κατά την αποθήκευση. Παρατηρήθηκαν συγκεντρώσεις NO_3^- και NO_2^- περίπου 42 mg/L και 1,2 mg/L, αντίστοιχα έπειτα από 20 λεπτά ενεργοποίησης. Οι αντιδράσεις μετά την ενεργοποίηση μεταξύ NO_2^- και H_2O_2 που εμφανίστηκαν στο PAW οδήγησαν στο σχηματισμό υπεροξυνιτρίτη, που συμβάλλει σημαντικά στην αντιμικροβιακή δραστηριότητα του PAW (Lukes et al., 2014). Όπως και στα ROS, η συγκέντρωση NO_3^- και NO_2^- μειώνεται με την αύξηση του χρόνου αποθήκευσης. Τα οξείδια του αζώτου που σχηματίζονται μέσω της διάστασης του N_2 και του O_2 στο πλάσμα αντιδρούν με το νερό και έτσι σχηματίζονται νιτρώδη ιόντα τα οποία με τη σειρά τους αντιδρούν με το H_2O_2 για να σχηματίσουν νιτρικά ιόντα (Burlica et al., 2010). Η αντίδραση προς σχηματισμό νιτρικών ιόντων είναι η ακόλουθη (Lukes et al., 2014):



Η συγκέντρωση των νιτρικών και των νιτρωδών που σχηματίζονται στο PAW που παράγεται από την άμεση επαφή του πλάσματος με το νερό είναι ελαφρώς υψηλότερη από εκείνη όταν το πλάσμα δημιουργείται πάνω από την επιφάνεια του νερού (Tian et al., 2015). Επίσης, βρέθηκε ότι με την παρουσία ακτινοβολιών UV, τα νιτρικά και τα νιτρώδη ιόντα δρουν ως έμμεσοι φωτοευαισθητοποιητές και παράγουν δευτεροταγή οξειδωτικά, όπως υπεροξείδιο του υδρογόνου και ρίζες υδροξυλίου (Tarr, 2003).

2.5.3 Εφαρμογές του Ενεργοποιημένου Νερού

Είναι πλέον γνωστό ότι η εφαρμογή ψυχρού πλάσματος απευθείας σε προϊόντα διατροφής παίζει σημαντικό ρόλο στη μικροβιακή αδρανοποίηση. Από τις διάφορες μελέτες που διεξήχθησαν σχετικά με τη μικροβιακή αδρανοποίηση, βρέθηκε ότι η χρήση διαφορετικών αερίων και οι εφαρμοζόμενες τάσεις είναι σημαντικές παράμετροι για την αντιμικροβιακή δραστηριότητα. Η έμμεση έκθεση των φρέσκων προϊόντων στο ψυχρό πλάσμα γίνεται μέσω του ενεργοποιημένου με πλάσμα νερού (Scholtz et al., 2015). Πρόσφατα, η εφαρμογή του PAW γίνεται όλο και πιο δημοφιλής μεταξύ των ερευνητών ως πηγή αντιμικροβιακού διαλύματος ή απολυμαντικού διαλύματος. Μετά τη συγκομιδή, γίνεται πλύση των ακατέργαστων προϊόντων και των φρεσκοκομμένων προϊόντων με νερό ή άλλα μέσα απολύμανσης για τη βελτίωση της διάρκειας ζωής των προϊόντων. Ένα από τα εν λόγω διαλύματα απολύμανσης που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι το νερό με υψηλό ORP. Ένα ιδιαίτερο πλεονέκτημα της χρήσης του PAW είναι ότι μπορεί να αντικαταστήσει το νερό με υψηλό ORP που παράγεται με την προσθήκη χημικών ουσιών. Η άλλη πιθανή εφαρμογή του PAW είναι η ενίσχυση της βλάστησης των σπόρων και της ανάπτυξης των φυτών. Οι Ji et al. (2015), ανέφεραν ότι τα δραστικά είδη που σχηματίζονται στο PAW διαδραματίζουν

εξέχοντα ρόλο στη βλάστηση των σπόρων και στην ανάπτυξη των φυτών. Επιπλέον, η χρήση νερού, του οποίου οι ιδιότητες έχουν αλλάξει λόγω της εφαρμογής μη θερμικού πλάσματος, μπορεί να επηρεάσει τη διαδικασία ανάπτυξης των φυτών και να αυξήσει την ποιότητα της γεωργικής παραγωγής (Park et al., 2013).

Ο ρόλος του PAW στη μικροβιακή αδρανοποίηση

Στο υποκεφάλαιο αυτό θα γίνουν διάφορες αναφορές σε μελέτες που έχουν διεξαχθεί ως προς την επίδραση του PAW στη μικροβιακή αδρανοποίηση. Ο Πίνακας 2.5 απεικονίζει τη μείωση \log των διαφόρων μικροοργανισμών μετά τη χρήση PAW. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο, τα είδη ROS και RNS που παράγονται στο PAW με ενεργοποίηση πλάσματος ευθύνονται για τη μικροβιακή αδρανοποίηση. Ο σχηματισμός αυτών των χημικών ειδών στο PAW αποδεικνύει τη συνεργιστική δράση της υψηλής ORP και του χαμηλού pH που έχει αποδειχθεί ότι έχει αντιμικροβιακή δράση (Zhang et al., 2016). Οι Dolezalova & Lukes (2015), ανέφεραν ότι η παρουσία υγρού αέρα ή η επαφή με το υγρό μεταβάλλει σε υψηλό βαθμό τα προϊόντα αντίδρασης και το μηχανισμό της μικροβιακής αδρανοποίησης. Η χημεία του PAW που παράγεται με εφαρμογή του πλάσματος κάτω από το νερό είναι πολύ πιο περίπλοκη και εκτός από τα χημικά είδη, οι φυσικές παράμετροι, όπως τα ισχυρά ηλεκτρικά πεδία, οι υπεριώδεις ακτινοβολίες συνεισφέρουν επίσης στη μικροβιακή αδρανοποίηση (Li, et al., 2008).

Μια από τις πιο πρόσφατες έρευνες σχετικά με την εφαρμογή του PAW σε φρέσκα προϊόντα, όπως οι φράουλες, για μικροβιακή αδρανοποίηση είναι αυτή των Ma et al. (2015). Παρατηρήθηκε συνολικά μείωση $3,5 \log_{10}$ CFU/mL του αριθμού των βακτηριδίων, έπειτα από 15 λεπτά έκπλυσης με νερό που ενεργοποιήθηκε με πλάσμα για 20 λεπτά (παραγωγή πλάσματος πάνω στην επιφάνεια του νερού). Οι Fernandez et al. (2013), εφάρμοσαν απευθείας το ψυχρό πλάσμα ατμοσφαιρικού αέρα πάνω στις φράουλες για τη σύγκριση της μικροβιακής αδρανοποίησης με αυτή από το PAW. Παρατήρησαν μείωση μόνο $1,72 \log_{10}$ CFU/mL του αριθμού των βακτηρίων μετά από αγωγή με ακτίνες πλάσματος από άζωτο για 15 λεπτά. Οπότε, το ποσοστό απενεργοποίησης του PAW βρέθηκε υψηλότερο σε σύγκριση με την άμεση εφαρμογή του ψυχρού πλάσματος. Αυτό μπορεί να σχετίζεται με την πολύπλοκη επιφάνεια της φράουλας που αποτελείται από πολλά «μάτια» και αυλάκια, γεγονός που παίζει σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα απενεργοποίησης των μικροοργανισμών. Αυτό μπορεί να εμποδίσει τα δραστικά είδη του ψυχρού πλάσματος να εισχωρήσουν βαθιά μέσα στα «μάτια», τα οποία προστατεύουν τα βακτήρια, ενώ η διαβροχή στο PAW διευκόλυνε την εισχώρηση των δραστικών ειδών και ενίσχυσε την αδρανοποίηση των βακτηριδίων.

Μια άλλη μελέτη που έγινε από τους Xu et al. (2016), έδειξε ότι τα δραστικά είδη που σχηματίζονται στο PAW συσσωρεύονται γύρω από τις κυτταρικές μεμβράνες των μικροοργανισμών προκαλώντας τη μείωση του δυναμικού της μεμβράνης, γεγονός που οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο λόγω λύσης της κυτταρικής μεμβράνης. Οι Tian et al. (2015), παρατήρησαν μείωση κατά $5 \log_{10}$ CFU/mL στους αριθμούς των μικροβιακών πληθυσμών μετά από έκπλυση για 20 λεπτά με PAW που παράχθηκε με άμεση επαφή με το πλάσμα. Η αποτελεσματικότητα απενεργοποίησης του PAW που δημιουργείται με παραγωγή του

πλάσματος κάτω από το νερό είναι πολύ υψηλότερη απ' ό,τι όταν δημιουργείται με πλάσμα πάνω από την επιφάνεια του νερού. Η μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα απενεργοποίησης μπορεί να οφείλεται στη συνεργιστική επίδραση των φυσικών διεργασιών, όπως ηλεκτρικά πεδία και κρούσεις (Lukes et al., 2008). Οι Lukes et al. (2012), ανέφεραν επίσης ότι η αποτελεσματικότητα της μικροβιακής δράσης είναι υψηλότερη όταν το πλάσμα εκρέεται απευθείας στο νερό. Οι Moreau et al. (2005), διερεύνησαν τη δραστηριότητα του PAW στο μικροοργανισμό *Erwinia spp* Ο μικροοργανισμός απενεργοποιήθηκε πλήρως μετά από 10 λεπτά έκπλυσης. Ομοίως, οι Naitali et al., (2010) παρατήρησαν 99,9% αδρανοποίηση της αλυσίδας *Hafnia* μετά από εφαρμογή PAW για 20 min. Οι Souskova, et al. (2011), μελέτησαν την αδρανοποίηση των μυκήτων (*Aspergillus oryzae* - DBM 4002, *Cladosporium sphaerospermum*-DBM 4282) και των κυτταρικών ζυμομυκήτων (*Penicillium crustosum*-DBM4159) δημιουργώντας ηλεκτρική εκκένωση συνεχούς ρεύματος με κορώνα πάνω στην επιφάνεια του νερού. Όλα τα κύτταρα ζύμης πλήθους $5 \log_{10}$ CFU/mL θανατώθηκαν μετά από 6 λεπτά ενεργοποίησης του PAW. Οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι ο χρόνος για την αδρανοποίηση των σπόρων *A. Oryzae* είναι μεγαλύτερος σε σύγκριση με σπόρους του *C. sphaerospermum*. Οι συγγραφείς έχουν επίσης αναφέρει ότι, ακόμη και μετά από 30 λεπτά έκθεσης, δεν μπορούσαν να απενεργοποιηθούν πλήρως τα σπόρια του *A. Oryzae*, ενώ η πλήρης αδρανοποίηση σπόρων *C. sphaerospermum* παρατηρήθηκε μετά από 25 λεπτά κατεργασίας. Από κάποιες αναφορές, παρατηρήθηκε ότι η αποτελεσματικότητα αδρανοποίησης του πλάσματος που εφαρμόζεται απευθείας ή μέσω του PAW σε μυκητιακά κύτταρα είναι χαμηλότερη σε σύγκριση με εκείνες στα βακτηριακά κύτταρα. Ο Scholtz et al. (2015), ανέφεραν ότι η διαφορά στην αποτελεσματικότητα απενεργοποίησης οφείλεται στην πολύπλοκη κυτταρική δομή των ευκαρυωτικών κυττάρων συγκριτικά με τα προκαρυωτικά. Το ισχυρό αμυντικό σύστημα (δηλαδή, αντιοξειδωτικά, ένζυμα) των μυκητιακών κυττάρων προστατεύει τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες που δημιουργείται από την εφαρμογή πλάσματος. Η αδρανοποίηση ιών με χρήση PAW δεν έχει ερευνηθεί ακόμα, αλλά υπάρχουν μερικές διαθέσιμες αναφορές σχετικά με την άμεση εφαρμογή ψυχρού αερίου (Alshraiedeh et al., 2013; Terrier, et al., 2009) .

Μηχανισμός των ROS κατά τη μικροβιακή αδρανοποίηση

Μεταξύ των διαφόρων ROS που παράγονται στο PAW, το H_2O_2 , τα ιόντα υδροξυλίου ($OH\bullet$) και τα χημικά είδη του όζοντος (O_3) θεωρούνται ως ισχυροί αντιμικροβιακοί παράγοντες. Η ρίζα υδροξυλίου ($OH\bullet$) είναι ένα σημαντικό ROS το οποίο πρωταρχικά στοχεύει στην εξωτερική μεμβράνη των μικροβιακών κυττάρων. Οι Dolezalova και Lukes (2015), περιέγραψαν το μηχανισμό των ROS ως μια οξείδωση λιπιδίων της κυτταρικής μεμβράνης. Οι ρίζες $OH\bullet$ ξεκινούν την αντίδραση υπεροξειδώσεως των λιπιδίων με αφαίρεση του H από τους ακόρεστους δεσμούς άνθρακα των λιπαρών οξέων και στη συνέχεια στο σχηματισμό της μηλονικής αλδεΐδης (MDA), το οποίο χρησιμοποιείται ως δείκτης για την οξείδωση των λιπιδίων. Το ποσοστό της συγκέντρωσης MDA στο βακτηριακό εναιώρημα αυξήθηκε κατά 48% μετά από 45 λεπτά ενεργοποίησης του πλάσματος. Η παρουσία μηλονικής αλδεΐδης σε μικροβιακά κύτταρα προκαλεί βλάβη στο DNA και προκαλεί κυτταρικό θάνατο (Marnett, 1999; Thirumdas et al., 2015). Ο μηχανισμός διάχυσης ριζών στα κύτταρα μέσω της μεμβράνης εξαρτάται κυρίως από τη μεταφορά μάζας σε ελεγχόμενους ρυθμούς διάχυσης

(Watts et al., 1995). Οι Yusupov et al. (2013), μελέτησαν το μηχανισμό αλληλεπίδρασης μεταξύ των ROS και των βακτηριακών κυτταρικών τοιχωμάτων. Ανέφεραν ότι το ROS, ιδιαίτερα το $\text{OH}\bullet$ και το H_2O_2 , έχουν τη δυνατότητα να σπάσουν τους ενδομοριακούς δεσμούς της πεπτιδογλυκάνης και θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε διάσπαση του κυτταρικού τοιχώματος. Η ρίζα υδροξυλίου $\text{OH}\bullet$ απομακρύνει το άτομο H από τον άλφα άνθρακα των πεπτιδικών δεσμών $-\text{CO}-\text{NH}-$ στον σκελετό της πεπτιδογλυκάνης του κυτταρικού τοιχώματος που συνδέεται με τα αμινοξέα (Lukes et al., 2012). Οι Deng et al. (2006), ανέφεραν ότι η δράση του ROS σε βακτηριακά σπόρια προκάλεσε ελαφρά συρρίκνωση, κυτταροπλασματική διαρροή και τελικά διάσπαση της μεμβράνης των σπορίων. Είναι επίσης γνωστό ότι η μεταφορά ROS από το PAW στα μικροβιακά κύτταρα προκαλεί εσωτερική βλάβη μέσω της διάσπασης του DNA, την καταστροφή πρωτεϊνών και άλλων εσωτερικών συστατικών του κυττάρου (Lukes et al., 2012). Οι Tian et al. (2015), διερεύνησαν την επίδραση του PAW στα ενδοκυτταρικά νουκλεϊνικά οξέα των βακτηριακών κυττάρων ανιχνεύοντας την απελευθέρωση ενδοκυτταρικών συστατικών. Υπολόγισε το λόγο διαρροής του DNA/RNA από τα κύτταρα ως συνάρτηση του χρόνου ενεργοποίησης του πλάσματος. Παρατηρήθηκε ότι υπάρχει αύξηση κατά 42% της αναλογίας διαρροής DNA/RNA μετά από 20 λεπτά ενεργοποίησης. Επίσης, παρατήρησε ότι η ακεραιότητα της κυτταρικής μεμβράνης καταστράφηκε από το PAW με αποτέλεσμα την αύξηση του λόγου διαρροής. Ομοίως, στον *Saccharomyces cerevisiae*, η ποσότητα των ενδοκυτταρικών πρωτεϊνών και του εξωκυτταρικού DNA αυξήθηκε μετά από επεξεργασία με PAW, πιθανόν λόγω της διαπέρασης του κυτταρικού τοιχώματος και της κυτταρικής μεμβράνης (Chen et al., 2010). Έτσι, συμπεραίνεται ότι η θεραπεία με PAW θα μπορούσε να προκαλέσει βλάβη κυττάρων, μετάλλαξη κυττάρων και απόπτωση κυττάρων.

Μηχανισμός των RNS κατά τη μικροβιακή αδρανοποίηση

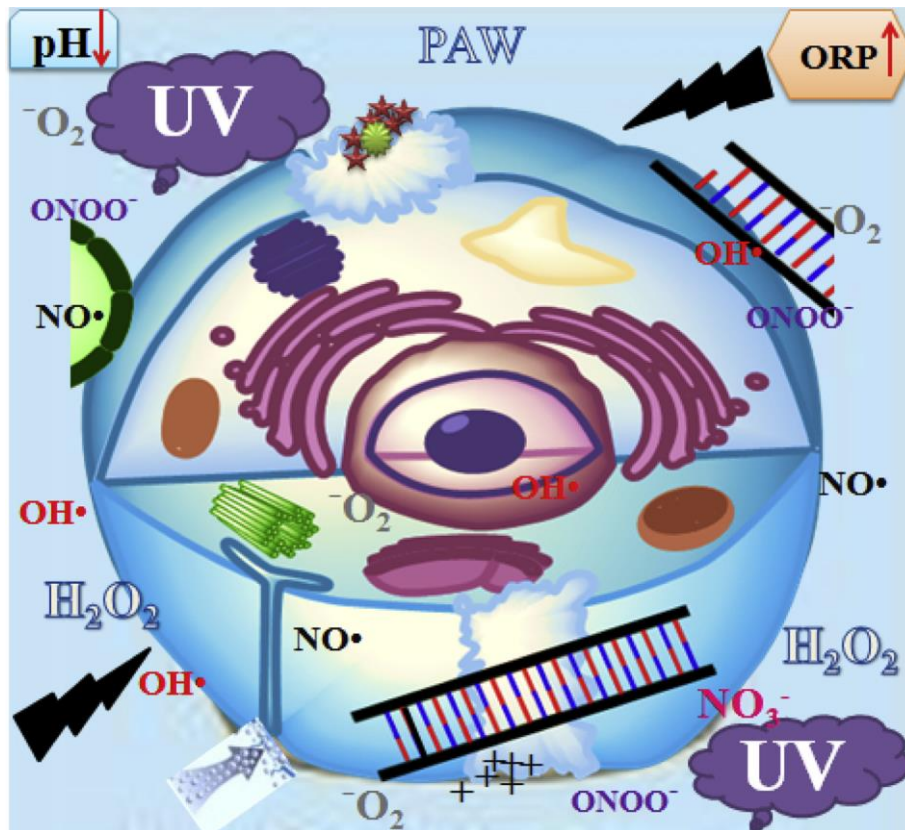
Τα δραστικά είδη RNS που σχηματίζονται στο νερό είναι το μονοξειδίο του αζώτου (NO) και τα παράγωγα προϊόντα του, όπως τα νιτρικά, νιτρώδη και υπεροξυνιτρίδια (ONOOH). Η κύρια δράση των RNS στη μικροβιακή αδρανοποίηση είναι η μείωση του pH του PAW. Ο σχηματισμός των HNO_3 , HNO_2 και HNOOH σε PAW έχει ως αποτέλεσμα την οξίνιση που είναι υπεύθυνη για την αδρανοποίηση. Στο PAW σχηματίζονται ιόντα υπεροξυνιτρώδους τα οποία είναι πολύ ισχυροί οξειδωτές και συμμετέχουν σε αντιδράσεις υπεύθυνες για τη μικροβιακή αδρανοποίηση. Η αποτελεσματικότητα της μικροβιακής απενεργοποίησης του PAW είναι διαφορετική από αυτή των οξινισμένων επεξεργασμένων υγρών πλάσματος (PPL). Οι Naitali et al. (2010), παρατήρησε πολύ μικρότερη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού με οξινισμένο νερό απ'ότι με το PAW. Η συνεργιστική επίδραση των RNS με τα ROS και τις φυσικές παραμέτρους μπορεί να έχει αυξημένη αποτελεσματικότητα απενεργοποίησης των μικροοργανισμών κάτι που απουσιάζει από το οξινισμένο νερό. Ο σχηματισμός ιόντων υπεροξυνιτρώδους στο PAW μπορεί να ανιχνευθεί με μέτρηση των αλλαγών στην αγωγιμότητα. Ο υπεροξυνιτρίτης που σχηματίστηκε σε PAW βρέθηκε από τους Lukes (2012) και αποδείχθηκε ότι ο χρόνος ημιζωής του υπεροξυνιτρικού είναι βραχύς, αλλά επαρκής για να διαχέεται σε κύτταρα και κατά συνέπεια να οδηγεί σε μικροβιακή αδρανοποίηση. Ο υπεροξυνιτρίτης μπορεί να αλληλεπιδράσει με λιπίδια μεμβράνης και να αρχίσει την υπεροξείδωση λιπιδίων οδηγώντας τελικά στον κυτταρικό θάνατο. Οι Rubbo et al. (2009),

ανέφεραν ότι το υπεροξυνιτρώδες μπορεί να οξειδώσει πολλά μακρομόρια, όπως υπολείμματα πρωτεϊνικής τυροσίνης, θειόλες και ακόρεστα λιπαρά οξέα. Τα ιόντα υπεροξυνιτρώδους έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν οξειδωτική, μεταλλαξιγόνο και κυτταροτοξική βλάβη στα μικροβιακά κύτταρα (Bryk et al., 2000). Τα ιόντα υπεροξυνιτρίλιου μπορούν επίσης να αντιδρούν με διαλυμένο διοξείδιο του άνθρακα για να παράξουν ON_2CO_2^- , το οποίο μπορεί στη συνέχεια να παράξει ρίζα CO_3^- , η οποία είναι ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας (Lyman & Hurst, 1998). Έχει υποτεθεί ότι η ρίζα CO_3^- είναι ικανή να οξειδώνει αρκετά κρίσιμα αμινοξέα σε πρωτεΐνες (Adams, et al., 1972), ακόμη και παρουσία αντιοξειδωτικών που είναι φυσιολογικά παρόντα σε βιολογικά υγρά (Lyman and Hurst, 1988).

Φυσικές παράμετροι και μικροβιακή αδρανοποίηση

Οι σημαντικές φυσικές παράμετροι που ευθύνονται για τη μικροβιακή αδρανοποίηση είναι το pH, το ORP, η υπεριώδης ακτινοβολία, τα φωτόνια και τα ηλεκτρικά πεδία που σχηματίζονται στο PAW (Εικόνα 2.7). Ο σχηματισμός δραστικών χημικών ειδών στο PAW μειώνει το pH του. Το pH του περιβάλλοντος επηρεάζει σημαντικά τα περισσότερα από τα μικρόβια, επειδή δεν έχουν μηχανισμό ρύθμισης του εσωτερικού pH τους (Frazier & Westhoff, 1988). Οι ζύμες και οι μύκητες είναι πιο ανθεκτικά σε όξινο pH από τα βακτήρια. Οι περισσότεροι μύκητες και ζυμομύκητες μπορούν να αναπτυχθούν και να επιβιώσουν στην περιοχή pH 2-8,5 και 4-4,5, αντίστοιχα, αλλά τα βακτήρια δεν μπορούν να επιβιώσουν σε pH κάτω από 3,7. Το pH και το ORP είναι η άμεση μέτρηση των ROS και RNS που σχηματίζονται στο PAW και εξαρτώνται κυρίως από τον χρόνο ενεργοποίησης, το αέριο τροφοδοσίας και την απόσταση ενεργοποίησης από την επιφάνεια του υγρού. Ο Suslow (2004), ανέφερε ότι ο χρόνος έκπλυσης που απαιτείται για νερό με ORP μεγαλύτερο από 650 mV για την αδρανοποίηση των βακτηριακών ειδών, όπως τα *E. coli*, *Salmonella spp.* και *Listeria monocytogenes* ήταν <10 s, <20 s και <30 s αντίστοιχα. Η ακτινοβολία UV με μήκος κύματος κυμαινόμενη μεταξύ 200 και 280 nm είναι γνωστό ότι έχει βακτηριοκτόνα αποτελέσματα. Ο σημαντικότερος μηχανισμός της βακτηριακής αδρανοποίησης των UV ακτινοβολιών είναι ο διμερισμός των βάσεων θυμίνης στις ίνες DNA τους (Laroussi & Leibold, 2004). Οι Spetlikova et al. (2010), διερεύνησαν το ρόλο της ακτινοβολίας UV στη βακτηριακή αδρανοποίηση. Αναφέρθηκε ότι 40-50% της ολικής βακτηριακής αδρανοποίησης οφείλεται στην υπεριώδη ακτινοβολία που δημιουργήθηκε από την άμεση εκκένωση του πλάσματος. Όσο μεγαλύτερη είναι η αγωγιμότητα του PAW, τόσο ισχυρότερη είναι η ένταση των UV ακτινοβολιών που σχηματίζονται στο υποβρύχια εκκενωμένο πλάσμα. Ο Lukes (2008), ανέφερε ότι το υπεριώδες φως που σχηματίστηκε σε PAW συνέβαλε σχεδόν στο 30% της απενεργοποίησης *E coli*, όταν αυτό ήταν παρόν στο μέσο ανάπτυξης κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας πλάσματος.

Επιπλέον, η δημιουργία ηλεκτρικών πεδίων υψηλής έντασης στο PAW θα μπορούσε να είναι θανατηφόρα για τα μικρόβια (Lukes et al., 2012). Η ανάπτυξη ηλεκτρικού φορτίου διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης αυξάνει τη διαπερατότητα λόγω του σχηματισμού των πόρων με μια διαδικασία που ονομάζεται ηλεκτροδιάτρηση. Οι ρίζες ROS μπορούν εύκολα να περάσουν από την κυτταρική μεμβράνη και να προκαλέσουν οξειδωτική βλάβη στα κύτταρα.



Εικόνα 2.7. Σχηματικό διάγραμμα της καταστροφής των κυττάρων που προκαλείται από το PAW μέσω των διαφορετικών μηχανισμών που προκαλούνται από τα δραστικά είδη (ROS και RNS), τις φυσικές παραμέτρους (pH, ORP και ακτινοβολίες UV), την υπεροξειδωση λιπιδίων (l) και την ηλεκτροδιάτρηση (+) (Thirumdas et al., 2018).

Βελτίωση της βλάστησης των σπόρων

Μεταξύ των διαφόρων λόγων για την απώλεια απόδοσης των καλλιεργειών, η απώλεια της βιωσιμότητας των σπόρων λόγω μόλυνσης, το χαμηλό ποσοστό βλαστών και οι μεγαλύτεροι χρόνοι βλάστησης είναι οι πιο σημαντικοί (Mitra, et al., 2014). Η ανάπτυξη των φυτών κατά τη διάρκεια της βλάστησης περιλαμβάνει δύο βασικά βήματα, τα οποία είναι η επιμήκυνση του πρωτεύοντος κυττάρου του αξονικού τμήματος του εμβρύου και η ταυτόχρονη ή καθυστερημένη κυτταρική διαίρεση στο ριζικό μερίστεμα. Οι Ling et al. (2014), ανέφεραν ότι η επεξεργασία με ψυχρό πλάσμα ενίσχυσε τη βλάστηση των σπόρων κατά τη διάρκεια συνθηκών στρες. Επί του παρόντος, η χρήση του PAW για τη βελτίωση της βλάστησης των σπόρων είναι περιορισμένη. Μια μελέτη που έγινε έδειξε αύξηση της βλαστικότητας σπόρων σικάλης κατά 50% ,καθώς και του αριθμού των σπόρων ύστερα από 5 λεπτά έκπλυσης με PAW (Naumova et al., 2011). Οι μελέτες που σχετίζονται με τη βλάστηση υποδηλώνουν ότι τα ROS που περιλαμβάνουν ρίζες υδροξυλίου, υπεροξειδίου του υδρογόνου και ατομικό οξυγόνο είναι υπεύθυνα για τη βλάστηση των σπόρων (Su et al., 2016). Αυτά τα είδη ROS παράγονται και απελευθερώνονται από τα μιτοχόνδρια μέσα στο κύτταρο και θεωρούνται ως ενεργά σημεία παραγωγής (Møller et al., 2007). Ο σχηματισμός πρόσθετων ROS που παράγονται στο PAW θα μπορούσε περαιτέρω να ενισχύσει τη βλάστηση των σπόρων.

Βελτίωση της ανάπτυξης των φυτών

Το αμμώνιο και τα νιτρικά είναι οι κυριότερες πηγές αζώτου που απορροφώνται από τα φυτά για την ανάπτυξή τους από το έδαφος. Αυτά σχηματίζονται στο έδαφος μέσω της σταθεροποίησης του αζώτου από κάποια βακτήρια που καθορίζουν το άζωτο. Η παραγωγή νιτρικών στο PAW επιτυγχάνεται με την εκκένωση του πλάσματος και μπορεί να χρησιμεύσει ως εναλλακτική πηγή αζώτου για την ανάπτυξη των φυτών. Το ατμοσφαιρικό αέριο αζώτου/αζώτου συλλαμβάνεται και μετατρέπεται σε άλλες δραστικές ρίζες μέσω ενεργοποίησης πλάσματος σε νερό. Σύμφωνα με μία μελέτη μετά από 63 ημέρες καλλιέργειας των φυτών φράουλας, το ύψος των φυτών παρατηρήθηκε να είναι 158 και 175 mm μετά από χρήση PAW 15 και 30 λεπτών αντίστοιχα, ενώ το φυτό στο οποίο δεν έπεσε ενεργοποιημένο νερό έφτασε τα 121 mm ύψος (Takahata, et al., 2014). Βρήκαν επίσης παρόμοια αύξηση στα ύψη των φυτών του σπανακιού και του ραπανιού μετά την καλλιέργεια χρησιμοποιώντας PAW. Το μέγεθος των φύλλων παρατηρήθηκε επίσης να αυξάνεται μετά την εφαρμογή PAW. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο σχηματισμός νιτρικού αζώτου στο PAW που απορροφάται από τις ρίζες ως θρεπτικό συστατικό αποτελεί τον κύριο λόγο ενίσχυσης της ανάπτυξης των φυτών. Ο Park (2013), μελέτησε την επίδραση του PAW που δημιουργήθηκε με την εκκένωση τόξου στην ανάπτυξη διαφορετικών φυτικών ειδών. Παρατηρήθηκε ότι η ρίζα του μηριαίου και το μήκος του στελέχους αυξήθηκαν στα 6.2 cm και 5 cm, αντίστοιχα, σε PAW σε σύγκριση με 1 cm για δείγματα control. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν επίσης για την ανάπτυξη των φυτών των φασολιών και των καρπουζιών μετά την εφαρμογή PAW. Οι συγγραφείς ανέφεραν ότι ο σχηματισμός νιτρικών και νιτρικών στο PAW διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των φυτών, μαζί και με το υπεροξειδίου του υδρογόνου. Διεξήγαγαν επίσης πειράματα σχετικά με την ανάπτυξη των φυτών χρησιμοποιώντας μόνο PAW και με συνδυασμό λιπασμάτων. Για την πιπεριά και τα φυτά τομάτας, το μήκος του στελέχους και της ρίζας ήταν υψηλότερο στο PAW με λιπάσματα σε σύγκριση με άλλες εφαρμογές. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν επίσης από τους (Lindsay, et al., 2014) σε ραπανάκια, κατιφές και φυτά τομάτας που καλλιεργούνται χρησιμοποιώντας PAW.

2.5.4 Περιορισμοί στη χρήση του PAW

Η πολυπλοκότητα των διαφόρων διατάξεων πλάσματος ατμοσφαιρικής πίεσης, έχουν διαφορές στο σχεδιασμό και τις λειτουργίες τους που μπορούν να οδηγήσουν σε διαφορετικές ενώσεις αντίδρασης με διαφορετικούς μηχανισμούς. Η χημεία του πλάσματος αερίου είναι πολύ περίπλοκη και ο έλεγχος των αντιδράσεων είναι μείζον πρόβλημα. Ο σημαντικότερος περιορισμός είναι ο βραχύς χρόνος ημιζωής των δραστικών ειδών, όπως το OH, $^1\text{O}_2$ που παράγεται στο PAW. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως υπάρχουν μερικές σημαντικές διαφορές στις ιδιότητες του PAW όταν η ενεργοποίηση γίνεται πάνω από την επιφάνεια του νερού και κάτω από το νερό. Αυτές οι δύο μέθοδοι παραγωγής PAW έχουν διαφορετικές βιολογικές επιδράσεις και χρειάζονται περισσότερη διερεύνηση. Για να γνωρίζουμε την αντιμικροβιακή αποτελεσματικότητα του PAW, πρέπει να πραγματοποιηθούν πλήρεις έλεγχοι του πλάσματος και του PAW που απαιτούν σαφώς διαφορετικά διαγνωστικά εργαλεία. Είναι πολύ δύσκολο να γίνει διάκριση μεταξύ των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων του PAW που ευθύνονται για τη μικροβιακή αδρανοποίηση.

Διάφοροι οξειδωτές σχηματίζονται στο PAW, όμως τα αποτελέσματά τους και ο μηχανισμός της αντίδρασης μικροβιακής αδρανοποίησης τους δεν είναι γνωστά. Τα προϊόντα τελικής αντίδρασης που σχηματίζονται στο πλάσμα ποικίλλουν ανάλογα με το φέρον αέριο που χρησιμοποιείται για την παραγωγή PAW. Η χρήση αδρανών αερίων για την παραγωγή πλάσματος αυξάνει το κόστος λειτουργίας. Μερικοί από τους συγγραφείς ανέφεραν ότι η ακριβής πηγή για τη μείωση του pH και ο ρόλος του όξινου PAW στη μικροβιακή αδρανοποίηση δεν είναι σαφής.

2.5.5 Μελλοντικές Πτυχές του PAW

Οι μελλοντικές προσπάθειες θα πρέπει να επικεντρωθούν στην ανάπτυξη εφαρμογών PAW για την αντιμετώπιση των προκλήσεων της αύξησης παραγωγής τροφίμων και την εξασφάλιση της ασφάλειας τους. Αυτό απαιτεί την κατανόηση των βασικών αρχών της δημιουργίας PAW και της δράσης του σε επίπεδο μικρο-κλίμακας. Η ταυτοποίηση των ενδιάμεσων της αντίδρασης και ο προσδιορισμός των τελικών προϊόντων μετά την επεξεργασία είναι απολύτως απαραίτητα. Η ύπαρξη σύνθετης χημείας στο πλάσμα και ο σχηματισμός διαφόρων ROS και RNS πρέπει να εξεταστούν και να αξιολογηθούν προσεκτικά. Η ικανότητα του PAW για ενίσχυση της ανάπτυξης των φυτών μπορεί να αξιοποιηθεί για υδροπονικές εφαρμογές. Πρέπει να γίνει έγκριση της επεξεργασίας με PAW από τους διάφορους κυβερνητικούς ρυθμιστικούς οργανισμούς ώστε να θεωρείται πλέον μια ασφαλής μέθοδος (GRAS). Η επιτυχία αυτής της τεχνολογίας εξαρτάται από τη μελλοντική της ανάπτυξη και την ικανότητά της να λειτουργεί συνεχώς με τη μικρότερη δυνατή συντήρηση.

3 ΦΡΕΣΚΟΚΟΜΜΕΝΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

3.1 Εισαγωγή

Τα προϊόντα από φρεσκοκομμένα λαχανικά και φρούτα είναι από τα πιο δημοφιλή προϊόντα στην αγορά τα τελευταία 30 χρόνια. Η βιομηχανία αυξήθηκε σε πάνω από 10 δισεκατομμύρια δολάρια σε πωλήσεις στις ΗΠΑ το 1999 και δεν υπήρξε επιβράδυνση της εκτότε. Στην πραγματικότητα, οι πωλήσεις για κομμένα και συσκευασμένα φρούτα είχαν μόλις ξεκινήσει και νέα προϊόντα, όπως οι κομμένες ντομάτες αναδύονταν για να ανταποκριθούν στις επιθυμίες των καταναλωτών για περισσότερη ευκολία στην καθημερινότητά τους. Τα προϊόντα φρεσκοκομμένων λαχανικών και φρούτων, όπως οι έτοιμες προς κατανάλωση σαλάτες, είναι μέχρι και σήμερα στις κορυφαίες προτιμήσεις των καταναλωτών (Lamikanra O. , 2002).

Βιομηχανία

Το μέγεθος της βιομηχανίας παραγωγής φρέσκων προϊόντων στις ΗΠΑ ήταν 27 δισεκατομμύρια δολάρια σε πωλήσεις το 2012, συμπεριλαμβανομένων των υπηρεσιών εστίασης (για παράδειγμα εστιατόρια, fast food) και λιανικής πώλησης (Cook, 2015). Τα φρέσκα προϊόντα ήταν πάντα δημοφιλή στους καταναλωτές λόγω των υπέροχων γεύσεων, της φυσικής θρεπτικής ποιότητας και της φρεσκάδας τους.

Φρεσκοκομμένα Προϊόντα

Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά, μαζί με την πρόσθετη ευκολία, συνεχίζουν να οδηγούν στην αύξηση των πωλήσεων των φρεσκοκομμένων προϊόντων. Η Διεθνής Ένωση Φρεσκοκομμένων Προϊόντων (IFPA) ορίζει τα φρεσκοκομμένα προϊόντα ως "κάθε φρούτο ή λαχανικό ή συνδυασμός αυτού που έχει μεταλλαχτεί φυσικά από την αρχική του μορφή, αλλά παραμένει φρέσκο". Η αμερικάνικη αγορά φρεσκοκομμένων προϊόντων ήταν περίπου 27 δισεκατομμύρια δολάρια σε πωλήσεις το 2012, με τις υπηρεσίες εστίασης να αποτελούν περίπου το 60% του συνόλου (Cook, 2015). Οι συσκευασμένες σαλάτες είναι από τα πιο δημοφιλή φρεσκοκομμένα προϊόντα και με τα κομμένα φρούτα και λαχανικά που περιλαμβάνονται, αυτή η κατηγορία εκτιμάται από τον IFPA να συνεχίσει να αυξάνεται σε πωλήσεις στην αμερικανική λιανική αγορά κατά 10.3% ετησίως για τα επόμενα χρόνια (Cook, 2015).

Βελτιώσεις στην Παραγωγή

Από το 1940, οι εταιρίες παραγωγής επινόησαν μοναδικούς τρόπους κοπής και συσκευασίας προϊόντων προς πώληση. Αρχικά, ορισμένες βιομηχανίες χρησιμοποιούσαν λουτρά για να πλύνουν τα προϊόντα, ενώ άλλες χρησιμοποιούσαν τον περιστροφικό ξηρό κύκλο σε πλυντήρια για το βήμα της ξήρανσης. Ο πάγος χρησιμοποιήθηκε στα λουτρά για την ψύξη

των προϊόντων και η στοιχειώδης συσκευασία δεν παρείχε παρά λίγη προστασία από τη μόλυνση κατά τη διανομή. Η βιομηχανία δημιούργησε μεγάλο μέρος του εξοπλισμού της καθώς η παραγωγή αυξανόταν στη δεκαετία του 1970 από την ανάπτυξη των πωλήσεων στις υπηρεσίες εστίασης, αλλά η πραγματική καινοτομία συνέπεσε με την αύξηση του αριθμού των εστιατορίων τη δεκαετία του '80 (Lamikanra O. , 2002).

Πολλές τεχνολογικές εξελίξεις σημειώθηκαν στη δεκαετία του 1980 και του 1990 καθώς η βιομηχανία οργανώθηκε μέσω της δικής της επαγγελματικής ένωσης, της IFPA. Οι προμηθευτές προσχώρησαν στο IFPA και συμμετείχαν σε μια αυξανόμενη ετήσια εμπορική έκθεση εξοπλισμού για την πώληση εξοπλισμού. Αυτό το νέο «φόρουμ» ανταλλαγής τεχνολογίας συνέβαλε στην προώθηση της βιομηχανίας προς τα εμπρός και στη βελτίωση της ποιότητας και της ασφάλειας των φρεσκοκομμένων προϊόντων. Η έρευνα της βιομηχανίας ανακάλυψε πολλά νέα βήματα για τη βελτίωση της διάρκειας ζωής των συγκεκριμένων προϊόντων και οδήγησε τη βιομηχανία να επικεντρωθεί στην ψύξη ως το πιο κρίσιμο βήμα στην διαδικασία παραγωγής. Αρχή τους έγινε το "όσο νωρίτερα το βήμα ψύξης, τόσο καλύτερο είναι το τελικό προϊόν". Σημαντικές καινοτομίες στον εξοπλισμό βελτίωσαν τις προδιαγραφές της παραγωγής φρεσκοκομμένων προϊόντων, περιλαμβανομένων του κλειστού λουτρού ύδατος, προηγμένων μηχανημάτων κοπής για μια ποικιλία μεγεθών, προηγμένες μηχανές ξήρανσης, η αυτόματη μηχανή συσκευασίας, αυτόματο εξοπλισμό υγιεινής και ηλεκτρονικό εξοπλισμό παρακολούθησης. Κάθε τεχνολογική πρόοδος αύξανε την ταχύτητα παραγωγής, αλλά προκαλούσε νέα εμπόδια. Έτσι, υπήρξε αυξημένη κινητοποίηση για την εξέλιξη της αυτοματοποίησης και του ηλεκτρονικού ελέγχου από την βιομηχανία. Σήμερα, ο σχεδιασμός των διεργασιών για την παραγωγή φρεσκοκομμένων προϊόντων επικεντρώνεται στην ασφάλεια των τροφίμων και την εξυγίανση, στην τέλεια ψύξη, στις υψηλότερες ταχύτητες παραγωγής μέσω αυτοματοποίησης και στη βελτίωση της ποιότητας (Lamikanra O. , 2002).

Ζήτηση

Στα μέσα της δεκαετίας του '70, τα εστιατόρια είδαν μια μεγάλη ευκαιρία να εξοικονομήσουν το κόστος εργασίας τους, κάνοντας χρήση των "βολικών" φρεσκοκομμένων προϊόντων. Για την αντιμετώπιση των αυξανόμενων απαιτήσεων των McDonald's και άλλων αλυσίδων fast food, οι καλλιεργητές και μεταποιητές ανέπτυξαν τις επιχειρήσεις τεμαχισμένου μαρουλιού και ψιλοκομμένου κρεμμυδιού σε μια ισχυρή θέση μέσα στη βιομηχανία φρεσκοκομμένων προϊόντων (Lawn & Krummert, 1995). Στα μέσα της δεκαετίας του 1980, υπήρξε τεράστια αύξηση του αριθμού των εστιατορίων στη Βόρεια Αμερική. Ο μπουφές σαλάτας έγινε η τελευταία μόδα μεταξύ των καταναλωτών. Σύντομα, φρέσκα φρούτα και λαχανικά πήραν τη θέση των κονσερβοποιημένων προϊόντων σε μπουφέδες σαλάτας στην Αμερική. Η McDonald's Corporation αποφάσισε να εξαλείψει τις σαλάτες στα καταστήματά της για να μειώσει τους κινδύνους για την ασφάλεια των τροφίμων των καταναλωτών. Η εταιρεία ζήτησε από τους προμηθευτές της να παράξουν φρέσκια σαλάτα που να συσκευάζεται σε 5-lb. σακούλες που θα ανασυσκευάζονταν σε δίσκους μιας χρήσης για πώληση εντός των καταστημάτων της. Η ανάμιξη προϊόντων κάτω από ερμητικά σφραγισμένες συσκευασίες ήταν ασυνήθης πρακτική τότε, αλλά η επιτυχία της σαλάτας McDonald's έδωσε το κίνητρο

σε άλλες αλυσίδες εστιατορίων για την παροχή παρόμοιων προϊόντων. Αυτή ήταν και η εποχή που οι γυναίκες άρχισαν να εργάζονται έξω από το σπίτι, και οι οικογένειες δύο εισοδημάτων λόγω της έλλειψης χρόνου αναζητούσαν διάφορες ευκολύνσεις στη ζωή τους. Κομμένα και συσκευασμένα προϊόντα καλύπτουν τέλεια αυτές τις ανάγκες, αλλά η βιομηχανία φρεσκοκομμένων προϊόντων τότε αδυνατούσε να παρέχει σταθερή ποιότητα και επαρκή διάρκεια ζωής των προϊόντων της για τη λιανική αγορά (Lamikanra O. , 2002).

Βελτίωση των Ποιοτικών Χαρακτηριστικών

Παρόλο που τα φρεσκοκομμένα προϊόντα πωλούνταν στο λιανικό εμπόριο από τη δεκαετία του 1940, δεν ήταν απολύτως επιτυχημένα, επειδή η ποιότητά τους ήταν απρόβλεπτη και η διάρκεια ζωής τους περιορισμένη. Η ψύξη δεν ήταν επαρκής καθ' όλη τη διάρκεια της διανομής και δεν είχε αναπτυχθεί η κατάλληλη συσκευασία. Καθώς η ζήτηση για καλύτερα προϊόντα με μεγαλύτερη διάρκεια ζωής από τους πελάτες των υπηρεσιών εστίασης αυξήθηκε, οι προσπάθειες της βιομηχανίας επικεντρώθηκαν σε βελτιώσεις της ποιότητας. Ένα πράγμα που ήξεραν οι μεταποιητές ήταν ότι η κύρια πρόκληση ήταν να σταματήσουν τα προϊόντα από το να μαυρίσουν μετά την κοπή. Η εμφάνιση του προϊόντος ήταν η κύρια εστίαση για μέτρηση της ποιότητας την εποχή εκείνη και οι μεταποιητές διαπίστωσαν ότι μόνο με ψύξη δεν ήταν δυνατός ο έλεγχος της μεταβολής του χρώματος και άλλων ορατών ελαττωμάτων. Έπρεπε, λοιπόν, να ξεκινήσουν με υγιεινότερα ακατέργαστα προϊόντα, πιο ήπιες διαδικασίες χειρισμού κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και καλύτερη συσκευασία. Σήμερα, οι μεταποιητές επικεντρώνονται στη σημασία της ανάπτυξης της ενισχυμένης γεύσης για την παροχή ακόμα καλύτερων προϊόντων έτοιμων προς κατανάλωση. Οι παραγωγοί άρχισαν να προμηθεύουν τους μεταποιητές με προϊόντα πρώτης ποιότητας και έγινε εισαγωγή νέων διεργασιών, όπως η ξήρανση με αέρα και τα ήπια λουτρά νερού. Μερικοί μεταποιητές πειραματίστηκαν με χημικές πλύσεις ή με βρώσιμες μεμβράνες για να αποφευχθεί το μαύρισμα, αλλά τα χαμηλά ποσοστά βελτίωσης δεν δικαιολογούσαν το πρόσθετο κόστος. Η βελτιωμένη συσκευασία έγινε το επόμενο βήμα στην προσπάθεια αντιμετώπισης αυτών των προκλήσεων ποιότητας (Lamikanra O. , 2002).

Βελτίωση της Διάρκειας Ζωής

Οι μεταποιητές οδήγησαν τους καλλιεργητές φρούτων και λαχανικών να επικεντρωθούν στην αναδυόμενη αγορά φρεσκοκομμένων προϊόντων. Αντί δεύτερης ποιότητας, οι μεταποιητές ζητούσαν πλέον πρώτης ποιότητας φρούτα και λαχανικά και διαπραγματεύονταν με τους καλλιεργητές για τα καλύτερα ποιοτικά ακατέργαστα προϊόντα που μπορούσαν να προμηθευτούν από εκείνους. Γι' αυτό και σήμερα, λόγω του ότι οι καλλιεργητές ανταγωνίζονται για διαπραγματεύσεις με επενδυτές για τη δέσμευση ακόμα και ολόκληρων χωραφιών προς τους μεταποιητές, εμφανίστηκαν εταιρείες που αναπτύσσουν νέες ποικιλίες σπόρων που ταιριάζουν στις ανάγκες των μεταποιητών και προμηθευτές εξοπλισμών δημιουργούν καινοτόμα εργαλεία για τη μείωση των καταστρεπτικών για το προϊόν επιπτώσεων κατά τη συγκομιδή. Άλλα τεχνικά έργα που επηρεάζουν θετικά τη βιομηχανία φρεσκοκομμένων προϊόντων σήμερα περιλαμβάνουν τις προηγμένες τεχνικές ξήρανσης με αέρα για τη μείωση των επιπτώσεων στα κομμένα

λαχανικά ή φρούτα, εξαιρετικά βελτιωμένη ψύξη στα εργοστάσια επεξεργασίας, αύξηση της προσοχής των καταστημάτων λιανικής πώλησης στην ψύξη και την υγιεινή και εφαρμογή του HACCP και άλλων συστημάτων ασφαλείας για τρόφιμα. Είναι προφανές ότι η δέσμευση της βιομηχανίας να βρει ερευνητές και συνεργάτες προμηθευτών που συνεργάζονται για την επίλυση ζητημάτων ποιότητας και αποθήκευσης οδήγησε σε καλύτερη ποιότητα, μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και σταθερή αύξηση των πωλήσεων έως και σήμερα. Σήμερα, οι σαλάτες και τα περισσότερα λαχανικά έχουν διάρκεια ζωής 7-8 ημερών, ενώ τα φρούτα αλλοιώνονται γρηγορότερα και έχουν μικρότερη διάρκεια ζωής 5-6 ημερών εάν διατηρούνται σε θερμοκρασίες μεταξύ 1 °C και 5 °C (IFPA και PMA, 1999). Οι καταναλωτές καταναλώνουν φρέσκες σαλάτες, φρούτα και λαχανικά σε ετήσια βάση και γι' αυτό η βιομηχανία προσπαθεί να αναπτύξει καλύτερα προϊόντα για να συνεχίσει να προσφέρει αξιόπιστη ποιότητα στους πελάτες της (Lamikanra O. , 2002).

Κανονισμός Ασφάλειας των Τροφίμων

Ο κίνδυνος εμφάνισης τροφιμογενών ασθενειών από φρέσκα προϊόντα δεν είναι ακριβώς γνωστός αυτή τη στιγμή, επειδή τα κρούσματα που σχετίζονται με τα φρούτα και τα λαχανικά έχουν σποραδικές και ελλιπείς αναφορές. Επίσης, δεν υπάρχουν οριστικές στρατηγικές παρέμβασης που να διασφαλίζουν την εξάλειψη των παθογόνων παραγόντων από φρέσκα προϊόντα. Συνεπώς, η βιομηχανία πρέπει να επικεντρωθεί στην πρόληψη της μόλυνσης των νωπών προϊόντων με ανθρώπινα παθογόνα για να διασφαλίσει ότι αυτά τα προϊόντα είναι ασφαλή και υγιεινά για κατανάλωση από τον άνθρωπο (Gorny & Zagory, 2002) .

Στις ΗΠΑ και τον Καναδά αναπτύχθηκαν οδηγίες ή κανονισμοί για την ασφαλή και υγιεινή παραγωγή, συγκομιδή, συσκευασία, επεξεργασία και μεταφορά των προϊόντων.

Ομοίως, στην Ευρώπη, την Αυστραλία και άλλες χώρες, νέα πρότυπα ή κανονισμοί αντιμετωπίζουν ζητήματα μόλυνσης που συνδέονται με την παραγωγή. Υπάρχουν ήδη πρότυπα σχέδια για διαδικασίες υγιεινής κατά τη συγκομιδή και τη συσκευασία φρέσκων φρούτων και λαχανικών τα οποία καλύπτουν τα λάχανα γενικότερα και τα φρεσκοκομμένα προϊόντα. Αυτά τα σχέδια εφαρμόζονται σε όλες τις χώρες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας και του Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας για την περαιτέρω εναρμόνιση της παγκόσμιας αγοράς (Lamikanra O. , 2002).

Η βιομηχανία τροφίμων έχει λάβει ευρεία κάλυψη τα τελευταία χρόνια στις ειδήσεις, λόγω πολλών ζητημάτων, όπως η βιοτεχνολογία, οι εστίες τροφιμογενών ασθενειών και οι ανακλήσεις προϊόντων. Ωστόσο, σύμφωνα με το Ίδρυμα Διεθνούς Συμβουλίου Πληροφόρησης για τα Τρόφιμα (IFCF), το κύμα αυτό μπορεί να μεταβληθεί σε μια πιο θετική εικόνα για τα τρόφιμα και την παραγωγή γενικότερα, στα μέσα ενημέρωσης.

Οι επιστημονικοί ερευνητές και εμπειρογνώμονες ήταν πιο συχνά αυτοί που καλούνταν στις αναφορές ειδήσεων σχετικών με τα τρόφιμα, γεγονός που προσθέτει αξιοπιστία στις ιστορίες (Lamikanra O. , 2002).

Τα θέματα ασφαλείας των τροφίμων είναι πολύ σημαντικά και η βιομηχανία πρέπει να θεσπίσει ενημερωμένες πρακτικές υγιεινής, αλλά η βιομηχανία προϊόντων δίδει ένα πολύ

θετικό μήνυμα για τον καταναλωτή, καθώς τα περισσότερα φρούτα και λαχανικά έχουν χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και υψηλή περιεκτικότητα σε φυτικές ίνες και θρεπτικά συστατικά.

3.2 Επισκόπηση της ευρωπαϊκής βιομηχανίας παραγωγής φρεσκοκομμένων προϊόντων

Όταν η έρευνα για τη βέλτιστη επεξεργασία των φρεσκοκομμένων προϊόντων άρχισε στη Γαλλία πριν από περίπου 30 χρόνια, η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών κατά κεφαλήν μειώθηκε σταθερά από το 1971 λόγω της ανάπτυξης της τροφοδοσίας και της ενσωμάτωσης των γυναικών στην εργασία (Scandella & Leteinturier, 1989). Κατά συνέπεια, ο χρόνος που αφιερωνόταν στην προετοιμασία γευμάτων μειώθηκε αναλόγως. Επιπλέον, τα φρούτα και τα λαχανικά είναι προϊόντα βραχείας διάρκειας που είναι ελάχιστα συμβατά με ένα ταξίδι αγορών την εβδομάδα. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα εύκολα στη χρήση λαχανικά, όπως οι ντομάτες δεν ακολούθησαν αυτή την τάση (Lamikanra O. , 2002).

Αυτή η τάση τράβηξε την προσοχή των επιβλεπόντων των σουπερμάρκετ και των διατροφολόγων. Κατά τη διάρκεια μιας επίσκεψης στις Ηνωμένες Πολιτείες τη δεκαετία του 1970, ο Claude Chertier, αγοραστής φρούτων και λαχανικών με τη γαλλική αλυσίδα σούπερ μάρκετ Monoprix, παρατήρησε τους μπουφέδες σαλάτας στα εστιατόρια fast food και τα σούπερ μάρκετ και αποφάσισε να παράξει σαλάτες "έτοιμες προς κατανάλωση" στη γαλλική αγορά. Ο Claude Chertier ήρθε σε επαφή με το INRA (Εθνικό Ινστιτούτο Αγρονομικής Έρευνας) για να αναπτύξει την ιδέα του (1980) (Lamikanra O. , 2002).

Τα τεμαχισμένα σέλινα και τα καρότα, μαζί με τα τεμαχισμένα μαρούλια, ήταν ήδη διαθέσιμα στη Βόρεια Ευρώπη (1970), αλλά αυτά τα αποσυσκευασμένα προϊόντα (μερικές φορές απλώς περιτυλιγμένα με PVC), τα οποία σχεδιάστηκαν κυρίως για τροφοδοσία σε υπηρεσίες εστίασης, δεν προσαρμόστηκαν στη γαλλική αγορά, επειδή η οργανοληπτική και υγιεινή ποιότητά τους δεν ήταν επαρκής, η διάρκεια ζωής τους περιοριζόταν σε δύο έως τρεις ημέρες και τα μαρούλια δεν ήταν δημοφιλή στη Γαλλία. Εκείνη τη περίοδο, ορισμένοι Γάλλοι μεταποιητές παρασκεύαζαν ήδη φρεσκοκομμένα λαχανικά για σούπερ (Lamikanra O. , 2002).

Ο Claude Chertier θέλησε η νέα σειρά προϊόντων να αναγνωριστεί ως φρέσκια, ασφαλή και φιλική προς τον καταναλωτή. Οι τεχνικές προδιαγραφές ήταν ότι οι σαλάτες (200-300 γραμμαρίων) πρέπει να συσκευάζονται προκειμένου να διευκολυνθεί η διανομή στα σούπερ μάρκετ και να αποφευχθεί η μικροβιακή μόλυνση, τα προϊόντα πρέπει να διανέμονται σε θερμοκρασία δωματίου (περίπου 20 °C), η διάρκεια ζωής να είναι επτά ημέρες και επιπλέον δύο μέρες στην κατοχή του καταναλωτή, η σύνθεση της σαλάτας θα πρέπει να προσαρμόζεται στη γεύση των Γάλλων καταναλωτών και δεν θα πρέπει να περιλαμβάνει πρόσθετα (Lamikanra O. , 2002).

Προκειμένου να προσφέρει στους καταναλωτές μια αποδεκτή ποικιλία σαλάτας, ο Claude Chertier ζήτησε επίσης συσκευασμένο καρότο (*Daucus carota* L.) και σέλινο (*Arium graveolens* L.) μαζί με τεμαχισμένα κόκκινα και λευκά λάχανα (*Brassica oleracea* L.). Από το

1981 έως το 1983, λοιπόν, η INRA μελέτησε το πρώτο τους μοντέλο φυτών. Τα πειράματα σχετικά με την επίδραση των λειτουργιών της μονάδας σε φυσιολογικές διαταραχές, βακτηριακή αλλοίωση και αποχρωματισμό των φύλλων οδήγησαν σε μια ρεαλιστική διαδικασία. Προφανώς, η διάρκεια ζωής των εννέα ημερών δεν ήταν εφικτή στους 20 °C, αλλά ήταν εφικτή στους 4-6 °C. Το 1983 καθιερώθηκε η διαδικασία για κάθε μονάδα επεξεργασίας και οι μεταποιητές επένδυσαν σε στοιχειώδη εξοπλισμό επεξεργασίας. Τη δεδομένη στιγμή, ο εξοπλισμός επιλέχθηκε από άλλες μεθόδους επεξεργασίας, όπως η κονσερβοποίηση και η κατάψυξη και δεν ήταν καλά προσαρμοσμένος στη βιομηχανία φρεσκοκομμένων προϊόντων. Το 1984, ένας ελβετός κατασκευαστής εξοπλισμού άρχισε να παράγει μηχανήματα ειδικά για τη νέα βιομηχανία. Η παραγωγή σαλατών έτοιμων προς κατανάλωση στη Γαλλία ήταν μόλις 1400 μετρικούς τόνους, αλλά η επιτυχία τους ήταν άμεση, δεδομένου ότι η παραγωγή έφθασε τους 8000 μετρικούς τόνους το 1985. Αυτά τα νέα προϊόντα αποκαλούντο ως «quatrième gamme» ή "Τέταρτη σειρά" στην εμπορική ορολογία. Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι φρέσκα στην πρώτη σειρά, κονσερβοποιημένα στη δεύτερη, κατεψυγμένα στην τρίτη, και φρεσκοκομμένα ή ελάχιστα επεξεργασμένα στην τέταρτη (Lamikanra O. , 2002).

Το 1985, συμμετείχαν επίσης το CTIFL (Τεχνικό Κέντρο Επαγγελματικού Προσανατολισμού Φρούτων και Λαχανικών) και άλλοι οργανισμοί, όπως η ADRIA (Ένωση Έρευνας και Ανάπτυξης Αγροτικών Τροφίμων) Normandy, το Ινστιτούτο Pasteur (Λυών) και τα διάφορα CRITT (Περιφερειακό Κέντρο Μεταφοράς Τεχνολογίας) για την ανάπτυξη της βιομηχανίας φρεσκοκομμένων προϊόντων και την παροχή τεχνικής βοήθειας στους μεταποιητές. Κατά συνέπεια, η INRA εστίασε τη δραστηριότητά της σε μια πιο θεωρητική προσέγγιση στο πεδίο της φυσιολογίας και της μικροβιολογίας των «φρεσκοκομμένων» φυτικών ιστών. Δεδομένου ότι τα νέα προϊόντα θεωρήθηκαν δυνητικά επικίνδυνα, το INRA ανέλαβε εκτενή έρευνα σχετικά με τους μικροβιακούς κινδύνους που σχετίζονται με τους προσυσκευασμένους φυτικούς ιστούς (Lamikanra O. , 2002).

Ταυτόχρονα, η νέα αυτή βιομηχανία εξαπλώθηκε σε ολόκληρη τη Βόρεια Ευρώπη και μια έρευνα (Anonymous, 1986) σχετικά με τα ελάχιστα επεξεργασμένα λαχανικά αριθμούσε οκτώ μονάδες επεξεργασίας στην Ολλανδία, τέσσερις στο Βέλγιο, έντεκα στη Γερμανία, τουλάχιστον δύο μεγάλες μονάδες στην Αγγλία, πέντε στην Ελβετία (συν πολλές μικρές μονάδες γύρω από τις πόλεις) και 19 στη Γαλλία. Η έννοια της έτοιμης προς κατανάλωση σαλάτας δεν ήταν τόσο επιτυχημένη στη νότια Ευρώπη. Εκεί, η διάρκεια ζωής ήταν από τέσσερις έως έξι ημέρες σε ψύξη (από 2 - 4 °C). Ταυτόχρονα, τα περισσότερα ευρωπαϊκά μηχανήματα επεξεργασίας τροφίμων ανέπτυξαν ειδικές γραμμές επεξεργασίας εξοπλισμένες με αμερικανικό, ιαπωνικό και ευρωπαϊκό εξοπλισμό.

Ανάπτυξη και Στατιστικά

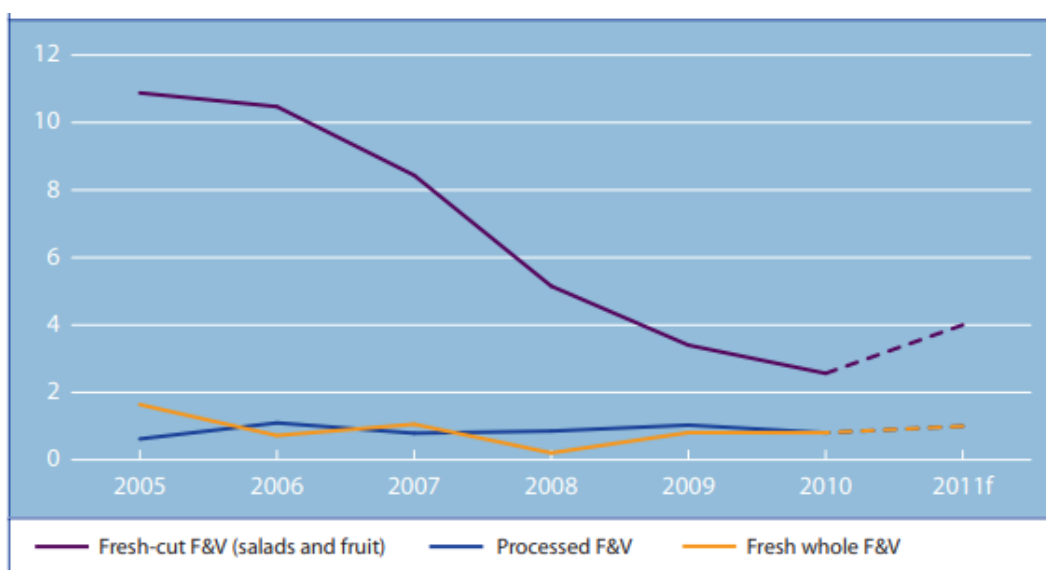
Μετά από αυτή την περίοδο ανάπτυξης, περίπου το 1990, υπήρχαν μέχρι και 70 παραγωγόι στη Γαλλία. Οι περισσότεροι κατασκευαστές λειτουργούσαν υπό συνθήκες κακής υγιεινής και η αλυσίδα ψύξης δεν τηρούταν ούτε από τους μεταφορείς ούτε από τους διανομείς. Η οπτική ποιότητα των περισσότερων φρεσκοκομμένων προϊόντων στο τέλος της διάρκειας ζωής τους ήταν κακή. Η επεξεργασία φρεσκοκομμένων προϊόντων είναι, ωστόσο, υπεύθυνη

για τη δραματική αύξηση της κατανάλωσης λυκοτριβόλου που μειωνόταν σταθερά. Αυτό το μαρούλι, που καλλιεργείται σε αμμώδες έδαφος, είναι δύσκολο να πλυθεί (Lamikanra O. , 2002).

Προκειμένου να σταματήσει η παρακμή και να αποκατασταθεί η υγιεινή επεξεργασία και διανομή, το CTIFL και η DGCCRF (μια γαλλική κυβερνητική οργάνωση παρόμοια με την αμερικανική FDA) δημοσίευσαν κατευθυντήρια γραμμή για τη βιομηχανία φρεσκοκομμένων προϊόντων. Αυτή η κατευθυντήρια γραμμή μετατράπηκε σε κανονισμό το 1988 (Αnonymous, 1988) και τροποποιήθηκε το 1993 (Αnonymous, 1993) και στη συνέχεια τροποποιήθηκε πάλι το 1996 (Αnonymous, 1996).

Η εφαρμογή του είχε ως αποτέλεσμα την ταχεία βελτίωση της ποιότητας και τη δραματική μείωση του αριθμού των εταιρειών μεταποίησης (Lamikanra O. , 2002).

Η αγορά φρεσκοκομμένων προϊόντων στην Ευρώπη, από την αρχή της δεκαετίας του 1980, χαρακτηρίστηκε από διψήφια αύξηση, αν και στα πέντε έτη 2005-2010 η εν λόγω ανάπτυξη επιβραδύνθηκε σταδιακά από 10% σε 3%. Συγκριτικά, το σύνολο των φρεσκοκομμένων φρούτων και λαχανικών καθώς και τα μεταποιημένα φρούτα και λαχανικά έχουν δείξει πολύ σταθερούς ρυθμούς αύξησης του όγκου από 0% έως 2% ετησίως (Εικόνα 3.1) (Baselice et al.,2014).



Εικόνα 3.1. Σύγκριση αύξησης όγκου της αγοράς φρεσκοκομμένων φρούτων και λαχανικών με την αγορά μεταποιημένων και φρέσκων φρούτων και λαχανικών (Baselice et al., 2014).

Το Ηνωμένο Βασίλειο επιβεβαιώνεται ότι είναι ο ηγέτης της Ευρώπης στις πωλήσεις στην αγορά φρεσκοκομμένων προϊόντων, ακολουθούμενο από την Ιταλία (FAO, 2010) με ανάπτυξη κατά τη διάρκεια των τριών ετών 2008-2010 κατά μέσο όρο 6% (Baselice et al., 2014). Σε χώρες, όπως η Γερμανία και η Ισπανία, στις οποίες τα φρεσκοκομμένα φρούτα και λαχανικά είναι ακόμα πρωτοεμφανιζόμενα, η ανάπτυξη της αγοράς τα τελευταία χρόνια ήταν υψηλότερη από άλλες χώρες στις οποίες έχει ήδη εδραιωθεί αυτή η αγορά, όπως η Ιταλία και οι Κάτω Χώρες (Baselice et al., 2014). Η τάση στην κατανάλωση φαίνεται να αντανάκλα την τάση της συνολικής παραγωγής οπωροκηπευτικών στις διάφορες ευρωπαϊκές χώρες. Αναφορικά με τη δεκαετία 2000-2010, όπως αναφέρει έκθεση του (FAO,

2013), η Ιταλία και η Ελλάδα παρουσίασαν μείωση της παραγωγής λαχανικών κατά -2,0% και -2,4% και κατά - 0,2% και -2,4% στην παραγωγή φρούτων, αντίστοιχα. Για το Ηνωμένο Βασίλειο, η μείωση της παραγωγής λαχανικών (-1,8%) βρίσκεται σε αντεπιχείρηση σε σχέση με την αύξηση της παραγωγής φρούτων (3,2%). Για την Ισπανία, η παραγωγή λαχανικών και φρούτων παρέμεινε σχεδόν αμετάβλητη (FAO, 2013).

Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια παρατηρήθηκε ακόμα μεγαλύτερη αύξηση των πωλήσεων των φρεσκοκομμένων φρούτων και λαχανικών. Παρά τις προσπάθειες διαφοροποίησης του εύρους των προϊόντων που προσφέρονται στον καταναλωτή, οι φρεσκοκομμένες πράσινες σαλάτες εξακολουθούν να αντιπροσωπεύουν περίπου το 61% της συνολικής παραγωγής (Cook, 2015). Ο συνολικός όγκος πωλήσεων αυξήθηκε κατά 9,9% από τους 95,8 χιλιάδες τόνους του 2010 σε 105,3 χιλιάδες το 2015, ενώ η συνολική αξία τους αυξήθηκε κατά 10,1% από 780 εκατ. ευρώ σε σχεδόν 859 εκατ. ευρώ. Οι συνολικοί όγκοι πωλήσεων αναμένεται να συνεχίσουν να αυξάνονται, με αύξηση 7,5% (δηλαδή 113,2 χιλιάδες τόνους) το 2020. Αντίθετα, η τιμή θα πρέπει να μειωθεί κατά 3,8%, με σημαντική πτώση των τιμών λόγω των πολυάριθμων ειδικών προσφορών και εκπτώσεων που εφαρμόζουν οι διανομείς και θεωρώντας ότι τα προϊόντα αυτά αποτελούν αναφορά για ιδιωτικές ετικέτες (CCI, 2016).

3.3 Παράγοντες Κινδύνου

Οι κίνδυνοι για τα τρόφιμα μπορούν να θεωρηθούν μικροβιολογικοί, χημικοί ή φυσικοί. Ωστόσο, επειδή η μικροβιολογική ασφάλεια είναι το κύριο ζήτημα ανησυχίας στον κλάδο της παραγωγής φρεσκοκομμένων προϊόντων, θα αποτελέσει το επίκεντρο αυτού του κεφαλαίου. Πολλοί παράγοντες μπορεί να εμπλέκονται στην επιδημιολογία της νόσου που σχετίζεται με την παραγωγή. Οι κίνδυνοι για τα φρεσκοκομμένα μπορούν να χωριστούν σε δύο κατηγορίες. Μία κατηγορία αφορά τους παράγοντες ή τις συνθήκες που μολύνουν τα φρέσκα προϊόντα με αυτόχθονα παθογόνα κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας ή κατά τη συγκομιδή. Αυτές οι συνθήκες περιλαμβάνουν φτωχές αγρονομικές πρακτικές, χρήση μολυσμένου νερού για άρδευση καλλιεργειών ή ανάμειξη χημικών ψεκασμών, χρήση κοπριάς που δεν έχει καταστεί σωστά λιπασματοποιημένη ως λίπασμα και έλλειψη κατάρτισης των εργαζομένων στον τομέα της καλής προσωπικής υγιεινής. Ο κακός υγειονομικός έλεγχος κατά τη διάρκεια των δραστηριοτήτων χειρισμού μετά τη συγκομιδή είναι ένας άλλος μηχανισμός μόλυνσης των φρέσκων προϊόντων από παθογόνα (Hedberg et al., 1994; Tauхе et al., 1997). Ο DeRoever (1999) ανέφερε ότι δύο μεγάλα περιστατικά σαλμονέλλωσης σημειώθηκαν το 1991 και το 1993 λόγω της κατανάλωσης φρέσκιας τομάτας. Οι ύποπτες ντομάτες ήταν επιδημιολογικά συνδεδεμένες με ένα συγκεκριμένο χώρο που συσκευάζονταν. Αν και το ακριβές σημείο μόλυνσης δεν εντοπίστηκε ποτέ, οι πιθανές πηγές περιελάμβαναν μη καθαρούς κουβάδες και φορτηγά που χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά ντομάτας από το χωράφι στο χώρο όπου συσκευάζονται, τη μόλυνση του νερού των δεξαμενών έκπλυσης της ντομάτας, την κακή προσωπική υγιεινή των εργαζομένων ή ακατάλληλα καθαρισμένο εξοπλισμό που συνήθως παρέμενε για μια πλήρη σεζόν χωρίς να αποσυναρμολογείται για καθαρισμό.

Μια δεύτερη κατηγορία μικροβιολογικού κινδύνου είναι η κοπή ή ο τεμαχισμός στη μονάδα φρεσκοκομμένων. Ο εσωτερικός ιστός των φρέσκων προϊόντων προστατεύεται κανονικά από μικροβιολογική εισβολή με κηρώδη εξωτερικά δέρματα και φλούδες. Ωστόσο, η κοπή καταστρέφει αυτό το φυσικό φράγμα, επιτρέποντας στους χυμούς να διαρρέουν από τους εσωτερικούς ιστούς στις επιφάνειες των φρούτων και των λαχανικών. Αυτοί οι χυμοί περιέχουν θρεπτικά συστατικά για την επιτάχυνση της μικροβιολογικής ανάπτυξης. Μαζί με την αύξηση της εκτεθειμένης επιφάνειας, μεγάλοι μικροβιολογικοί πληθυσμοί, συμπεριλαμβανομένων ενδεχομένως υψηλότερων επιπέδων ανθρώπινων παθογόνων, αναπτύσσονται σε τεμαχισμένα προϊόντα (Brackett, 1987; Garg et al., 1990). Οι βασικοί μικροβιολογικοί κίνδυνοι των φρεσκοκομμένων προϊόντων έχουν προσδιοριστεί (Hurst, 1995; Fain, 1996; Zagory & Hurst, 1996) και περιλαμβάνουν τους εξής: δεν υπάρχει στάδιο θανάτωσης (όπως το μαγείρεμα) στη διαδικασία ώστε να εξαλειφθούν πιθανοί ανθρώπινοι παθογόνοι, διάφορα παθογόνα (π.χ., *Listeria monocytogenes* και *Aeromonas hydrophila*) είναι ψυχροτροφικά και μπορούν να αναπτυχθούν σε θερμοκρασίες αποθήκευσης των φρεσκοκομμένων προϊόντων, η μεγαλύτερη διάρκεια ζωής (10-14 ημέρες) που είναι πλέον συνήθης λόγω του καλού ελέγχου της θερμοκρασίας και της βελτιωμένης συσκευασίας μπορεί να παρέχει επαρκή χρόνο για την ανάπτυξη παθογόνων οργανισμών, οι τροποποιημένες ατμόσφαιρες καταστέλλουν την ανάπτυξη οργανισμών αλλοίωσης αλλά ορισμένα παθογόνα (*Listeria monocytogenes*) επιβιώνουν και μπορούν πραγματικά να ευδοκιμήσουν υπό αυτές τις συνθήκες και σε αντίθεση με τα παραδοσιακά επεξεργασμένα (κονσερβοποιημένα και κατεψυγμένα) φρούτα και λαχανικά, τα φρέσκα προϊόντα καταναλώνονται ακατέργαστα (Lamikanra O. , 2002).

3.4 Μικροβιολογία Φρεσκοκομμένων Προϊόντων

Τα φρεσκοκομμένα προϊόντα είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα σε μικροβιακές προσβολές εξαιτίας των αλλαγών που υφίστανται οι ιστοί κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Οι εργασίες επεξεργασίας, όπως κοπή και τεμαχισμός, όχι μόνο δίνουν ευκαιρίες μόλυνσης στους μικροοργανισμούς, αλλά και προκαλούν ζημιά στους ιστούς των φρούτων και των λαχανικών και στην κυτταρική δομή, με αποτέλεσμα τη διαρροή θρεπτικών και κυτταρικών υγρών. Σε αντίθεση με άλλους τύπους επεξεργασίας, όπως η κατάψυξη ή η κονσερβοποίηση, δε γίνεται θερμική επεξεργασία στα προϊόντα για τη μείωση των μικροβιακών πληθυσμών. Τα φρεσκοκομμένα προϊόντα συσκευάζονται επίσης υπό συνθήκες τροποποιημένης ατμόσφαιρας και αποθηκεύονται σε ψυγείο έως και 10-15 ημέρες. Αυτό δημιουργεί κατάλληλο περιβάλλον και χρόνο για τον πολλαπλασιασμό των οργανισμών αλλοίωσης και των μικροοργανισμών που έχουν άμεση σχέση με τη δημόσια υγεία (Ahvenainen, 1996; Francis et al., 1999). Οι μικροοργανισμοί επηρεάζουν την οικονομική αξία των φρεσκοκομμένων προϊόντων, μειώνοντας τη διάρκεια ζωής των προϊόντων μέσω της αλλοίωσης και δημιουργώντας κίνδυνο για τη δημόσια υγεία προκαλώντας τροφιμογενής νόσους (Doyle, 1990; Lund, 1992; Brackett, 1994; Nguyen-The & Carlin, 1994; 2000). Έχει γίνει γνωστό εδώ και περισσότερο από έναν αιώνα ότι τα ακατέργαστα φρούτα και τα λαχανικά μπορούν να λειτουργήσουν ως μέσα μεταφοράς για την εμφάνιση κρουσμάτων ανθρώπινων ασθενειών. Ωστόσο, μέχρι πρόσφατα, υπήρξε ελάχιστο ενδιαφέρον για την τεκμηρίωση των ενδείξεων της επίπτωσης των τροφιμογενών παθογόνων οργανισμών σε

φρέσκα προϊόντα. Επιπλέον, σπάνια καταγράφονται εστίες τροφιμογενών νόσων που συνδέονται με φρούτα και λαχανικά (Beuchat L. , 1998). Ακολούθως, η οικολογική ανάπτυξη και η δραστηριότητα των μικροοργανισμών στην παραγωγή και, ειδικότερα, στα φρεσκοκομμένα προϊόντα εξακολουθεί να μην έχει κατανοηθεί καλά. Η τρέχουσα γνώση περιορίζεται κυρίως σε ποιοτικές περιγραφές των μικροβιακών ειδών που απομονώθηκαν κατά τη στιγμή της αλλοίωσης ή μετά από ξέσπασμα τροφικής νόσου (Tauke, et al., 1997) (Heard, 1999). Επίσης λείπει η κατανόησή μας για τους παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή μόλυνση και τον αποικισμό φρέσκων προϊόντων και επεξεργασμένων φρεσκοκομμένων προϊόντων, τις μικροβιακές αλληλεπιδράσεις σε αυτά τα προϊόντα και τις βιοχημικές αλλαγές που συμβαίνουν. Τι αυξάνουν οι μικροοργανισμοί και ποιοί μεταβολίτες παράγονται και πώς οι μεταβολίτες αυτοί συμβάλλουν στη διαδικασία αλλοίωσης; Η ανάπτυξη βακτηρίων αλλοίωσης, όπως οι ψευδομονάδες και τα βακτηρίδια γαλακτικού οξέος επηρεάζουν την ανάπτυξη παθογόνων ειδών; Υπάρχουν φυσικοί μηχανισμοί βιολογικού ελέγχου που μπορούν να βοηθήσουν στον έλεγχο της μικροχλωρίδας; Αυτές οι πληροφορίες, καθώς και η γνώση των παραγόντων που επηρεάζουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε ελάχιστα μεταποιημένα φρούτα και λαχανικά, είναι απαραίτητες για να ελέγξουμε την ποιότητα και την ασφάλεια των φρεσκοκομμένων προϊόντων.

Συνολική Μικροχλωρίδα

Τα φρούτα και τα λαχανικά μολύνονται με μικροοργανισμούς, ενώ βρίσκονται στο εργοστάσιο, στον αγρό, κατά τη συγκομιδή και τη μεταφορά στην αγορά και κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και της συσκευασίας. Οι μικροοργανισμοί μπορεί να υπάρχουν ως τυχόν μολυσματικοί παράγοντες ή μπορεί να διαθέτουν χαρακτηριστικά που επιτρέπουν τον αποικισμό του φυτού. Μπορεί να προκαλέσουν αλλοίωση ή μπορεί να προσβάλουν τη δημόσια υγεία. Ως εκ τούτου, η μικροχλωρίδα που σχετίζεται με φρεσκοκομμένα προϊόντα ποικίλλει. Μεγάλο μέρος της βιβλιογραφίας που αναφέρει την εμφάνιση μικροοργανισμών σε αυτά τα προϊόντα δυστυχώς επικεντρώνεται μόνο στους συνολικούς βακτηριακούς πληθυσμούς και τις μικροβιακές ομάδες, όπως κολοβακτηρίδια, κολοβακτηρίδια κοπράνων, πηκτινολυτικά είδη και μύκητες. Παρόλο που γνωρίζουμε ποιά παθογόνα μπορούν να εμφανιστούν σε φρεσκοκομμένα προϊόντα, αντί να γίνεται άμεση παρακολούθηση του πληθυσμού των παθογόνων, τα κολοβακτηρίδια χρησιμοποιούνται συχνά ως δείκτες μόλυνσης από παθογόνα. Δυστυχώς, πολλά μη παθογόνα βακτηριακά είδη που υπάρχουν κανονικά στην επιφάνεια των φρέσκων προϊόντων, όπως τα είδη του Enterobacter, θα δώσουν θετικά αποτελέσματα στην ανίχνευση κολοβακτηριδίων. Σήμερα αναγνωρίζεται ολοένα και περισσότερο ότι οι κολοβακτηριδιακοί πληθυσμοί ακατέργαστων και φρέσκων λαχανικών δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται για να δείξουν τη μόλυνση από παθογόνους (Beuchat, 1998; Nguyen-The & Carlin, 2000). Ωστόσο, τα τεστ για ολικό πληθυσμό και κολοβακτηρίδια είναι απλά και χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανία παραγωγής φρεσκοκομμένων προϊόντων ως δείκτες υγιεινής και ποιότητας. Για το λόγο αυτό, τα δεδομένα αυτά συνοψίζονται για ένα ευρύ φάσμα φρεσκοκομμένων προϊόντων και παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.1. Οι αριθμοί μεσοφιλικών οργανισμών που βρέθηκαν στα φρεσκοκομμένα λαχανικά σαλάτας κατά τη στιγμή της μεταποίησης είναι παρόμοιοι με τους αριθμούς που υπάρχουν στα μη μεταποιημένα προϊόντα. Οι μικροβιακοί πληθυσμοί

κυμαίνονται από 10^1 - 10^9 cfu/g και ποικίλλουν ανάλογα με τον τύπο των φρούτων και των λαχανικών (Πίνακας 3.1). Περίπου το 80 - 90% αυτών των οργανισμών αναφέρεται ότι είναι αρνητικοί κατά Gram και είναι κατά κύριο λόγο ψευδομονάδες. Περίπου 10-60% αυτών των οργανισμών είναι φθορίζουσες, πηκτινολυτικές ψευδομονάδες, που κυμαίνονται από 10 - 20% σε τεμαχισμένο μαρούλι σε 20 - 60% στα καρότα (Nguyen-The & Carlin, 1994; 2000; Carlin et al., 1989; Nguyen-The & Prunier, 1989; Magnuson et al., 1990; Bennick et al., 1998; Jayasekara, 1999). Οι φθορίζουσες ψευδομονάδες είναι η κυρίαρχη ομάδα που απομονώνεται από το αντίδι (Jacques & Morris, 1995), το σπανάκι, το κουνουπίδι και τα καρότα (Garg et al., 1990). Μια πρόσφατη μελέτη της μικροχλωρίδας του κичωρίου και των βλαστών βοσκής (Bennick et al., 1998) ανέφερε επίσης υπεροχή από τις ψευδομονάδες. Τα εντεροβακτηρίδια είναι επίσης παρόντα στα ελάχιστα μεταποιημένα λαχανικά, ωστόσο η παρουσία τους συχνά συνοψίζεται ως αριθμοί κολοβακτηριοειδών ή κολοβακτηριοειδών από κόπρανα (Nguyen-The & Carlin, 1994; Bennick et al., 1998). Άλλες μικροβιακές ομάδες που αναφέρθηκαν σε φρέσκα λαχανικά είναι η μαγιά και οι μύκητες (Πίνακας 3.1). Για παράδειγμα, οι μύκητες βρίσκονται σε πληθυσμούς που κυμαίνονται από 10^2 cfu/g σε μαρούλι σε 10^8 cfu/g σε τεμαχισμένα λαχανικά και τεμαχισμένα καρότα. Στις σαλάτες με μαγιονέζα, έχουν βρεθεί πληθυσμοί ζυμομυκήτων μέχρι και 10^6 , καθώς το χαμηλό pH ευνοεί την ανάπτυξη ζυμομυκήτων έναντι άλλων μικροοργανισμών (Christiansen & King, 1971; Fowler & Clark Jr., 1975; Brocklehurst et al., 1983; Brocklehurst & Lund, 1994; Lindroth et al., 1985; Hunter et al., 1994).

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια υπάρχουν σε συγκεκριμένα φρεσκοκομμένα λαχανικά και έχει βρεθεί ότι εμφανίζονται σε πληθυσμούς που κυμαίνονται από 10^2 cfu/g σε τεμαχισμένο ραδίκι έως 10^6 cfu/g σε μικτά λαχανικά (Manzano et al., 1995). Υπάρχουν λίγες αναφορές για την κυρίαρχη μικροχλωρίδα σε φρεσκοκομμένα φρούτα. Αντίθετα με τα ολόκληρα φρούτα, η ανάπτυξη μυκήτων σε φρεσκοκομμένα προϊόντα δεν φαίνεται να αποτελεί μείζον πρόβλημα και μπορεί να υποτεθεί ότι η υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία των έτοιμων προς κατανάλωση προϊόντων από φρούτα μπορεί να ευνοεί τη γρηγορότερη ανάπτυξη των βακτηριδίων και της μαγιάς. Οι πληθυσμοί ζυμομυκητών βρέθηκαν ότι είναι 10^3 - 10^4 για μεταποιημένα φρούτα (Nguyen-The & Carlin, 1994) και έχουν βρεθεί ότι οι συνολικοί πληθυσμοί βακτηρίων είναι 10^6 cfu/g για το πεπόνι (Sapers & Simmons, 1998). Απαιτούνται λεπτομερέστερες έρευνες σχετικά με την εμφάνιση μικροοργανισμών στα μεταποιημένα προϊόντα φρούτων.

Πίνακας 3.1. Συνολικοί μικροβιακοί πληθυσμοί και οι κυρίαρχες μικροβιακές ομάδες που εμφανίζονται σε φρεσκοκομμένα φρούτα και λαχανικά

Μικροβιακός Πληθυσμός (Log cfu g ⁻¹)				
Φρεσκοκομμένα Προϊόντα	Ολικός Πληθυσμός	Κολοβακτηριοειδή	Γαλακτικά Βακτήρια	Ζύμες & Μύκητες
Μπρόκολο Μπουκέτα	6.5	5.9	-	5.2
	4.7	2.2	-	3.3
	4.7	2.1	-	3.25
Πεπόνι	6.11	-	-	-
Ελάχιστα επεξεργασμένο πεπόνι	1.05	-	ND	-
Κομμένα Καρότα	4.4	-	-	-
Καρότα ραβδιά	4.99-5.77	-	ND-3.1	ND-4.25
	4.98	2.84	ND	-
	5.13	-	-	-
Ψιλοκομμένα καρότα	2.9	-	1.1	-
	6.00	-	4.00	<2.00
	4.88	-	3.52	3.15
	2.84-3.85	1.54-2.3	1.65-2.69	2.00-2.12
Ελάχιστα επεξεργασμένο πλατύφυλλο αντίδι	3.83-4.82	-	-	-
Κομμένο αντίδι	4.00	-	-	-
Αντίδι (Ψιλοκομμένο)	5.2	-	2.63	3.00
Λαχανοσαλάτα	<4.00->8.00	<2.00->6.00	-	-
Λάχανο	4.07-7.08	-	ND-2.4	ND-2.2
Μικτή λαχανοσαλάτα	5.14	-	-	-
Λαχανοσαλάτα (στεγνή)	7.32-7.84	-	-	-
Κομμένο σέλινο	5.7	-	-	-
Κομμένο μαρούλι	5.3	-	-	-
Έτοιμο μαρούλι για επιχειρήσεις εστίασης	5.6	3.9	-	-
Μαρούλι	5.41	-	ND	ND
	6.39-7.69	4.14-5.29	-	-
Επεξεργασμένο μαρούλι	2.5-6.2	-	-	-
Ψιλοκομμένο μαρούλι	4.28	-	<1	2.07
Μαρουλοσαλάτα	7.23-7.61	-	-	-
Ψιλοκομμένες πιπεριές	3.5	-	-	-
Φρεσκοκομμένα μανιτάρια	8.3	-	-	-
Πατάτα σε λωρίδες	2.00	-	-	-
Πατάτα σε φέτες	2.01-2.6	<0.7	<0.7	-
Τεμαχισμένη πατάτα	5.00	-	-	-
Πατατοσαλάτα	5.41-4.98	-	-	-

Ιαπωνικό ραπανάκι	3.9	-	-	-
Κομμένα φύλλα σπανακιού	4.00	-	-	-
Μικτά Προϊόντα				
Σαλάτα με λαχανικά και κοτόπουλο	5.8	3.27	-	4.00
Πράσινη σαλάτα	<4.00–7.00	<2.00–>6.00	-	-
Σαλάτα λαχανικών και ζαμπόν	6.17	2.47	-	3.08
Μικτή πράσινη σαλάτα	<4.00–8.00	<2.00–6.00	-	-
Μικτή σαλάτα λαχανικών	5.00	4.00	3.00	-
Μικτά λαχανικά	8.00		5.5–6.3	4–4.2
Μικτή σαλάτα σε κουζίνες σχολείων	1.84–2.99	0.7–1.90	-	-
Συσκευασμένη σαλάτα κύπου (μαρούλι άισμπεργκ, καρότο, κόκκινο λάχανο)	5.3–8.9	-	-	0.9–3.85 yeasts <0.3–2.2 molds
Προσυσκευασμένη έτοιμη για κατανάλωση σαλάτα	5.5–8.3	-	-	<3–6.75
Νωπά λαχανικά	5.7	2.3	-	-
Έτοιμη προς κατανάλωση μικτή σαλάτα	7.18	6.60	5.3	-
Μικτή σαλάτα	5.3	-	-	-
Σαλάτα λαχανικών	4-7	-	-	-

Απολυμαντικά Μέσα

Το πλύσιμο φρούτων και λαχανικών σε καθαρό νερό μπορεί να απομακρύνει οργανισμούς από την επιφάνεια τους και η προσθήκη απολυμαντικών (χρήση χλωρίου, επιφανειοδραστικών ουσιών ή οξέων, όπως το υπεροξυοξικό οξύ) μπορεί να επιτύχει πρόσθετες μειώσεις 1 - 2 log (Cherry, 1999). Ο Beuchat (1998), εξέτασε τις διαδικασίες για την επιφανειακή απολύμανση των φρούτων και των λαχανικών. Παρά την έλλειψη εκτεταμένων επιστημονικών δεδομένων, ο Beuchat (1998) διατύπωσε ορισμένα συμπεράσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα των πλύσεων των φρούτων και των λαχανικών και, ειδικότερα, τη χρήση απολυμαντικών. Η αποτελεσματικότητα ποικίλλει ανάλογα με τα ακόλουθα:

1. Ο τύπος και το pH των απολυμαντικών - τα απολυμαντικά πρέπει να χρησιμοποιούνται εντός της περιοχής pH στην οποία είναι πιο δραστικά. Για παράδειγμα, το χλώριο είναι πιο αποτελεσματικό σε ελαφρώς όξινο pH, όπου το κυρίαρχο και αποτελεσματικότερο είδος είναι το υποχλωριώδες οξύ.
2. Ο χρόνος και ο τύπος των επαφών - τα απολυμαντικά, όπως το χλώριο είναι πιο αποτελεσματικά μέσα στα πρώτα δευτερόλεπτα της πλύσης.

3. Θερμοκρασία νερού - η θερμοκρασία του νερού πλύσης πρέπει να είναι υψηλότερη από εκείνη του προϊόντος για να αποφευχθεί η πρόσληψη μικροβιακών κυττάρων από τον ιστό.

4. Οι ιδιότητες των προϊόντων – διαφορετικές επιφανειακές δομές μπορούν να επηρεάσουν τις αλληλεπιδράσεις με τα απολυμαντικά.

5. Οι ιδιότητες των μικροοργανισμών - οι τύποι των κυττάρων επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα των απολυμαντικών. Η αντίσταση των παθογόνων στο χλώριο ποικίλλει και δεν είναι γνωστό το πόσο αποτελεσματικά είναι τα απολυμαντικά στη θανάτωση των παρασίτων και των ιών στα φρούτα και τα λαχανικά.

6. Το επίπεδο της μόλυνσης - αρκετά μολυσμένα προϊόντα πρέπει να πλυθούν δύο φορές, πρώτα για να αφαιρεθεί το βαρύ χώμα και δεύτερο για να απολυμανθούν.

Τα προϊόντα θα πρέπει επίσης να αποξηραθούν μετά την επεξεργασία για να αποφευχθεί η ανάπτυξη των εναπομενόντων οργανισμών. Ο Beuchat (1998), πρότεινε επίσης ότι τα οργανικά οξέα, όπως το υπεροξυοξικό οξύ και η επεξεργασία με την οξονοποίηση αποδείχτηκαν καλά απολυμαντικά μέσα, αλλά οι συνθήκες χρήσης τους απαιτούν περισσότερη έρευνα.

Υγιεινή

Όλοι οι χειριστές των προϊόντων στο περιβάλλον επεξεργασίας τους πρέπει να εξασφαλίζουν το υψηλότερο επίπεδο υγιεινής. Ο καθαρισμός και η εξυγίανση του εξοπλισμού και των επιφανειών επεξεργασίας είναι επίσης εξαιρετικά σημαντικό για την πρόληψη της συσσώρευσης οργανικών καταλοίπων που θα μπορούσαν να ενθαρρύνουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών και τον σχηματισμό μικροκολονιών ή βιοφίλμ (Brackett, 1989; Carmichael, 1999). Άλλες μέθοδοι, συμπεριλαμβανομένου του πλυσίματος, μπορούν να συμβάλλουν στην ανάπτυξη αλλοιωτικών μικροοργανισμών στα μεταποιημένα λαχανικών, ειδικά όπου χρησιμοποιείται ανακυκλωμένο νερό. Επίσης, και η συσσώρευση οργανικών υπολειμμάτων στο νερό μπορεί να οδηγήσει στην ανάπτυξη μικροοργανισμών αλλοίωσης, αυξάνοντας τις πιθανότητες μόλυνσης (Brackett, 1992).

Το πλύσιμο φρούτων και λαχανικών με νερό επιτυγχάνει μικρή (1 log) μείωση των μικροβιακών αριθμών (Nguyen-The & Carlin, 1994). Το χλωριωμένο νερό (100 - 200 mg/L) χρησιμοποιείται ευρέως για το πλύσιμο και την απολύμανση των ελάχιστα μεταποιημένων φρούτων και λαχανικών (Ahvenainen, 1996), αν και η επίδραση του χλωρίου στους μικροοργανισμούς που βρίσκονται στις επιφάνειες είναι περιορισμένη. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η αποτελεσματικότητα της απολύμανσης ποικίλλει ανάλογα με τη συγκέντρωση του απολυμαντικού που χρησιμοποιείται, το χρόνο που απαιτείται για την επεξεργασία των λαχανικών και τη θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και το επίπεδο μόλυνσης του προϊόντος με οργανική ύλη και μικροβιακά κύτταρα. Ο Πίνακας 3.2 συνοψίζει μια σειρά αναφορών για τα κοινώς χρησιμοποιούμενα απολυμαντικά και την αποτελεσματικότητά τους όσον αφορά τη μείωση των πληθυσμών μικροοργανισμών στα μεταποιημένα φρούτα και λαχανικά. Οι περισσότεροι εργαζόμενοι έχουν συγκεντρώσει τις ερευνητικές τους προσπάθειες στη μείωση των συνολικών μικροβιακών πληθυσμών και του

L. monocytogenes στις σαλάτες. Είναι εφικτό να επιτευχθεί μείωση 3 log σε συνολικό μικροβιακό πληθυσμό στο μαρούλι με χρήση υποχλωριώδους νατρίου 300 mg/L (Garg et al., 1990), αν και εμπορικά, οι συγκεντρώσεις χλωρίου είναι γενικά χαμηλότερες (100 - 200 ppm). Σε αυτές τις συγκεντρώσεις, θα αναμενόταν μείωση του συνολικού μικροβιακού πληθυσμού αερόβιων κατά 1 - 2 λογαρίθμους σε επεξεργασμένο μαρούλι και ελιά (Adams et al., 1989; Beuchat & Brackett, 1990). Η επίδραση του χλωρίου σε διάφορους παθογόνους μικροοργανισμούς έχει ερευνηθεί μόνο σε περιορισμένο φάσμα μεταποιημένων προϊόντων. Οι Zhang & Farber (1996), διαπίστωσαν μείωση σε *L. monocytogenes* σε τεμαχισμένα μαρούλια και λάχανα μετά από κατεργασία με χλώριο συγκέντρωσης 200 ppm για 10 λεπτά. Επιτεύχθηκαν μειώσεις 1,3 - 1,7 log₁₀ cfu/g σε μαρούλι και 0,9 - 1,2 log₁₀ cfu/g σε λάχανο. Ο Beuchat (1998), μέτρησε τη μείωση του *E.coli* O157: H7, της *Salmonella* και της *L. monocytogenes* σε ολόκληρο και κομμένο μαρούλι στο οποίο έγινε ψεκασμός και έκπλυση με διαλύματα χλωρίου 200 ppm. Σε σύγκριση με δείγματα control που πλύθηκαν με νερό, παρατηρήθηκε μείωση μόνο 1 log cfu/g με κατεργασία με χλώριο. Απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση της επίδρασης των απολυμαντικών στα παθογόνα είδη σε ένα ευρύτερο φάσμα προϊόντων. Η πρόσφατη διαμάχη για την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα του χλωρίου (Sapers and Simmons, 1998) ενθάρρυνε το ενδιαφέρον για εναλλακτικά απολυμαντικά, όπως το υπεροξυοξικό οξύ, το διοξειδίο του χλωρίου, το όζον, το φωσφορικό τρινάτριο και το υπεροξείδιο του υδρογόνου (Beuchat 1998; Sapers and Simmons 1998). Απαιτούνται λεπτομερείς μελέτες για τον προσδιορισμό της αποτελεσματικότητας αυτών των ενώσεων για τη μείωση του αρχικού φορτίου των προϊόντων και επίσης για τον προσδιορισμό του ρόλου τους στην επέκταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος.

Πίνακας 3.2. Αποτελεσματικότητα κοινών απολυμαντικών επεξεργασιών μικροβιακών πληθυσμών σε φρεσκοκομμένα φρούτα και λαχανικά

Απολυμαντικό	Προϊόν	Επίδραση στο Μικροβιακό Πληθυσμό
Χλώριο (300 mg/L) pH 9.4	Φύλλα Μαρουλιού	0.7% μείωση του αρχικού πληθυσμού (περίπου 10 ⁷ cfu/g)
Χλώριο (100 mg/L) pH 5 <ul style="list-style-type: none"> • Θεϊκό οξύ • Οξικό οξύ • Κιτρικό οξύ • Γαλακτικό οξύ • Προπιονικό οξύ 	Φύλλα Μαρουλιού	6.22 log μείωση 5.83 log μείωση 5.58 log μείωση 5.77 log μείωση 5.6 log μείωση 5.6 log μείωση
Χλώριο (210–289 μg/mL)	Τεμαχισμένες Ντομάτες	Δεν υπάρχει μείωση του <i>L. monocytogenes</i> ή του αριθμού των αερόβιων σε σύγκριση με το μη επεξεργασμένο προϊόν
		1.79 log μείωση στους πληθυσμούς <i>Salmonella</i> (συγκριτικά με το μη επεξεργασμένο)

Χλώριο 200 ppm (10 min)	Μαρούλι	2.48 log μείωση στους πληθυσμούς <i>E. coli</i> O157:H7 (συγκριτικά με το μη επεξεργασμένο) 0.33 log μείωση στους πληθυσμούς μεσοφιλικών αερόβιων μικροοργανισμών (συγκριτικά με το μη επεξεργασμένο)
Έκπλυση με Cl ₂ (άγνωστη συσγκέντρωση)	Πεπόνι (φρεσκοκομμένο)	Περίπου 0.12 log μείωση των πληθυσμών φθορίζοντων ψευδομονάδων
Έκπλυση με Cl ₂ (άγνωστη συσγκέντρωση)	Κολοκύθι (φρεσκοκομμένο)	Περίπου 1.5 log μείωση των πληθυσμών φθορίζοντων ψευδομονάδων
Έκπλυση με Χλώριο (100 μg/mL) • θερμή έκπλυση στους 47°C • ψυχρή έκπλυση στους 4°C	Ψιλοκομμένο μαρούλι	3 log μείωση μετά από θερμή έκπλυση 1 log μείωση μετά από ψυχρή έκπλυση
Διοξείδιο χλωρίου (5 mg/L, 10 min, 40°C, pH 7.4)	Ψιλοκομμένο μαρούλι	1.1 log μείωση του <i>L. monocytogenes</i>
Διχλωροϊσοκυανουρικό (που ισοδυναμεί με 40-320 ppm χλωρίου)	Λαχανικά	1.69–2.42 log μείωση συγκριτικά με έκπλυση μόνο με νερό
Ηλεκτρολυμένο νερό (20 ppm διαθέσιμου χλωρίου)	Φρεσκοκομμένα Λαχανικά • καρότο • σπανάκι • πιπεριά • Ιαπωνικό ραπανάκι	Log μείωση (συγκριτικά με το ανεπεξέργαστο) 0.3 1.8 0.4 0.2 0.4
H ₂ O ₂	Πεπόνι (φρεσκοκομμένο)	Περίπου 0.68 log μείωση των πληθυσμών φθορίζοντων ψευδομονάδων
H ₂ O ₂	Μανιτάρια (φρεσκοκομμένα)	Περίπου 1 log μείωση των πληθυσμών φθορίζοντων ψευδομονάδων
H ₂ O ₂	Κολοκύθι (φρεσκοκομμένο)	Περίπου 1 log μείωση των πληθυσμών φθορίζοντων ψευδομονάδων
H ₂ O ₂ (5%)	Φρεσκοκομμένα φρούτα και λαχανικά	3 log μείωση

Ισοθειοκυανικό 400 µL ισοθειοκυανικού αλλυλεστέρα (2-4 ημέρες επεξεργασίας)	Μαρούλι Άισμπεργκ	Μέχρι 8 log μείωση του <i>E. coli</i> O157:H7
Όζον (1.3 mM όζον, εγχυθέν σε 1,5 L/min επί 3 λεπτά)	Ψιλοκομμένο μαρούλι	2 log μείωση στον ολικό μικροβιακό πληθυσμό
Υπεροξοξικό οξύ (200 ppm)	Φρεσκοκομμένα φρούτα και λαχανικά	2 log μείωση

Μικροβιολογική αλλοίωση των Φρεσκοκομμένων Προϊόντων

Επίπτωση της μικροβιακής ανάπτυξης στην ποιότητα και τη διάρκεια ζωής των έτοιμων προς κατανάλωση σαλατών

Συμπτώματα αλλοίωσης εμφανίζονται καθώς οι μικροβιακοί αριθμοί αυξάνονται και ως αποτέλεσμα μειώνεται η ποιότητα και η διάρκεια ζωής του τροφίμου. Ωστόσο, ο βαθμός αλλοίωσης δεν συσχετίζεται πάντοτε με τους μεγάλους συνολικούς πληθυσμούς (Nguyen-The & Carlin, 2000). Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες, οι τύποι φρούτων ή λαχανικών και οι τύποι οργανισμών που υπάρχουν, καθορίζουν τον τύπο της αλλοίωσης και το πόσο γρήγορα επιδεινώνεται η ποιότητα του προϊόντος. Για παράδειγμα, οι πηκτινολυτικές ψευδομονάδες που υπάρχουν στα φύλλα του κичωρίου, προκαλούν αλλοίωση (Nguyen-The & Prunier, 1989). Ωστόσο, τα καρότα που φυλάσσονται στους 10 °C και μολύνονται με ίσους αριθμούς ψευδομονάδων και οξυγαλακτικών βακτηρίων παρουσιάζουν συμπτώματα αλλοίωσης λόγω των οξυγαλακτικών βακτηρίων μόνο (Carlin et al., 1989). Σε αντίθεση με τα ολόκληρα λαχανικά, τα φρεσκοκομμένα δεν αλλοιώνονται από τα βακτήρια *Erwinia*, που σημαίνει ότι είτε το περιβάλλον δεν ενθαρρύνει την ανάπτυξή τους είτε ότι υπάρχουν άλλα βακτήρια κυρίαρχα (Nguyen-The & Carlin, 2000). Παρά τις παρατηρήσεις αυτές, οι περισσότεροι βασίζουν τις προβλέψεις για τη διάρκεια ζωής στο συνολικό μικροβιακό αριθμό και την παρατήρηση των σχετικών ελαττωμάτων αλλοίωσης, καθώς και στην έκταση της ενζυματικής αποικοδόμησης των ιστών.

Χαρακτηριστικά αλλοίωσης

Η αλλοίωση των φρέσκων λαχανικών από βακτήρια χαρακτηρίζεται από μαύρισμα (καφέ αποχρωματισμός), παραγωγή οσμών, απώλεια υφής και σε μικρότερο βαθμό ήπια σήψη. Τα προϊόντα φρούτων υφίστανται ζύμωση από οξυγαλακτικά βακτήρια ή ζυμομύκητες, με αποτέλεσμα την παραγωγή οξέων, αλκοόλης και CO₂, αν και οι ψευδομονάδες μπορούν να αλλοιώσουν λιγότερο όξινα φρούτα, όπως το πεπόνι. Η δραστικότητα της λιπάσης και η χρήση των αμινοξέων μπορεί να μεταβάλει τη γεύση των φρούτων, με αποτέλεσμα την απώλεια ποιότητας. Οι κύριοι τύποι αλλοίωσης που είναι υπεύθυνοι για υποβάθμιση της ποιότητας και οι μηχανισμοί αλλοίωσης συνοψίζονται ως εξής:

1. Ήπια σήψη - διάσπαση του φυτικού ιστού που προκαλείται από την ενζυματική αποικοδόμηση του κυτταρικού τοιχώματος από πηκτινολυτικά ένζυμα (Liao & Wells, 1987).
2. Ο σχηματισμός διάφορων οσμών και γεύσεων - δραστικότητα των λιπολυτικών και πρωτεολυτικών ενζύμων και αντιδράσεις ζύμωσης (Kato et al., 1989; Wyllie & Leach, 1992; Zhuang et al., 1994; Lamikanra et al., 2000).

3. Μαρασμός - προκαλείται από αγγειακές λοιμώξεις (Schroth et al., 1992).
4. Ενζυμικό μαύρισμα- δράση της πολυφαινολικής οξειδάσης (Padaga, 1999).
5. Ζυμωτική Αλλοίωση - ζύμωση υδατανθράκων για την παραγωγή οξέος, αερίου ή αλκοόλης.

Εμφάνιση μικροοργανισμών αλλοίωσης στα φρεσκοκομμένα προϊόντα

Η αλλοίωση των φρεσκοκομμένων προϊόντων εμφανίζεται αφότου συσκευαστούν και παρόλο που αυτό μπορεί να οφείλεται στη φυσική, φυσιολογική απόκριση του φυτικού ιστού, οι μικροοργανισμοί συμβάλλουν σημαντικά στην εμφάνιση αλλοίωσης και στη μείωση της διάρκειας ζωής του προϊόντος (Lund, 1971; 1992, Nguyen-The and Carlin, 1994, (Brackett, 1997; Heard, 1999). Για να μπορέσουμε να προβλέψουμε πότε και πού θα συμβεί η αλλοίωση, πρέπει να γνωρίζουμε ποιοι οργανισμοί είναι παρόντες και ποιοι οργανισμοί είναι υπεύθυνοι για την έναρξη της αλλοίωσης. Και, πρέπει να καταλάβουμε κάποια από τα χαρακτηριστικά των οργανισμών. Ο Πίνακας 3.3 συνοψίζει τους κυρίαρχους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στα φρεσκοκομμένα προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των σαλατών που περιέχουν μαγιονέζα και μπορεί να περιέχουν άλλα συστατικά όπως τυρί, θαλασσινά ή κρέας. Αν και δεν θεωρούνται αυστηρά ως φρεσκοκομμένα, πρόκειται για ένα συνηθισμένο τρόπο συσκευασίας των σαλατών και θα πρέπει να ληφθούν υπόψη οι μικροβιολογικές συνέπειες της προσθήκης τέτοιων συστατικών. Οι ψευδομονάδες είναι οι πιο συνηθισμένοι οργανισμοί που βρίσκονται σε σαλάτες φρεσκοκομμένων λαχανικών. Τα βιοσώματα του *Pseudomonas fluorescens* είναι γενικά τα κύρια είδη (Denis & Pioche, 1986; Marchetti et al., 1992) έχουν εντοπιστεί σε μικτές σαλάτες καθώς και σε σαλάτες με μαρούλι σε πληθυσμούς μέχρι και 10^7 cfu/g (Denis & Picoche, 1986, (Geiges et al., 1990). Οι Marchetti et al. (1992) διαπίστωσαν ότι το *P. Fluorescens* εμφανιζόταν σε υψηλότερη συχνότητα από όλα τα άλλα βακτηρίδια που υπάρχουν στα μαρούλια και στις μικτές σαλάτες. Άλλα είδη που απαντώνται συχνά στα φυλλώδη λαχανικά είναι τα *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas chloraphis*, *Pseudomonas corrugata*, *Pseudomonas ceracia*, *Pseudomonas raucimobillis*, *Pseudomonas marginalis* (*P. Fluorescens* βιοτύπου II) και *Pseudomonas viridflava* (Πίνακας 3.3).

Πίνακας 3.3. Κύριαρχη μικροχλωρίδα αλλοίωσης στις σαλάτες

Οργανισμοί Αλλοίωσης	Σαλάτα
Ψευδομονάδες	
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Καρότα, μαρούλι, μικτή σαλάτα, ραδίκι, πατατοσαλάτα, λαχανοσαλάτα, ταμπούλι
<i>Pseudomonas fragi</i>	Πατατοσαλάτα, λαχανοσαλάτα, ταμπούλι
<i>Pseudomonas putida</i>	Καρότα, μαρούλι, μικτή σαλάτα, λάχανα αλφάλφα, πατατοσαλάτα
<i>Pseudomonas marginalis</i>	Καρότα, μαρούλι, μικτή σαλάτα, φύλλο κичωρίου, πατατοσαλάτα
<i>Pseudomonas ceracia</i>	Καρότα, μικτές σαλάτες, ραδίκι
<i>Pseudomonas chicorii</i>	Ραδίκι

<i>Pseudomonas fulva</i>	Ραδίκι
<i>Pseudomonas paucimobilis</i>	Καρότα, μικτές σαλάτες, ραδίκι
<i>Methylobacterium mesophilica</i>	Καρότα, μικτές σαλάτες, ραδίκι
<i>Pseudomonas viridiflava</i>	Καρότα, μαρούλι, μικτές σαλάτες
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Καρότα, μαρούλι, μικτή σαλάτα, πατατοσαλάτα, λαχανοσαλάτα
<i>Pseudomonas chloroaphis</i>	Έτοιμη σαλάτα
<i>Pseudomonas corrugata</i>	Ραδίκι, λαχανάκια, πατατοσαλάτα, λαχανοσαλάτα, ταμπούλι
<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	Ταμπούλι
Άλλα Βακτήρια	
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Πατατοσαλάτα
<i>Acinetobacter</i> spp.	Ταμπούλι
Coryneform bacteria	Καρότα, μαρούλι, μικτή σαλάτα
<i>Flavobacterium</i> sp.	Καρότα, μαρούλι, μικτή σαλάτα
<i>Enterobacter agglomerans</i>	Μικτή σαλάτα, φύλλο κιχωρίου, φύλλα σαλάτας, έτοιμη σαλάτα, λαχανοσαλάτα, ταμπούλι
<i>Enterobacter amnigenus</i>	Ταμπούλι
<i>Enterobacter gervoiiae</i>	Λαχανοσαλάτα
<i>Erwinia carotovora</i>	Μικτή σαλάτα
Enterobacteriaceae	Ραδίκι, λαχανάκια
<i>Klebsiella terrigena</i>	Λαχανοσαλάτα
<i>Lactobacillus</i> spp.	Καρότα, μαρούλι, μικτή σαλάτα
<i>Leuconostoc</i> spp.	Καρότα, μαρούλι, μικτή σαλάτα, πατατοσαλάτα, λαχανοσαλάτα, ταμπούλι
<i>Rahnella aquatilis</i>	Πατατοσαλάτα, λαχανοσαλάτα
<i>Serratia marcescens</i>	Ταμπούλι
<i>Yersinia intermediata</i>	Πατατοσαλάτα
Ζύμες	
<i>Candida</i> spp.	Μικτή σαλάτα, σαλάτες με μαγιονέζα, καρότα
<i>Cryptococcus albidus</i>	Μαρούλι
<i>Cryptococcus laurentii</i>	Μαρούλι, καρότα, μικτή σαλάτα, ραδίκι
<i>Debaryomyces hansenii</i>	Μικτή σαλάτα, σαλάτες με μαγιονέζα
<i>Pichia fermentans</i>	Μαρούλι, μικτή σαλάτα
<i>Pichia membranifaciens</i>	Σαλάτες με μαγιονέζα

<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Μικτή σαλάτα, σαλάτες με μαγιονέζα
<i>Saccharomyces dairensis</i>	Σαλάτες με μαγιονέζα
<i>Saccharomyces exiguus</i>	Σαλάτες με μαγιονέζα
<i>Torulaspora delbrueckii</i>	Μικτή σαλάτα, σαλάτες με μαγιονέζα
<i>Trichosporon cutaneum</i>	Μαρούλι
<i>Yarrowia lipolytica</i>	Σαλάτες με μαγιονέζα
<i>Zygosaccharomyces bailii</i>	Σαλάτες με μαγιονέζα
Μύκητες	
<i>Aspergillus niger</i>	Μαρούλι, σαλάτες με μαγιονέζα
<i>Botrytis allii</i>	Μαρούλι
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Σαλάτες με μαγιονέζα

Τα είδη που εμφανίζονται πιο συχνά περιελάμβαναν τους μικροοργανισμούς *Ps. fluorescens*, *Ps. corrugata*, *Ps. putida* και *Ps. marginalinalis*. Άλλοι συχνοί μικροοργανισμοί περιελάμβαναν είδη από τα *Enterobacteriaceae* και βακτηρίδια γαλακτικού οξέος. Τα βακτήρια *Coryneform* και τα είδη *Lactobacillus* και *Leuconostoc* συνήθως βρίσκονται σε ολόκληρα λαχανικά και μπορούν να συμβάλλουν στην αλλοίωση των μεταποιημένων σαλατών κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Brackett, 1994; 1997). Από τα βακτηρίδια γαλακτικού οξέος, αναφέρεται ότι κυριαρχούν οι οργανισμοί *Leuconostoc*, συγκεκριμένα, τα *Leuconostoc mesenteroides* (Carlin et al., 1989). Οι πληθυσμοί *Lactobacilli* εντοπίστηκαν σε πλήθος 10^4 cfu/g σε φρέσκο ανανά και πεπόνι μετά από επεξεργασία, και αυξάνονται σε 10^7 cfu/g μετά από 12 ημέρες αποθήκευσης σε ψυγείο (O'Conner-Shaw et al., 1994; Lamikanra et al., 2000). Ο Bennick (1998), διερεύνησε την εμφάνιση διαφόρων ειδών *Enterobacteriaceae*, συμπεριλαμβανομένων των *Enterobacter cloacea*, *Pantoea agglomerans* και *Rahnella aquatilis*, στους βλαστούς φασολιών και το ραδίκι. Είδη *Pseudomonas*, όπως *Ps. fluorescens*, *Ps. corrugata* και *Ps. viridiflava* ανιχνεύθηκαν επίσης σε φρέσκα και αλλοιωμένα λαχανικά. Τα κυρίαρχα είδη που αναφέρθηκαν σε λαχανικά, όπως το μπρόκολο και τα λάχανα περιλαμβάνουν τις φθορίζουσες ψευδομονάδες και τα είδη *Klebsiella*, *Serratia*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Chromobacterium* και *Alcaligenes* (Πίνακας 3.3). Οι σχετικές αλλοιώσεις που αναφέρονται στη βιβλιογραφία περιλαμβάνουν την ήπια σήψη σε κρεμμύδια, επιφανειακές αλλοιώσεις λαχανικών, όπως σε πιπεριές και μεταβολή του χρώματος του λαχάνου που προκαλείται από τον ζυμομύκητα *Kluyveromyces spp.* (Fleet, 1992). Οι κύριοι ζυμομύκητες που σχετίζονται με την αλλοίωση των φυτών είναι τα είδη *Cryptococcus*, ειδικότερα το *Cryptococcus laurentii* και τα είδη *Candida*. Τα πιο ζυμωτικά είδη, *S. exiguus*, *Saccharomyces cerevisiae* και *S. dairensis* εμφανίζονται κυρίως σε σαλάτες με dressing μαγιονέζας. Τα ελαττώματα που προκαλούνται από τους ζυμομύκητες είναι οι οσμές και η ανάπτυξη τους στην επιφάνεια της σαλάτας (Denis & Buhagiar, 1980; Fleet, 1992). Η προέλευση των ειδών *Saccharomyces* στις μεταποιημένες σαλάτες δεν είναι σαφής, αλλά μπορεί να οφείλεται σε μόλυνση από το περιβάλλον επεξεργασίας, καθώς αυτά τα είδη

δεν απαντώνται συνήθως στα μη επεξεργασμένα φρούτα και λαχανικά (Deak & Beuchat, 1987). Η αλλοίωση λόγω ανάπτυξης μυκήτων δεν φαίνεται να αποτελεί μείζον πρόβλημα για τις έτοιμες προς κατανάλωση σαλάτες. Μεγάλη ποικιλία μυκήτων μπορεί να βρεθεί στην επιφάνεια λαχανικών και φρούτων κατά τη συγκομιδή (Lund & Snowden, 2000; Nguyen-The and Carlin, 2000). Ωστόσο, η υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία των μεταποιημένων φρούτων και λαχανικών και η τροποποιημένη ατμόσφαιρα σε συσκευασμένες σαλάτες ευνοούν τον πολλαπλασιασμό των ταχύτερα αναπτυσσόμενων βακτηρίων και ειδών ζύμης, μειώνοντας ή παρεμποδίζοντας έτσι την ανάπτυξη των μυκήτων (Nguyen-The and Carlin, 2000).

Παθογόνοι Μικροοργανισμοί

Συσχέτιση των τροφιμογενών παθογόνων με τις έτοιμες προς κατανάλωση σαλάτες

Τα φρεσκοκομμένα προϊόντα έχουν συνδεθεί με επιδημίες τροφιμογενών ασθενειών, καθώς τα τροφιμογενή παθογόνα μπορούν να αποτελέσουν μέρος της μικροχλωρίδας αυτών των προϊόντων. Ιστορικά, η επιδημιολογική παρακολούθηση των τροφίμων για την παρουσία παθογόνων έχει επικεντρωθεί σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Παρόλο που τα φρούτα και τα λαχανικά είναι γνωστά εδώ και πολύ καιρό ως πηγές μολυσματικών μικροβιακών παραγόντων, υπάρχουν πολύ λίγα στοιχεία που τεκμηριώνουν τους κινδύνους για τη δημόσια υγεία. Η αυξημένη κατανάλωση των προϊόντων και η ανάπτυξη της βιομηχανίας φρεσκοκομμένων έχουν δημιουργήσει την ανάγκη για διερεύνηση της συσχέτισης των παθογόνων παραγόντων με αυτά τα προϊόντα. Γίνεται λοιπόν αναφορά στα παθογόνα που προκαλούν ανησυχία, τις ασθένειες που προκαλούν, την προέλευσή τους και ορισμένα από τα χαρακτηριστικά που τους επιτρέπουν να επιβιώσουν σε φρεσκοκομμένα προϊόντα και στο περιβάλλον επεξεργασίας. Είναι γενικά αποδεκτό ότι τα παθογόνα που προκαλούν ανησυχία στις φρεσκοκομμένες σαλάτες είναι παρόμοια με εκείνα που υπάρχουν στα νωπά λαχανικά (Nguyen-The and Carlin, 2000). Λόγω της παγκόσμιας ανησυχίας για τη λιστερίωση, πολλές μελέτες έχουν επικεντρωθεί στη συχνότητα εμφάνισης του *L. monocytogenes* σε επεξεργασμένα και ψυγμένα φυτικά προϊόντα (Nguyen-The and Carlin, 2000). Ωστόσο, άλλα βακτηριακά παθογόνα που αναφέρθηκαν ότι προκαλούν ανησυχία είναι το *Cl. botulinum*, το εντεροαιμορραγικό *E. Coli* συμπεριλαμβανομένων των οροτύπων O157: H7 και O111, το *Shigella spp.*, το *B. cereus*, το *Aeromonas hydrophila* και το *Yersinia enterocolitica* (Fain, 1996). Παθογόνα που σχετίζονται επίσης με τα νωπά λαχανικά είναι και το *Vibrio cholerae* (εντοπίζεται στο λάχανο), το *St. aureus* και το *Salmonella spp.* (εντοπίζεται στα λαχανικά σαλάτας) και το *Campylobacter jejuni* (που βρέθηκε σταμανιτάρια) (Doyle & Schoeni, 1986; Satchell et al., 1990; Fain, 1996, Francis et al., 1999). Μερικά παραδείγματα παθογόνων μικροοργανισμών που εμφανίζονται σε προϊόντα φρεσκοκομμένων σαλατών παρατίθενται στον πίνακα 3.4. Ο Πίνακας 3.5 παραθετεί ορισμένες επιδημίες τροφιμογενών ασθενειών που σχετίζονται με φρεσκοκομμένα προϊόντα. Τα μη βακτηριακά παθογόνα μπορούν επίσης να μεταδοθούν από φρεσκοκομμένα προϊόντα, και τα οποία προέρχονται από το νερό πλύσης και μεταφέρονται από το φαγητό στους καταναλωτές. Αυτά περιλαμβάνουν ιούς, όπως ο ιός Norwalk και η ηπατίτιδα Α, και τα παράσιτα *Giardia* και *Cryptosporidium*.

Πίνακας 3.4. Ποσοστά εμφάνισης τροφιμογενών παθογόνων σε φρεσκοκομμένες σαλάτες

Παθγόνα Είδη	Προϊόν (+Προέλευση)	Περιστατικά
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Έτοιμες σαλάτες (Ηνωμένο Βασίλειο)	21.6%
<i>Campylobacter</i>	Σαλάτες Λαχανικών (Γερμανία)	0% (20 δείγματα)
<i>Cryptosporidium oocysts</i>	Μαρούλι (Κόστα Ρίκα)	2.5% (2/80 δείγματα)
<i>E. coli</i> O157:H7	Λάχανο (Μεξικό)	25%
<i>Listeria monocytogenes</i>	Λαχανοσαλάτα (Καναδά)	2.2% (2/92 δείγματα)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Έτοιμες σαλάτες (Ιρλανδία)	14.3%
<i>Listeria monocytogenes</i>	Λαχανοσαλάτα (Ηνωμένο Βασίλειο)	7.7% (3/39 δείγματα)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Έτοιμα Λαχανικά (Ηνωμένο Βασίλειο)	3.8% (1/26 δείγματα)
<i>Salmonella</i>	Μικτά Λαχανικά Σαλάτας (ΗΠΑ)	0% (0/63)
<i>Shigella</i>	Λαχανικά Σαλάτας (Αίγυπτος)	1.2%
<i>Staphylococcus</i> spp.	Λαχανικά Σαλάτας (Αίγυπτος)	8.3%
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Συσκευασμένα Προϊόντα Λαχανικών (Γαλλία)	22–56% (100 δείγματα)

Πίνακας 3.5. Παραδείγματα επιδημιών τροφικών νόσων που συνδέονται με την κατανάλωση φρέσκων προϊόντων

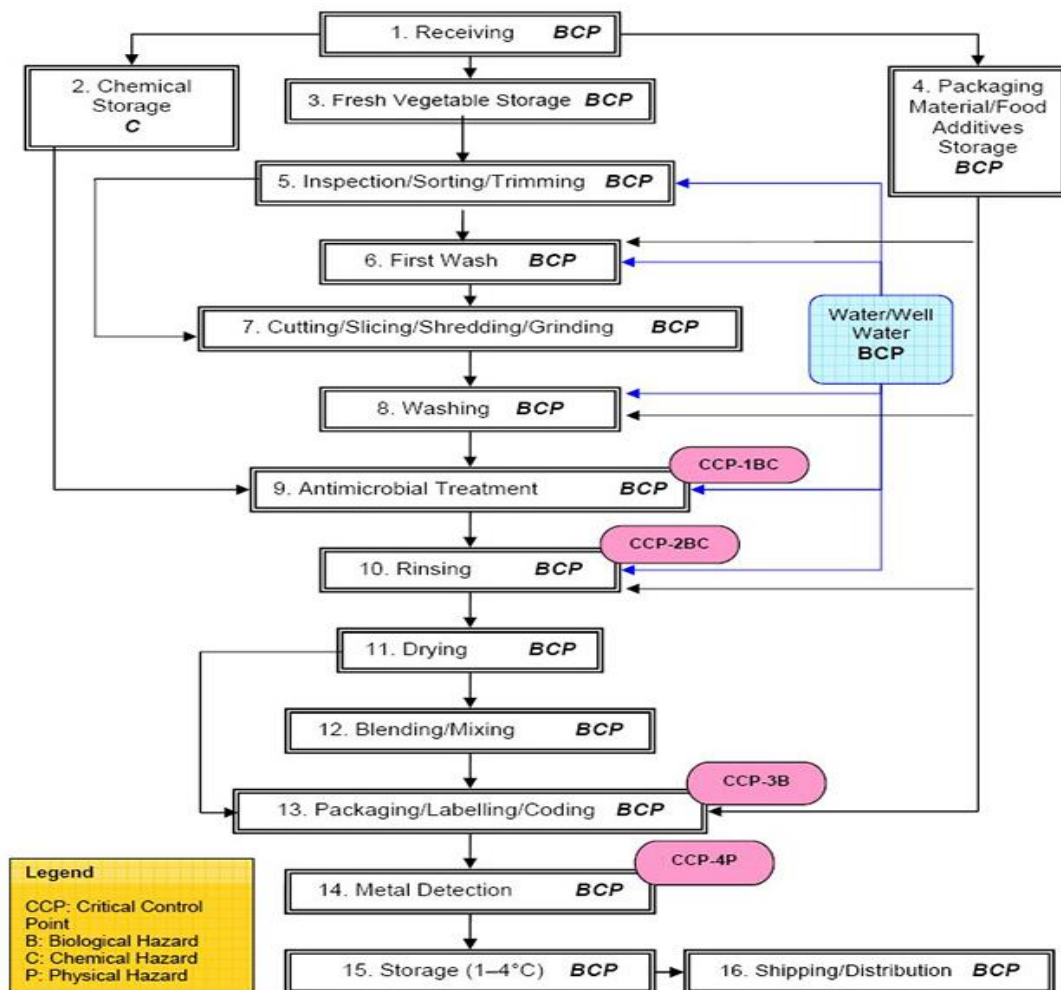
Παθογόνα Είδη	Προϊόν (+Προέλευση)	Πηγή Μόλυνσης	Αριθμός Κρουσμάτων της Νόσου
<i>Cyclospora cayentanensis</i>	Βατόμουρα (ΗΠΑ, Καναδά - προϊόντα που εισάγονται από τη Γουατεμάλα)	Ψεκάσμος με μυκητοκτόνα παρασκευασμένα με μολυσμένο νερό	>1000
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Μικτό Μαρούλι (ΗΠΑ)	Κακή παρασκευαστική πρακτική, πιθανώς μόλυνση από κοπριά	26 άνθρωποι
Ιός Ηπατίτιδας Α	Τεμαχισμένες Ντομάτες	Διαχειρισμός Τροφίμων	92
Ιός Norwalk	Φρεσκοκομμένα Φρούτα	Διαχειρισμός Τροφίμων	>217
<i>Listeria monocytogenes</i>	Λαχανοσαλάτα (Καναδά)	Κοπριά Προβάτων	34 κρούσματα
<i>Salmonella</i> spp.	Τεμαχισμένα Καρπούζια (ΗΠΑ)	Αποθήκευση χωρίς ψύξη	18 κρούσματα
	Πεπόνι (Μεξικό και Κεντρική Αμερική)	Δεν είναι γνωστό	>245 (εκτιμάται να είναι 25000)
<i>Shigella sonnei</i>	Ψιλοκομμένο Μαρούλι	Επεξεργασία	347 άνθρωποι
<i>Shigella</i> spp.	Σαλάτα Φρούτων (Ηνωμένο Βασίλειο)	Δεν είναι γνωστό	36
<i>Vibrio cholerae</i>	Λάχανο (Περού)	Οργανικό λίπασμα από μολυσμένο νερό	-

3.5 Παραγωγική Διαδικασία Φρεσκοκομμένων Λαχανικών και HACCP

Η παρακολούθηση και ο έλεγχος του τελικού προϊόντος δεν αποτελεί εγγύηση ασφάλειας, διότι τα μη ασφαλή δείγματα ενδέχεται να διαφύγουν από την ανίχνευση. Αυτό που χρειάζεται είναι μια πιο εστιασμένη προσέγγιση στον έλεγχο της ασφάλειας των τροφίμων. Ένα τέτοιο πρόγραμμα είναι η έννοια HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point). Το σύστημα HACCP είναι μια δομημένη προσέγγιση για τον εντοπισμό, την αξιολόγηση του κινδύνου και τον έλεγχο των κινδύνων που συνδέονται με μια διαδικασία ή μια πρακτική παραγωγής τροφίμων. Το HACCP ασχολείται με τις βασικές αιτίες των προβλημάτων ασφάλειας των τροφίμων στην παραγωγή, την αποθήκευση, τη μεταφορά κ.λπ. και είναι προληπτικό (FDA, 1994). Αποσκοπεί στον εντοπισμό πιθανών προβλημάτων πριν από την εμφάνισή τους και καθορίζει μέτρα ελέγχου στα στάδια της παραγωγής που είναι κρίσιμα για την ασφάλεια των προϊόντων. Ένας από τους στόχους του HACCP είναι ο σχεδιασμός της ασφάλειας στη διαδικασία, μειώνοντας την ανάγκη για εκτεταμένες μικροβιολογικές δοκιμές δειγμάτων και τελικών προϊόντων (Silliker, 1995).

Το σύστημα HACCP για τη βιομηχανία φρεσκοκομμένων πρέπει να κατασκευαστεί γύρω από μια σειρά συντηρητικών παραγόντων (εμπόδια) για τον έλεγχο της ανάπτυξης των παθογόνων, διότι δεν υπάρχει κανένα οριστικό βήμα θανάτωσης στη διαδικασία επεξεργασίας. Η τεχνολογία εμποδίων χρησιμοποιεί έναν συνδυασμό υπο-βέλτιστων συνθηκών ανάπτυξης, όπου κάθε παράγοντας από μόνος του είναι ανεπαρκής για να αποτρέψει την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών, αλλά όταν συνδυάζεται με άλλους δίνει αποτελεσματικό έλεγχο (Gorris & Tauscher, 1999).

Επιπλέον, προσδιορίζονται τα σημεία της παραγωγικής διαδικασίας τα οποία είναι Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου (Critical Control Points – CCP). CCP είναι οποιοδήποτε στάδιο όπου οι κίνδυνοι μπορούν να προληφθούν, να εξαλειφθούν ή να μειωθούν σε αποδεκτά επίπεδα.



Εικόνα 3.2. Παραγωγική Διαδικασία Φρεσκοκομμένων Λαχανικών (CFIA, 2014)

Η παραγωγική διαδικασία φρεσκοκομμένων λαχανικών ξεκινάει με την παραλαβή των φρέσκων λαχανικών από τους παραγωγούς. Έπειτα ακολουθεί η αποθήκευση τους, μέχρι την επιθεώρηση και το ξεκαθάρισμα των λαχανικών. Στη συνέχεια γίνεται η πρώτη έκπλυση των λαχανικών με νερό και ακολουθεί η κοπή και ο τεμαχισμός τους. Γίνεται ξανά έκπλυση των φρεσκοκομμένων πλέον λαχανικών με νερό και έπειτα η έκπλυση τους με υδατικό διάλυμα αντιμικροβιακής δράσης, όπως είναι το χλωριομένο, το οξονοποιημένο και το οξινομένο νερό, αλλά και το διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου. Ακολουθεί και τρίτη έκπλυση τους με νερό για απομάκρυνση χημικών υπολειμμάτων από τα υδατικά διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν στο προηγούμενο στάδιο και έπειτα η ξήρανση και η ανάμειξη των φρεσκοκομμένων λαχανικών. Στη συνέχεια ακολουθεί η συσκευασία και η επισήμανση των προϊόντων, η ανίχνευση μεταλλικών αντικειμένων, η αποθήκευση σε θερμοκρασίες 1 – 4 °C και τέλος η διανομή τους.

Πίνακας 3.6. Κρίσιμα Σημεία Ελέγχου Παραγωγικής Διαδικασίας Φρεσκοκομμένων Λαχανικών (CFIA, 2014)

Στάδιο Διεργασίας	Περιγραφή Κινδύνου	Κρίσιμα Όρια	Διαδικασίες Ελέγχου
Αντιμικροβιακή Θεραπεία	<p>Βιολογικοί</p> <p>Ανεπαρκής μείωση των παθογόνων μικροοργανισμών λόγω αναποτελεσματικής απολύμανσης / αντιμικροβιακής θεραπείας (δηλαδή, ανεπαρκείς συγκεντρώσεις αντιμικροβιακής θεραπείας, ανεπαρκούς pH, ακατάλληλης εφαρμογής (συμπεριλαμβανομένου του χρόνου επαφής) και ακατάλληλης ανάδευσης).</p> <p>Ανάπτυξη παθογόνων οργανισμών λόγω παρατεταμένης χρονικής διάρκειας μεταξύ της έναρξης κοπής / τεμαχισμού και ολοκλήρωσης της αντιμικροβιακής επεξεργασίας των έτοιμων προς κατανάλωση λαχανικών, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη μικροβίων λόγω της παρουσίας</p>	<p>Θερμοκρασία νερού Χ βαθμούς πριν την προσθήκη του διαλύματος αντιμικροβιακής θεραπείας και των λαχανικών.</p> <p>Η τιμή του pH του νερού πριν από την προσθήκη διαλύματος αντιμικροβιακής θεραπείας να είναι 6-7.</p> <p>Διαθέσιμο χλώριο: 100-150 ppm ολικό χλώριο.</p> <p>Ή</p> <p>Υπολειμματικό χλώριο: 2-7 ppm ελεύθερο υπολειμματικό χλώριο μετά την επαφή.</p> <p>Χρόνος επαφής: όχι περισσότερο από Χ λεπτά.</p> <p>Χρόνος μεταξύ της έναρξης της κοπής / τεμαχισμού μέχρι την ολοκλήρωση της αντιμικροβιακής θεραπείας να μην υπερβαίνει τα Χ λεπτά για κάθε παρτίδα.</p>	<p>Για κάθε παρτίδα λαχανικών:</p> <ul style="list-style-type: none"> • γίνεται μέτρηση της θερμοκρασίας του νερού/αντιμικροβιακού υδατικού διαλύματος με χρήση θερμομέτρου χειρός, και • του pH του νερού και, • γίνεται ανάμειξη του απολυμαντικού για να γίνει διασφάλιση ότι πληρούνται τα κρίσιμα όρια, • εξασφαλίζεται ότι το αντιμικροβιακό υδατικό διάλυμα πληρεί τα κρίσιμα όρια συγκέντρωσης • προσθέτει το υδατικό διάλυμα αντιμικροβιακής θεραπείας στα λαχανικά και καταγράφει το χρόνο κατά την έναρξη της θεραπείας και την ολοκλήρωση της. Γίνεται καταγραφή του χρόνου κατά την ολοκλήρωση της αντιμικροβιακής θεραπείας και

	<p>θρεπτικών ουσιών στις κομμένες επιφάνειες.</p> <p>Ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών λόγω καταχρήσεων χρόνου / θερμοκρασίας ως αποτέλεσμα της αυξημένης θερμοκρασίας του αντιμικροβιακού υγρού επεξεργασίας, με αποτέλεσμα τη μόλυνση των έτοιμων προς κατανάλωση λαχανικών</p> <p>Χημικοί</p> <p>Η μόλυνση των λαχανικών με υπερβολικές συγκεντρώσεις χημικών αντιμικροβιακής θεραπείας λόγω ακατάλληλης ανάμειξης και / ή εφαρμογής.</p>		<p>υπολογίζει το συνολικό χρόνο από την έναρξη της κοπής μέχρι την ολοκλήρωση της αντιμικροβιακής θεραπείας, ώστε να πληρούνται τα κρίσιμα όρια. Καταγράφεται ο όγκος του απολυμαντικού που χρησιμοποιείται, ο όγκος του χρησιμοποιούμενου υ νερού (ο συνολικός όγκος απολυμαντικού διαλύματος που χρησιμοποιείται), το διαθέσιμο χλώριο ή το ελεύθερο υπολειμματικό χλώριο μετά τη θεραπεία, το pH του νερού, ή ο χρόνος επαφής και ο συνολικός χρόνος από την αρχή της κοπής μέχρι την ολοκλήρωση της αντιμικροβιακής επεξεργασίας στο αρχείο παρακολούθησης.</p>
Έκπλυση	<p>Βιολογικοί</p> <p>Παρουσία υψηλών επιπέδων παθογόνων μικροοργανισμών στο νερό έκπλυσης που έχει ως αποτέλεσμα τη</p>	<p>Το νερό έκπλυσης των λαχανικών πρέπει να είναι Χ βαθμούς ή λιγότερο και πρέπει να αλλάζει για κάθε έκπλυση.</p>	<p>Γίνεται μέτρηση της θερμοκρασίας του νερού έκπλυσης με ένα θερμόμετρο χειρός (π.χ. πριν από την προσθήκη των λαχανικών στην αρχή του βήματος</p>

	<p>μόλυνση των έτοιμων προς κατανάλωση λαχανικών. Ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών στο νερό έκπλυσης λόγω κατάχρησης χρόνου / θερμοκρασίας ως αποτέλεσμα τη μόλυνση των έτοιμων προς κατανάλωση λαχανικών.</p> <p>Χημικοί</p> <p>Παρουσία υπολειπόμενου διαλύματος αντιμικροβιακής θεραπείας σε έτοιμα προς κατανάλωση λαχανικά, λόγω ανεπαρκούς έκπλυσης.</p>	<p>Η συγκέντρωση του υδατικού διαλύματος αντιμικροβιακής θεραπείας στο νερό έκπλυσης στο τέλος της τελικής έκπλυσης δεν πρέπει να υπερβαίνει τα Υ.</p>	<p>έκπλυσης και στο τέλος του βήματος έκπλυσης). Μετά από κάθε έκπλυση, γίνεται έλεγχος του επιπέδου του υδατικού διαλύματος αντιμικροβιακής θεραπείας στο νερό έκπλυσης. Τα ληφθέντα αποτελέσματα εξετάζονται για να διασφαλιστεί ότι πληρούνται τα κρίσιμα όρια.</p>
Συσκευασία/Επισήμανση	<p>Βιολογικοί</p> <p>Εσφαλμένη, δυσανάγνωστη ή απουσιάζουν η επισήμανση «Κατανάλωση πριν από την ημερομηνία» και οι οδηγίες αποθήκευσης (δηλαδή, «Διατηρείται σε ψύξη») που έχει ως αποτέλεσμα την</p>	<p>Σωστό, ευανάγνωστες οι επισήμανσης «Κατανάλωση πριν από την ημερομηνία» και «Διατηρείται σε Ψύξη» και εμφανίζονται σε κάθε συσκευασία λαχανικών.</p>	<p>Γίνεται σύγκριση της αναγραφόμενης ημερομηνίας για κατανάλωση στη συσκευασία των λαχανικών και ελέγχεται ότι ταιριάζει με την απαιτούμενη ημερομηνία πριν από την ημερομηνία λήξης και ότι οι οδηγίες αποθήκευσης στη συσκευασία είναι σωστές και</p>

	ανάπτυξη L. Monocytogenes σε μη αποδεκτά επίπεδα κατά την κατανάλωση.		ευανάγνωστες (δηλαδή, «Διατηρείται σε Ψύξη»).
Ανιχνευτής Μετάλλων	<p>Φυσικοί</p> <p>Παρουσία επικίνδυνου εξωγενούς υλικού (μεταλλικού) στα έτοιμα προς κατανάλωση λαχανικά λόγω βλάβης του ανιχνευτή μετάλλων για την ανίχνευση του μετάλλου. Παρουσία επικίνδυνου ξένου υλικού (μεταλλικό) στα λαχανικά λόγω βλάβης του ανιχνευτή μετάλλων να λειτουργεί όπως προβλέπεται όταν ανιχνεύεται το μέταλλο.</p>	<p>Όλα τα προϊόντα πρέπει να περάσουν από λειτουργικό ανιχνευτή μετάλλων. Ο ανιχνευτής μετάλλων πρέπει να ανιχνεύει καθεμία από τις ακόλουθες μεταλλικές ράβδους κατά τη διάρκεια μιας δοκιμής του ανιχνευτή μετάλλων:</p> <ul style="list-style-type: none"> • X mm σιδηρούχα • X mm μη σιδηρούχα • X mm ανοξειδωτος <p>Ο ανιχνευτής μετάλλων πρέπει να λειτουργεί κανονικά όταν ανιχνεύεται μέταλλο ή μεταλλική ράβδος</p>	<p>Γίνεται έλεγχος ότι όλα τα προϊόντα περνάνε μέσα από τον ανιχνευτή μετάλλων που χρησιμοποιείται. Γίνεται έλεγχος για κάθε μία από τις ακόλουθες μεταλλικές ράβδους μέσω του ανιχνευτή μετάλλων, τοποθετώντας τις επάνω από το προϊόν:</p> <ul style="list-style-type: none"> • X mm σιδηρούχα • X mm μη σιδηρούχα • X mm ανοξειδωτος <p>Έτσι εξασφαλίζεται ότι ο ανιχνευτής μετάλλων ανιχνεύει τη μεταλλική ράβδο και επίσης, ελέγχεται η λειτουργία του ανιχνευτή μετάλλου για να διασφαλιστεί ότι όταν οι μεταλλικές ράβδοι περνούν από τον ανιχνευτή μετάλλων, ο ανιχνευτής μετάλλου λειτουργεί κανονικά, δηλαδή παρέχονται οι κατάλληλοι</p>

			συναγερμοί και/ή διακοπή της γραμμής.
--	--	--	---------------------------------------

Όπου X και Y είναι τα κρίσιμα όρια (π.χ. θερμοκρασίας νερού έκπλυσης), τα οποία καθορίζονται από την ομάδα HACCP κάθε βιομηχανίας και οι οποίοι έχουν πλήρης γνώση των κινδύνων που μπορεί να προκύψουν ανάλογα τα κρίσιμα όρια.

Το μη θερμικό πλάσμα, όπως προαναφέρθηκε είναι ευρεία αναγνωρισμένο ως μια αποτελεσματική μέθοδος απολύμανσης και βελτιώνεται συνεχώς στον τομέα της τεχνολογίας τροφίμων. Οι πολύτιμες ιδιότητές του έχουν αποδειχθεί από πλήθος δημοσιεύσεων και ερευνών. Ωστόσο, η απευθείας χρήση του σε κάποια τρόφιμα μπορεί να έχει αρνητικές επιπτώσεις στην υφή τους ή και στο χρώμα τους. Αυτό μπορεί να αποφευχθεί με έκπλυση των τροφίμων με ενεργοποιημένο νερό, καθώς περιέχει τα ίδια δραστικά είδη που βρίσκονται και στο πλάσμα και έτσι το τρόφιμο δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το πλάσμα. Όσον αφορά τα φρεσκοκομμένα λαχανικά και φρούτα, σε αντίθεση με άλλα τρόφιμα δε γίνεται θερμική επεξεργασία στα προϊόντα για τη μείωση των μικροβιακών πληθυσμών. Ο μόνος τρόπος ελέγχου του μικροβιακού πληθυσμού κατά τη διεργασία παραγωγής φρεσκοκομμένων φρούτων και λαχανικών είναι η έκπλυση με υδατικά διαλύματα αντιμικροβιακής δράσης, όπως είναι το χλωριομένο, το οζονοποιημένο και το οξινομένο νερό, αλλά και το διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου. Μία εναλλακτική λύση απολυμαντικού μέσου είναι και το ενεργοποιημένο νερό, το οποίο χάρη στην συνεργιστική δράση του pH, της αγωγιμότητας, του δυναμικού οξειδοαναγωγής και των δραστικών ειδών οξυγόνου και αζώτου είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό στη μείωση των μικροβιακών πληθυσμών και επιπλέον δεν αφήνει χημικά υπολείμματα σύμφωνα με τις έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί ως σήμερα. Καθώς πρόκειται για μια νέα μέθοδο χρήζει περαιτέρω μελέτης. Γι'αυτό το λόγο στην παρούσα διπλωματική πραγματοποιήθηκε μελέτη παραμέτρων ενεργοποίησης επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας, μελέτη της διατηρησιμότητας του ενεργοποιημένου νερού κατά την αποθήκευσή του σε διαφορετικές θερμοκρασίες, εύρεση των βέλτιστων συνθηκών ενεργοποίησης του νερού με ψυχρό πλάσμα και τέλος μελέτη και σύγκριση παραμέτρων ποιότητας έτοιμων προς κατανάλωση φρεσκοκομμένων φύλλων ρόκας μετά από έκπλυσή τους με υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων.

4 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην παρούσα διπλωματική μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα του ενεργοποιημένου με ψυχρό πλάσμα νερού ως μέσου εξυγίανσης φύλλων ρόκας, ενός φρεσκοκομμένου προϊόντος ευρείας κατανάλωσης. Επίσης, εξετάστηκε η διατηρησιμότητα του ενεργοποιημένου με πλάσμα νερού κατά την αποθήκευση σε διαφορετικές θερμοκρασίες καθώς είναι μια σημαντική παράμετρος που πρέπει να μελετηθεί για τη μετάβαση της μεθόδου εξυγίανσης με ενεργοποιημένο νερό από την ερευνητική σε βιομηχανική κλίμακα.

Για την παράθεση των υλικών και μεθόδων που χρησιμοποιήθηκαν στην εργασία, το πειραματικό μέρος χωρίζεται σε τρία σκέλη.

Στο πρώτο σκέλος του πειράματος μελετήθηκε η επίδραση της εφαρμογής ψυχρού πλάσματος σε νερό, μέσω προσδιορισμού των συγκεντρώσεων υπεροξειδίου, νιτρικών και νιτρωδών ιόντων, pH και αγωγιμότητας του νερού για διάφορες συνθήκες επεξεργασίας.

Στο δεύτερο σκέλος, μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στο ενεργοποιημένο σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας νερό μετά από μέτρηση της μεταβολής των συγκεντρώσεων υπεροξειδίου και νιτρωδών/νιτρικών ιόντων, του pH και της αγωγιμότητας του νερού για διάστημα 15 ημερών.

Στο τρίτο σκέλος, πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης του ενεργοποιημένου με ψυχρό πλάσμα νερού καθώς και η αποτελεσματικότητα άλλων μέσων απολύμανσης στο μικροβιακό φορτίο και σε άλλες παραμέτρους ποιότητας φρεσκοκομμένης ρόκας του εμπορίου για διάφορους χρόνους έκπλυσης.

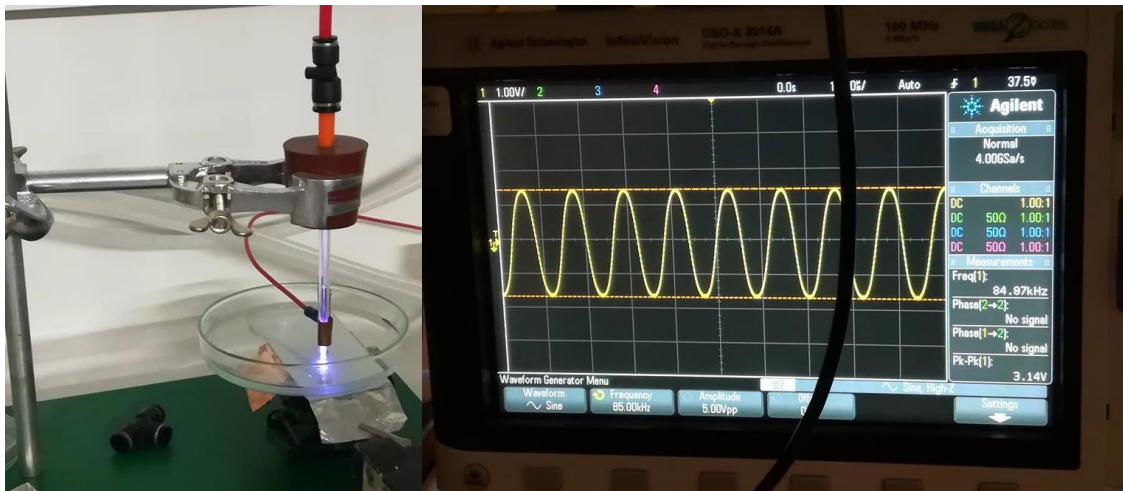
4.1. Παραγωγή Ψυχρού Πλάσματος και Ενεργοποίηση Νερού

Η παραγωγή ψυχρού πλάσματος και η ενεργοποίηση του νερού πραγματοποιήθηκαν στο Ινστιτούτο Νανοεπιστήμης και Νανοτεχνολογίας του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε «Δημόκριτος». Όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.1, η διάταξη αποτελείται από ένα γυάλινο σωλήνα και ένα εξωτερικό φύλλο χαλκού που περιβάλλει τον σωλήνα. Πρόκειται για το ηλεκτρόδιο, το οποίο συνδέεται με ημιτονοειδής πηγή υψηλής τάσης. Τη διάταξη ολοκληρώνουν η φιάλη αερίου, το ροόμετρο για τον έλεγχο της ροής του αερίου ή του μίγματος αερίων, ο πίνακας ελέγχου των παραμέτρων και το χάλκινο γειωμένο ηλεκτρόδιο που βρίσκεται κάτω από το τρυβλίο με το νερό. Η παραγωγή ψυχρού πλάσματος πραγματοποιήθηκε με χρήση αερίου ηλίου και πηγής DC (Εικόνα 4.1β).



(α)

(β)



(γ)

(δ)

Εικόνα 4.1. Διάταξη παραγωγής ψυχρού πλάσματος α) Πίνακας ελέγχου ροής β) Ημιτονοειδής πηγή υψηλής τάσης γ) Τζετ πλάσματος και ενεργοποίηση νερού και δ) Πίνακας ελέγχου παραμέτρων

Η ενεργοποίηση του νερού πραγματοποιήθηκε με την παραγωγή πλάσματος πάνω από την επιφάνεια του νερού. Η απόσταση μεταξύ του τζετ και της επιφάνειας του νερού ήταν $\approx 0,5$ cm. Η εφαρμοζόμενη τάση ήταν 3 – 4 kV, η συχνότητα 85 kHz και η ισχύς 60%. Κάθε φορά ενεργοποιούνταν 25 mL απεσταγμένου νέρου σε γυάλινο τρυβλίο Petri. Το τρυβλίο μεταφερόταν στο στήριγμα κάτω από το τζετ πλάσματος. Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε 3 ροές (1,3 και 5 L/min) και για 6 χρόνους επεξεργασίας (1,3,5,10,15 και 20 min). Το πείραμα της ενεργοποίησης νερού σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας καθώς και της μελέτης της επίδρασης της θερμοκρασίας αποθήκευσης στη διατηρησιμότητα του ενεργοποιημένου νερού επαναλήφθηκε εξ' ολοκλήρου 3 φορές. Η μελέτη του ενεργοποιημένου νερού τόσο σε πρώτο χρόνο όσο και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του έγινε μέσω προσδιορισμού της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου, των νιτρικών/νιτρωδών ιόντων, της τιμής pH και της αγωγιμότητας του νερού.

4.1.1 Μέτρηση Υπεροξειδίου του Υδρογόνου

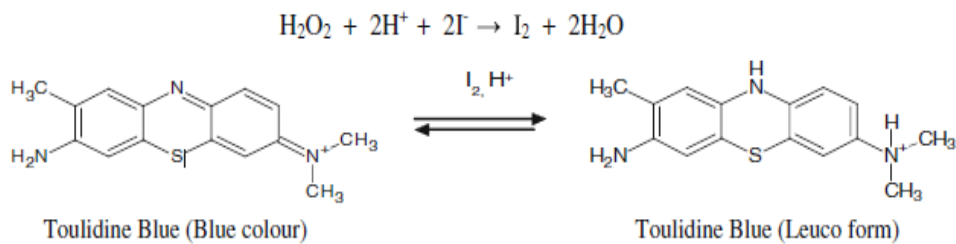
Η μέτρηση του υπεροξειδίου στο ενεργοποιημένο με ψυχρό πλάσμα νερό πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικά σύμφωνα με τη μέθοδο των Sunil & Narayana (2008). Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Unicam Helios α (Helamco A.E.) (Εικόνα 4.6) και γυάλινη κυψελίδα 1 cm. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη. Το πρότυπο διάλυμα υπεροξειδίου του υδρογόνου παρασκευάστηκε με κατάλληλη αραιώση 30 % υπεροξειδίου του υδρογόνου. Τα διαλύματα γνωστών συγκεντρώσεων υπεροξειδίου παρασκευάστηκαν με κατάλληλη αραιώση του αρχικού. Χρησιμοποιήθηκαν 2% διάλυμα ιωδιούχου καλίου, 0,01% δείκτης μπλε τολουϊδίνης, 2 M υδροχλωρικό οξύ και διάλυμα 2 M οξικού νατρίου.



Εικόνα 4.6. Φασματοφωτόμετρο Unicam Helios α (Helamco A.E.)

Σύμφωνα με τη μέθοδο, σε δοκιμαστικό σωλήνα γίνεται προσθήκη 3 mL δείγματος ενεργοποιημένου νερού και 1 mL ιωδιούχου καλίου και ακολουθεί προσθήκη 1 mL υδροχλωρικού οξέος 2 M. Το μίγμα ανακινείται καλά μέχρι την εμφάνιση κίτρινου χρώματος και στη συνέχεια προστίθενται 0,5 mL διαλύματος δείκτη μπλε τολουϊδίνης 0,01% ακολουθούμενο από 2 mL διαλύματος οξικού νατρίου 2 M. Το σωληνάκι συμπληρώνεται με απεσταγμένο νερό μέχρι τα 10 mL. Η μέτρηση της απορρόφησης έγινε στα 628 nm έναντι τυφλού.

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου αντιδρά με το ιωδιούχο κάλιο σε όξινο περιβάλλον απελευθερώνοντας ιώδιο. Το ελεύθερο ιώδιο αποχρωματίζει το μπλε χρώμα της μπλε τολουϊδίνης παρουσία οξικού νατρίου με την απορρόφηση να μετράται στα 628 nm. Η απελευθέρωση του ιωδίου από το υπεροξείδιο του υδρογόνου είναι αποτελεσματική στην περιοχή pH 2,0 – 3,0, η οποία θα μπορούσε να διατηρηθεί με προσθήκη 1 mL υδροχλωρικού οξέος 2 M σε τελικό όγκο 10 mL. Η απελευθέρωση ιωδίου από KI σε οποιοδήποτε όξινο μέσο είναι ποσοτική. Η εμφάνιση κίτρινου χρώματος υποδεικνύει την απελευθέρωση του ιωδίου. Οποιαδήποτε περίσσεια ιωδίου στο διάλυμα δεν παρεμβαίνει. Ωστόσο, η συγκέντρωση του οξέος πρέπει να διατηρείται στην κλίμακα 1,5 έως 2,5 M.



Εικόνα 4.7. Σχήμα Αντίδρασης

Η πρότυπη καμπύλη κατασκευάστηκε με μέτρηση των απορροφήσεων διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης εύρους $0,2-14 \times 10^{-5}$ M. Η μείωση της απορρόφησης είναι άμεσα ανάλογη με τη συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου. Αυτή η μέθοδος φασματοφωτομετρικού προσδιορισμού υπεροξειδίου του υδρογόνου είναι χρήσιμη για χαμηλές συγκεντρώσεις του. Εξαιρετική επαναληψιμότητα αποτελεσμάτων και υψηλή ευαισθησία είναι τα χαρακτηριστικά της μεθόδου. Η μέθοδος είναι χρήσιμη για τον προσδιορισμό του υπεροξειδίου του υδρογόνου σε χαμηλές συγκεντρώσεις σε δείγματα νερού με ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου μετρήθηκε παράλληλα και με χρήση ταινιών Quantofix Peroxide Test Sticks (Εύρος: 1-100 mg/L, Sigma-Aldrich, Duren, Germany). Το χρώμα των δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση της συγκέντρωσης υπεροξειδίου σε ενεργοποιημένο νερό καθώς και το χρώμα των δεικτών μετά από εμφύπτυσή τους σε πρότυπα διαλύματα υπεροξειδίου γνωστών συγκεντρώσεων στο εύρος των ταινιών, ποσοτικοποιήθηκε μετά από μέτρησή του με χρήση του χρωματόμετρου X-Rite 1i Pro (Εικόνα 4.8).



Εικόνα 4.8. Χρωματόμετρο X-Rite 1i Pro

4.1.2 Μέτρηση Νιτρωδών και Νιτρικών Ιόντων

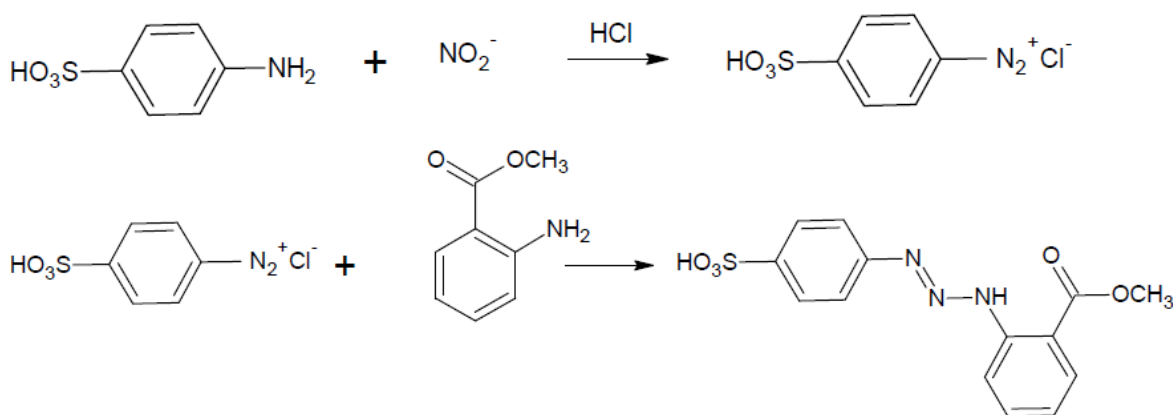
Η μέτρηση της συγκέντρωσης των νιτρωδών στο ενεργοποιημένο με ψυχρό πλάσμα νερό πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικά σύμφωνα με τη μέθοδο των Narayana & Sunil (2009). Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Unicam Helios α (Helamco A.E.) (Εικόνα 4.6) και γυάλινη κυψελίδα 1 cm. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νιτρωδών κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη.

Όλες οι χρησιμοποιούμενες χημικές ουσίες ήταν αναλυτικού βαθμού και απεσταγμένο νερό χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή όλων των διαλυμάτων στα πειράματα. Διάλυμα

νιτρώδους διαλύματος (1000 g mL^{-1}) παρασκευάστηκε διαλύοντας $0,1500 \text{ g}$ νιτρώδους νατρίου σε νερό και αραιώνοντας στα 100 mL . Διάλυμα νιτρικού άλατος (1000 g mL^{-1}) παρασκευάστηκε διαλύοντας $0,7220 \text{ g}$ νιτρικού καλίου σε νερό και αραιώνοντας στα 100 mL . Τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκαν με κατάλληλη αραιώση. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης, σουλφανλικό οξύ ($0,5 \text{ g}$ σε 100 mL νερό) και ανθρανιλικός μεθυλεστέρας ($0,5 \text{ mL}$ σε 100 mL αλκοόλης). Τα ακόλουθα αντιδραστήρια παρασκευάστηκαν με διάλυση κατάλληλων ποσοτήτων αντιδραστηρίων σε νερό: $2 \text{ mol L}^{-1} \text{ HCl}$ & $2 \text{ mol L}^{-1} \text{ NaOH}$.

Για τη μέτρηση προστέθηκαν σε κάθε φιάλη 2 mL δείγματος ενεργοποιημένου νερού, 1 mL $0,5 \%$ σουλφανλικού οξέος και 1 mL διαλύματος 2 mol L^{-1} υδροχλωρικού οξέος και το διάλυμα ανακινήθηκε καλά για 5 λεπτά για να επιτραπεί η ολοκλήρωση της αντίδρασης διαζώτωσης. Στη συνέχεια προστέθηκαν 1 mL $0,5\%$ ανθρανιλικού μεθυλεστέρα και 2 mL διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου 2 mol L^{-1} για να σχηματιστεί μια αζωχρωστική ουσία και τα περιεχόμενα αραιώθηκαν σε 10 mL χρησιμοποιώντας απεσταγμένο νερό. Μετά από αραιώση σε 10 mL με νερό, μετρήθηκε η απορρόφηση της κόκκινης χρωστικής στα 493 nm έναντι του αντίστοιχου τυφλού αντιδραστήριου.

Αυτή η μέθοδος βασίζεται στη διαζώτωση του σουλφανλικού οξέος σε όξινο μέσο ακολουθούμενη από τη σύζευξη με ανθρανιλικό μεθύλιο σε αλκαλικό μέσο, η οποία δίνει ένα αζώχρωμα με μέγιστο απορρόφησης στα 493 nm . Οι αντιδράσεις διαζώτωσης και σύζευξης εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Το σύστημα αντίδρασης παρουσιάζεται στο ακόλουθο σχήμα.



Εικόνα 4.9. Σχήμα Αντίδρασεων Διαζώτωσης και Σύζευξης

Όγκος 1 mL διαλύματος $0,5 \%$ σουλφανλικού οξέος με προσθήκη 1 mL αντιδραστήριου μεθυλεστέρα ($0,5 \%$) παρέχει μέγιστη απορρόφηση. Μεγαλύτερη περίσσεια αντιδραστήριου δεν προκαλεί περαιτέρω αύξηση της απορρόφησης. Οι αντιδράσεις διαζώτωσης και σύζευξης εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Ο διαζωτισμός διεξάγεται σε ψυχρή κατάσταση (περίπου $0 - 5^\circ\text{C}$) και η αντίδραση σύζευξης διεξάγεται σε θερμοκρασία δωματίου, ωστόσο πάνω από 35°C παρατηρείται μείωση της έντασης του χρώματος. Όταν η συγκέντρωση οξέος αυξάνεται πάνω από 2 mol L^{-1} δεν επηρεάζει την απορρόφηση.

Η μέτρηση της συγκέντρωσης των νιτρικών στο ενεργοποιημένο με ψυχρό πλάσμα νερό πραγματοποιήθηκε φασματοφωτομετρικά σύμφωνα με τη μέθοδο των Sunil and Narayana (2009). Για τις μετρήσεις χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο Unicam Helios α

(Helamco A.E.) (Εικόνα 4.6) και γυάλινη κυψελίδα 1 cm. Για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των νιτρικών χρησιμοποιήθηκε η πρότυπη καμπύλη των νιτρώδων, καθώς η μέτρηση των νιτρικών ιόντων βασίζεται στη μετατροπή τους σε νιτρώδη ιόντα με την ακόλουθη μέθοδο.

Λαμβάνονται 2 mL δείγματος απεσταγμένου νερού και προστίθενται επιπλέον 1 mL HCl και 0.4 mL Zn/NaCl κοκκώδους μίγματος, και αφήνονται για 30 λεπτά. Με περιστασιακή ανάδευση για σχηματισμό νιτρώδων, το διάλυμα διηθείται σε πρότυπη φιάλη των 100 mL χρησιμοποιώντας χάρτινο φίλτρο Whatman No. 41 και αραιώνεται μέχρι το σημείο. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη 1 mL 0,5 % σουλφανλικού οξέος και 1 mL διαλύματος 2 molL^{-1} υδροχλωρικού οξέος και το διάλυμα ανακινείται καλά για 5 λεπτά για να επιτραπεί η ολοκλήρωση της αντίδρασης διαζώτωσης. Στη συνέχεια προστίθενται 1 mL 0,5% ανθρανιλικού μεθυλεστέρα και 2 mL διαλύματος υδροξειδίου του νατρίου 2 molL^{-1} για να σχηματιστεί η αζωχρωστική ουσία και τα περιεχόμενα αραιώνονται σε 10 mL χρησιμοποιώντας απεσταγμένο νερό. Έπειτα γίνεται μέτρηση της απορρόφησης της κόκκινης χρωστικής στα 493 nm έναντι του αντίστοιχου τυφλού αντιδραστηρίου. Στο τέλος από την απορρόφηση που μετράται γίνεται αφαίρεση της απορρόφησης των νιτρώδων του ίδιου δείγματος για την εύρεση της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων.

Η πρότυπη καμπύλη νιτρώδων ιόντων κατασκευάστηκε με μέτρηση των απορροφήσεων διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης εύρους $1 - 50 \times 10^{-6} \text{ M}$. Η αύξηση της απορρόφησης είναι άμεσα ανάλογη με τη συγκέντρωση των νιτρώδων ιόντων. Η μέθοδος αυτή είναι κατάλληλη για τη μέτρηση νιτρώδων σε δείγματα νερού με ικανοποιητικά αποτελέσματα και μεγάλη ευαισθησία.

Η συγκέντρωση των νιτρώδων και νιτρικών ιόντων μετρήθηκε παράλληλα και με ταινίες Quantofix Nitrate Nitrite Test Sticks (Εύρος: 10 - 500 mg/L NO_3^- και 1 - 80 mg/L NO_2^- , Sigma-Aldrich, Duren, Germany). Το χρώμα των δεικτών που χρησιμοποιήθηκαν για τη μέτρηση της συγκέντρωσης νιτρώδων/νιτρικών ιόντων σε ενεργοποιημένο νερό καθώς και το χρώμα των δεικτών μετά από εμβάπτισή τους σε πρότυπα διαλύματα νιτρώδων/νιτρικών γνωστών συγκεντρώσεων στο εύρος των ταινιών, ποσοτικοποιήθηκε μετά από μέτρησή του με χρήση του χρωματόμετρου X-Rite 1i Pro (Εικόνα 4.8).

4.1.3 Μέτρηση του pH

Το pH του ενεργοποιημένου νερού σε όλους τους χρόνους, ροές και θερμοκρασίες, μετρήθηκε με χρήση του pH-μέτρου AMEL (pH-meter 338, AMEL Instruments, Milan, Italy) (Εικόνα 4.13) μέσα σε δοκιμαστικούς σωλήνες, όπου είχαν τοποθετηθεί 3 mL δείγματος.



Εικόνα 4.13 Φωτογραφία pH-μέτρου AMEL

4.1.4 Μέτρηση Αγωγιμότητας

Η αγωγιμότητα του ενεργοποιημένου νερού σε όλους τους χρόνους, ροές και θερμοκρασίες, μετρήθηκε με χρήση του αγωγιμόμετρου HANNA HI-99300 EC/TDS/Temperature Meter (Εικόνα 4.14) μέσα σε δοκιμαστικούς σωλήνες, όπου είχαν τοποθετηθεί 3 mL δείγματος.



Εικόνα 4.14 Αγωγιμόμετρο HANNA

4.2 Μελέτη της Επίδρασης Ενεργοποιημένου με Ψυχρό Πλάσμα νερού και άλλων Μέσων Απολύμανσης στο Μικροβιακό Φορτίο και σε Ποιοτικά χαρακτηριστικά Φυλλώδους Σαλάτας Ρόκας

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκε φρεσκοκομμένη σαλάτα ρόκα του εμπορίου συσκευασμένη σε σακουλάκι, έτοιμη προς κατανάλωση. Πέντε (5) διαφορετικές συσκευασίες του ίδιου κωδικού παραγωγής και της ίδιας ημερομηνίας λήξης αγοράστηκαν από σουπερ μάρκετ 3 ημέρες πρίνα από την ημερομηνία λήξης τους και 2 ημέρες πρίν τη διεξαγωγή των πειραμάτων και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία ψυγείου. Όλες ανοίχτηκαν σε στείρο χώρο και αναμίχθηκαν σε επίσης στείρο περιέκτη ώστε να θεωρείται ομοιογενές το δείγμα κατά την λήψη του και από τις πέντε διαφορετικές συσκευασίες, θεωρώντας ότι

το αρχικό μικροβιακό φορτίο ήταν ομοιόμορφο σε όλο τον όγκο της σαλάτας. Στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν οι επεμβάσεις που περιγράφονται στην ενότητα 4.2.1.

4.2.1 Έκπλυση με Ενεργοποιημένο Νερό και Μικροβιολογική Ανάλυση

Στο τελευταίο σκέλος της πειραματικής διαδικασίας μελετήθηκε η επίδραση διαφόρων επεμβάσεων και μέσων απολύμανσης, στο μικροβιακό φορτίο και σε παραμέτρους ποιότητας φυλλώδους σαλάτας ρόκας, για χρόνους έκπλυσης 1, 5 και 15 min. Τα μέσα απολύμανσης που εξετάστηκαν ήταν στείρο απεσταγμένο νερό, διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου ίδιας συγκέντρωσης με το υπεροξείδιο του υδρογόνου ενεργοποιημένου νερού, ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών σε θερμοκρασία 5C για μείωση με τον χρόνο των «δραστικών» στοιχείων του καθώς και φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό.

Σε όλες τις περιπτώσεις εκτός από το σκέτο νερό, η συγκέντρωση του υπεροξειδίου ήταν ακριβώς ίδια και για τα τρία διαλύματα ακριβώς πριν τη χρήση τους. Κατά την έκπλυση με τα διαλύματα των επεμβάσεων, 100 mL μέσου απολύμανσης σε κάθε περίπτωση αναμιγνύονταν σε αποστειρωμένες σακούλες με 10 g φύλλων ρόκας. Πραγματοποιούνταν ελαφριά ανακίνηση των φύλλων και του υδατικού διαλύματος και μετά την παρέλευση του προσχεδιασμένου χρόνου έκπλυσης (1, 5 ή 15 min), το υδατικό κομμάτι απομακρύνονταν και πραγματοποιούνταν δειγματοληψία για άμεση μικροβιολογική ανάλυση και ανάλυση υφής και χρώματος.

Στη μικροβιολογική ανάλυση προσδιορίστηκε το ολικό μικροβιακό φορτίο με τη μέθοδο της επιφανειακής επίστρωσης στο μη επιλεκτικό υπόστρωμα PCA (Plate Count Agar, Merck, Darmstadt, Germany), οι ζύμες-μύκητες με χρήση του επιλεκτικού θρεπτικού υποστρώματος RBC (Rose – Bengal Chloramphenicol Agar, Merck, Darmstadt, Germany) και επιφανειακή επίστρωση, τα γαλακτικά βακτήρια με χρήση του επιλεκτικού υποστρώματος MRS (de Mann, Rogosa and Sharpe's, Merck, Darmstadt, Germany) και τη μέθοδο της διπλής επίστρωσης και οι ψευδομονάδες με το επιλεκτικό υπόστρωμα CFC (Cephaloridine Fucidin Cetrимide Agar, Merck, Darmstadt, Germany) και επιφανειακή επίστρωση. Η μέθοδος στηρίζεται στο ότι από ένα μικροβιακό κύτταρο αναπτύσσεται μία αποικία και συνεπώς η μέτρηση των αποικιών δίνει τον αριθμό των μικροοργανισμών απ' όπου προήλθαν. Αρχικά, πραγματοποιήθηκε έκπλυση με 100 mL μέσου απολύμανσης σε αποστειρωμένες σακούλες 10 g φύλλων ρόκας. Αφού έγινε έκπλυση, προστίθενται σε άλλη αποστειρωμένη σακούλα τα 10 g φύλλων ρόκας και 90 mL διαλύματος αποστειρωμένου Ringer και το μίγμα οδηγείται στον ομογενοποιητή, όπου και ομογενοποιείται για 60 s σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Το ομογενοποιημένο διάλυμα χαρακτηρίζεται ως 10^{-1} . Στη συνέχεια λαμβάνεται 1 mL από το ομογενοποιημένο μίγμα και μεταφέρεται σε δοκιμαστικό σωλήνα, ο οποίος περιέχει 9 mL Ringer. Κάθε αραιώση αποτελεί υποδεκαπλάσια της προηγούμενης. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται έως ότου επιτευχθούν οι επιθυμητές αραιώσεις. 0,1 mL από τα δείγματα λαμβάνονται και φέρονται στην επιφάνεια των κατάλληλων θρεπτικών υποστρωμάτων σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri και ακολουθεί επάλειψη με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου, με εξαίρεση το θρεπτικό υπόστρωμα MRS, για το οποίο τοποθετούνται στο τρύβλιο πρώτα 1 mL δείγματος και έπειτα 2 στρώσεις του υποστρώματος καθώς πρόκειται για προαιρετικά αναερόβιους μικροοργανισμούς. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε για όλες τις αραιώσεις και υποστρώματα, ενώ πραγματοποιούνται διπλά δείγματα για κάθε αραιώση.

Πραγματοποιήθηκε επώαση στους 37°C για 5 ημέρες προτού γίνει η καταμέτρηση των αποικιών που αναπτύχθηκαν στα τρυβλία.



Εικόνα 4.12 Θάλαμος Μικροβιολογικών Αναλύσεων (MN 120, nuve).

4.2.2 Μέτρηση Χρώματος

Για τη μέτρηση χρώματος χρησιμοποιήθηκε το χρωματόμετρο Minolta CR-200 (Minolta Co., Chuo- Ku, Osaka, Japan) με διάμετρο επιφάνειας μέτρησης 8 mm (Εικόνα 4.10). Πρότυπη άσπρη πλακέτα της Minolta χρησιμοποιήθηκε για τη βαθμονόμηση του οργάνου σύμφωνα με τις συνθήκες CIE (Commission International de L'Eclairage).



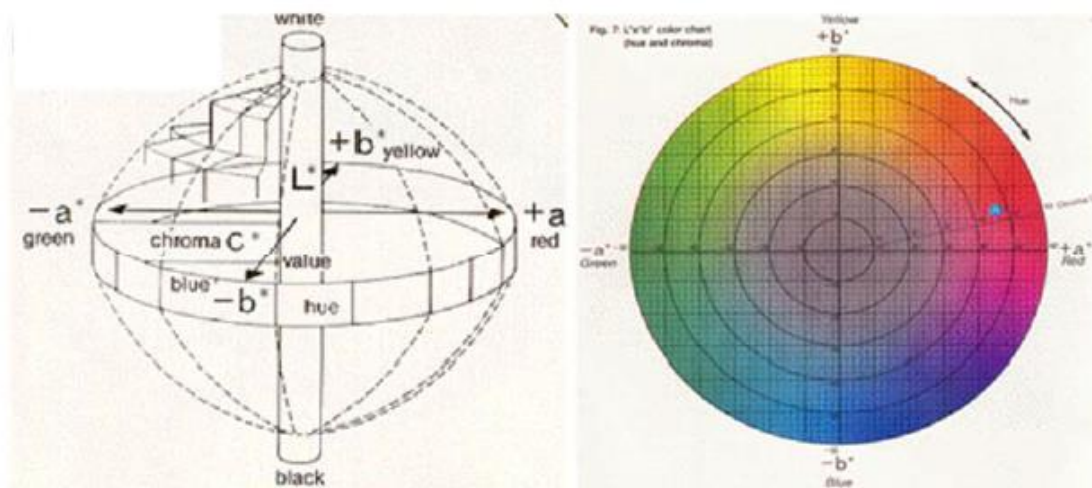
Εικόνα 4.10 Φωτογραφία χρωματόμετρου που χρησιμοποιήθηκε στις μετρήσεις χρώματος.

Για τη μέτρηση του χρώματος φύλλων ρόκας μετά την έκπλυση με ενεργοποιημένο νερό τοποθετήθηκαν σε γυάλινο διάφανο τριβλίο Petri 3 φύλλα ρόκας και στη συνέχεια μετρήθηκε το χρώμα με την εφαρμογή του χρωματόμετρου στην επιφάνεια του τριβλίου.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων εκφράστηκαν στην κλίμακα CIE (L, a, b), δηλαδή ως τιμές τριών συνιστωσών χρώματος L, a και b. Οι τιμές a και b είναι οι ορθογώνιες συντεταγμένες του χρώματος και εκφράζουν τη χρωματικότητα. Θετική τιμή για το a υποδεικνύει κόκκινο χρώμα, ενώ αρνητική πράσινο χρώμα. Μια θετική τιμή για το b υποδεικνύει κίτρινο χρώμα, ενώ αρνητική τιμή μπλε χρώμα. Η παράμετρος L εκφράζει τη φωτεινότητα του χρώματος (Εικόνα 4.11).

Με βάση τις τιμές L, a και b υπολογίζεται η ολική μεταβολή του χρώματος (ΔE) μεταξύ δυο διαφορετικών συντεταγμένων (L, a, b) και (L_0, a_0, b_0) ως εξής:

$$\Delta E = \sqrt{(L - L_0)^2 + (a - a_0)^2 + (b - b_0)^2}$$



Εικόνα 4.11 Σχηματική αναπαράσταση των συντεταγμένων L, a, b του χρώματος σε κλίμακα CIE (L, a, b).

4.2.3 Μέτρηση του pH

Το pH των φύλλων ρόκας μετά την έκπλυση τους, μετρήθηκε με χρήση του pH-μέτρου AMEL (pH-meter 338, AMEL Instruments, Milan, Italy) μέσω του ομογενοποιημένου διαλύματος.

4.2.4 Ανάλυση υφής

Τα φύλλα ρόκας μετά την έκπλυσή τους υποβλήθηκαν σε ανάλυση υφής με χρήση του αναλυτή υφής TA-XT2i Plus Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., UK)(Εικόνα 4.15).



Εικόνα 4.15 Αναλυτής Υφής TA-XT2i Plus Texture Analyzer

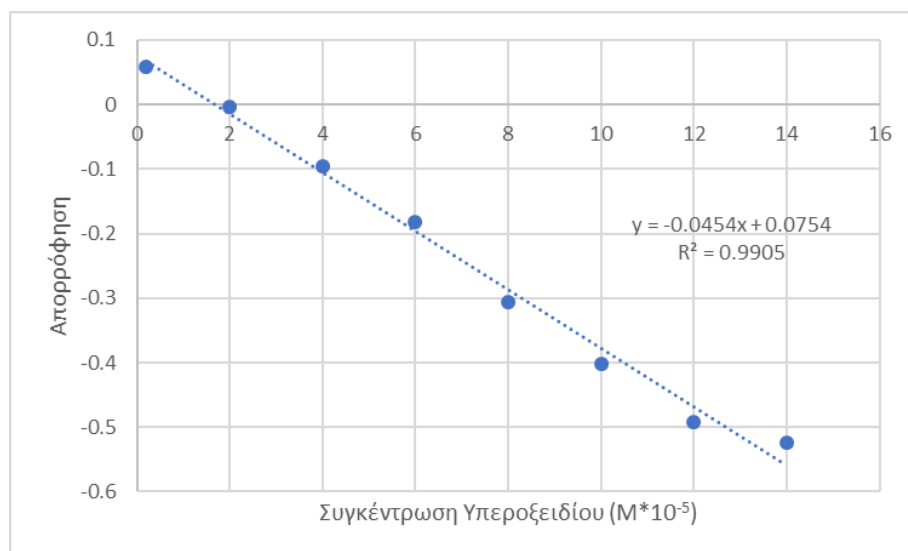
Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκε 5 mm ανοξείδωτο στέλεχος με σφαιρική κατάληξη (film support rig HDP/FSR containing perspex film support platform, aluminum circular top plate, thumb screws, 5 mm spherical probe). Με τη βοήθεια κατάλληλου προγράμματος (Texture Exponent 32, Stable Micro Systems Ltd., UK) προσδιορίστηκε η μέγιστη δύναμη σπασίματος (burst strength) του φύλλου ρόκας για κάθε χρόνο έκπλυσης με κάθε μέσο απολύμανσης, η οποία αντιστοιχεί στην υψηλότερη κορυφή του διαγράμματος Δύναμης-Χρόνου. Επιλέχθηκαν παράμετροι για Compression Test Mode, Pre-Test Speed 4,00 mm/sec, Test Speed 2,00 mm/sec, Post-Test Speed 10,00 mm/sec, Distance 5,000 mm και Trigger Force 0,049 N.

5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

5.1 Κινητική μελέτη ενεργοποίησης νερού με εφαρμογή ψυχρού πλάσματος

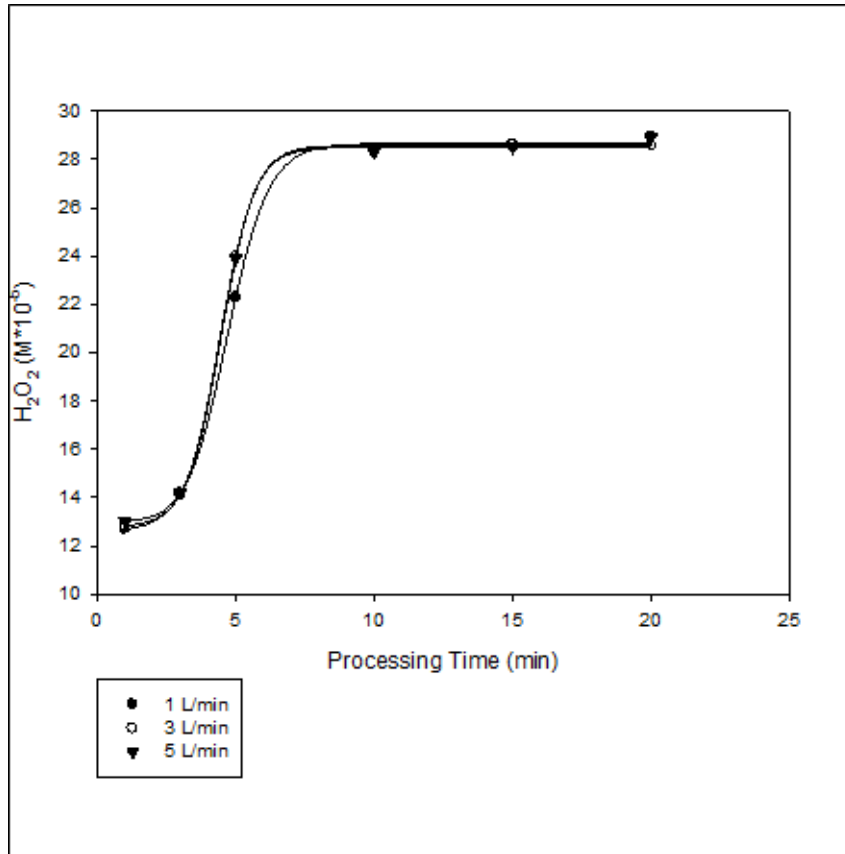
5.1.1 Μελέτη μεταβολής της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής πλάσματος

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου σχηματίζεται στο νερό που έχει υποστεί επεξεργασία με πλάσμα μέσω της αντίδρασης ανασυνδυασμού των ριζών $\text{OH}\bullet$ που παράγονται από το πλάσμα στην διεπιφάνεια αερίου/υγρού. Η πρότυπη καμπύλη του υπεροξειδίου φαίνεται στο Διάγραμμα 5.1.



Διάγραμμα 5.1 Πρότυπη Καμπύλη Απορρόφησης - Συγκέντρωσης Υπεροξειδίου

Στο Διάγραμμα 5.2 παρουσιάζεται η μεταβολή της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα (1-20 min) και για ροή αερίου He 1, 3 και 5 L/min.



Διάγραμμα 5.2. Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής του ψυχρού πλάσματος για ροή αερίου He 1, 3 και 5 L/min

Παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του νερού αυξάνεται συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/min. Η μεταβολή αυτή φάνηκε να περιγράφεται καλύτερα μέσω σιγμοειδούς συνάρτησης 4 παραμέτρων (Εξίσωση 5.1).

$$y = y_0 + \frac{a}{1 + e^{-\left(\frac{k_1 - t_p}{k_2}\right)}} \quad (\text{Εξίσωση 5.1})$$

Όπου, k_1 και k_2 οι σταθερές των ρυθμών μεταβολής της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου νερού επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα και t_p ο χρόνος επεξεργασίας.

Με χρήση του προγράμματος Sigmaplot 10.2 υπολογίστηκαν οι σταθερές των ρυθμών μεταβολής της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου νερού επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα k_1 και k_2 για ροή αερίου He 1, 3 και 5 L/min (Πίνακας 5.1)

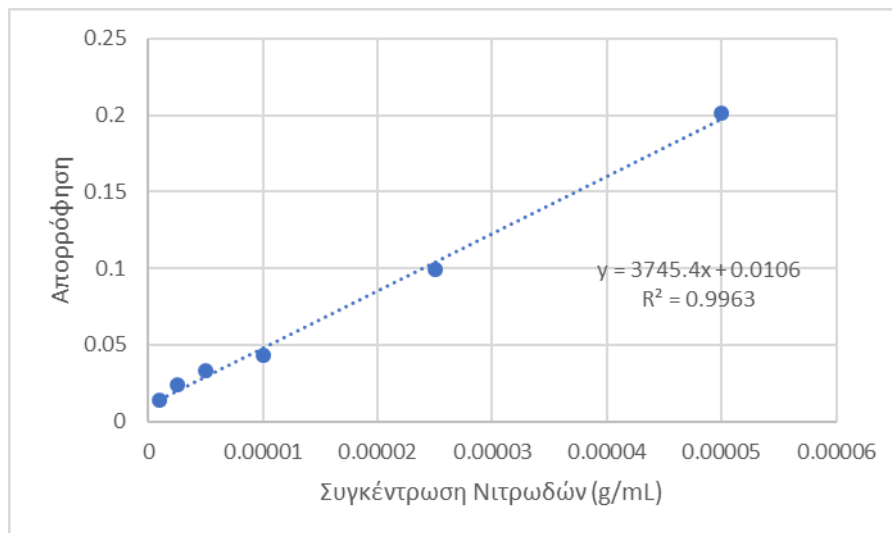
Πίνακας 5.1. Σταθερές των ρυθμών αύξησης της συγκέντρωσης υπεροξειδίου του ενεργοποιημένου νερού με το χρόνο επεξεργασίας, k_1 και k_2

Ροή (L/min)	Ρυθμός k_1 (min)	Standard Error	Ρυθμός k_2 (min)	Standard Error
1	4.4849	0.0875	0.6073	0.0729
3	4.4395	0.0393	0.6185	0.0309
5	4.6825	0.0744	0.7519	0.0860

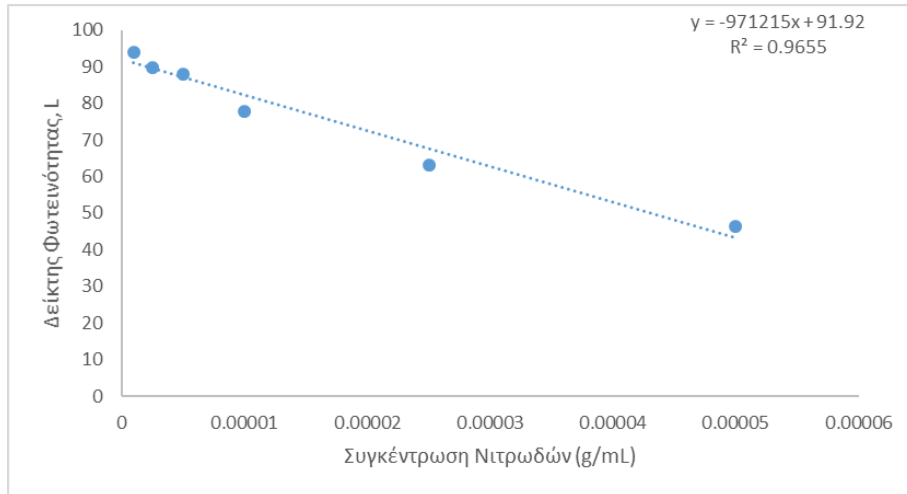
Παρατηρήθηκε ότι κατά την επεξεργασία νερού με ψυχρό πλάσμα, η ροή του αερίου He μεταξύ 1 και 5 L/min δεν εμφανίζει καμία επίδραση στη μεταβολή της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου. Επιπλέον παρατηρήθηκε ότι η συγκέντρωση του υπεροξειδίου μετά από 20 λεπτά επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα είναι $29 \cdot 10^{-5}$ M τιμή ίδιας τάξης με συγκεντρώσεις υπεροξειδίου που έχουν προσδιοριστεί από άλλους ερευνητές σε ίδιους χρόνους επεξεργασίας (Lukes et al.2014).

5.1.2 Μελέτη της μεταβολής της συγκέντρωσης νιτρικών και νιτρώδων ιόντων σε νερό συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής πλάσματος

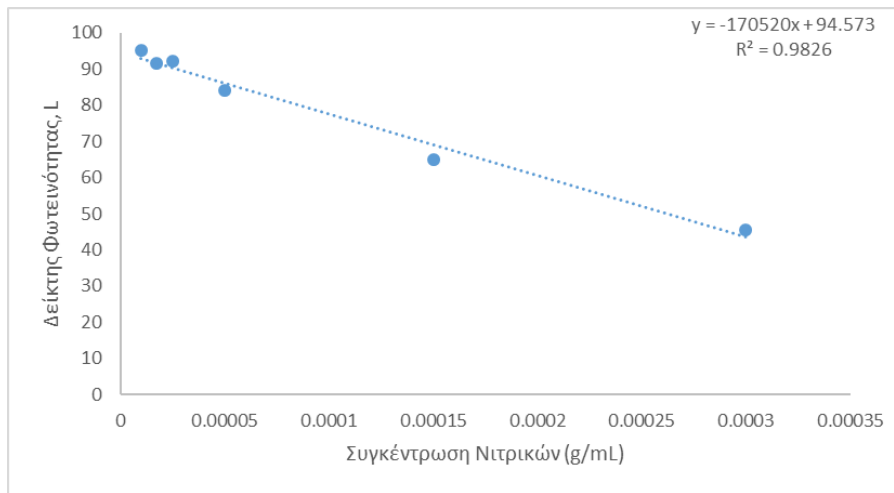
Τα νιτρώδη και τα νιτρικά ιόντα σχηματίζονται στο νερό που έχει υποστεί επεξεργασία με πλάσμα μέσω της διάσπασης των οξειδίων του αζώτου που σχηματίζονται στο πλάσμα και μέσω της διάστασης του N₂ και του O₂. Η πρότυπη καμπύλη των νιτρωδών με την απορρόφηση παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 5.3, και οι πρότυπες καμπύλες των νιτρωδών ιόντων και των νιτρικών ιόντων με τον δείκτη φωτεινότητας L, παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 5.4 και 5.5 αντίστοιχα.



Διάγραμμα 5.3 Πρότυπη Καμπύλη Απορρόφησης – Συγκέντρωσης Νιτρωδών Ιόντων

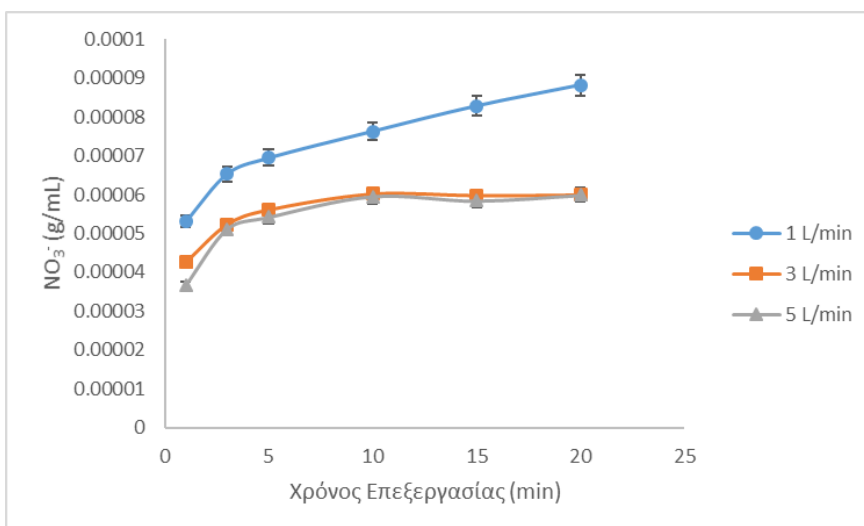


Διάγραμμα 5.4 Πρότυπη Καμπύλη Δείκτη Φωτεινότητας – Συγκέντρωσης Νιτρωδών

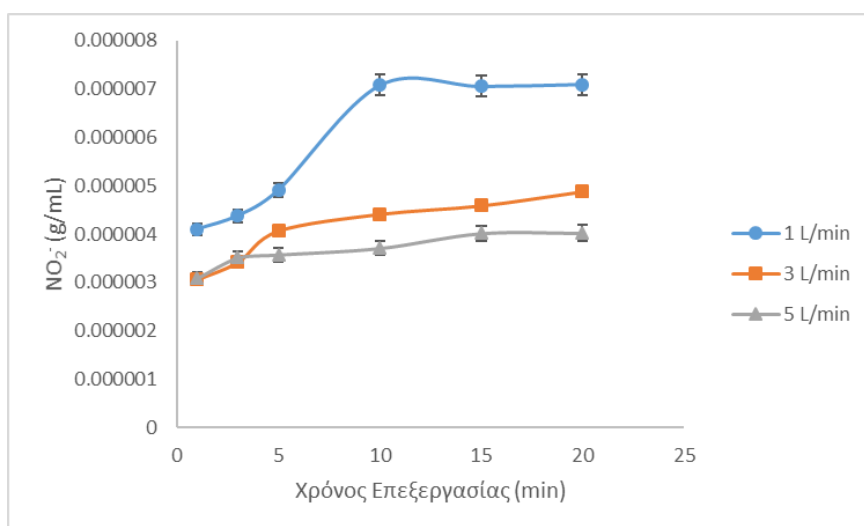


Διάγραμμα 5.5 Πρότυπη Καμπύλη Δείκτη Φωτεινότητας – Συγκέντρωσης Νιτρικών

Η μεταβολή της συγκέντρωσης των νιτρικών και νιτρωδών ιόντων συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/min παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 5.6 και 5.7, αντίστοιχα.



Διάγραμμα 5.6. Συγκέντρωση νιτρικών ιόντων συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής ψυχρού πλάσματος για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/m

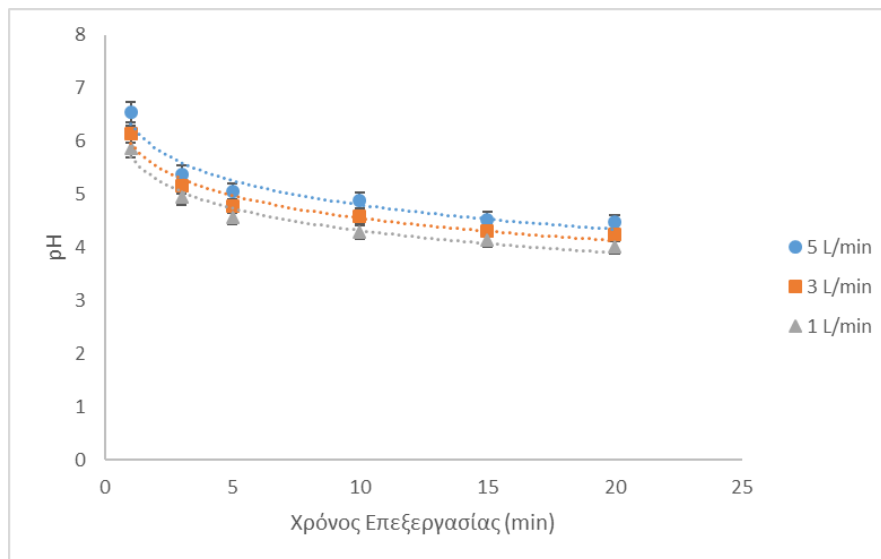


Διάγραμμα 5.7. Συγκέντρωση νιτρώδων ιόντων συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής ψυχρού πλάσματος για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/m

Η συγκέντρωση των νιτρωδών και των νιτρικών ιόντων παρουσίασε αύξηση συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα, όπως είναι αναμενόμενο σύμφωνα και με τις παρατηρήσεις των Lukes et al. (2014) πως η συγκέντρωση των νιτρικών και των νιτρωδών ιόντων αυξάνεται με το χρόνο επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα. Η υψηλότερη συγκέντρωση ιόντων που μετρήθηκε ήταν $7.09 \cdot 10^{-6}$ g/mL για τα νιτρώδη και $8.81 \cdot 10^{-5}$ g/mL για τα νιτρικά για χρόνο επεξεργασίας του νερού 20 min και για ροή αερίου He 1 L/min. Οι τιμές των συγκεντρώσεων αυτές είναι της ίδιας τάξης με εκείνες που προσδιορίστηκαν από τον Shen (2016). Παρατηρήθηκε επίσης ότι στη ροή 1 L/min επιτεύχθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις νιτρωδών/νιτρικών ιόντων συγκριτικά με τις ροές 3 και 5 L/min γεγονός που δείχνει ότι η παραγωγή νιτρωδών/νιτρικών ιόντων παρουσίασε εξάρτηση από τη ροή αερίου He σε αντίθεση με τη συγκέντρωση του υπεροξειδίου, το οποίο δεν έδειξε κάποια εξάρτηση από τη ροή του αερίου.

5.1.3 Μελέτη μεταβολής του pH συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής πλάσματος

Στο Διάγραμμα 5.8 παρουσιάζεται η μεταβολή του pH συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/min.



Διάγραμμα 5.8. pH ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής του ψυχρού πλάσματος για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/min

Το pH του ενεργοποιημένου νερού μειώθηκε συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/min. Η τιμή pH φάνηκε να μεταβάλλεται λογαριθμικά με το χρόνο επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα (Εξίσωση 5.2)

$$pH = -k \ln(tp) + b \text{ (Εξίσωση 5.2)}$$

Όπου, k η σταθερά του ρυθμού μεταβολής του pH του επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού με το χρόνο επεξεργασίας (t_p).

Στον Πίνακα 5.2 παρουσιάζονται οι τιμές της σταθεράς του ρυθμού μεταβολής (k) του pH του επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/min.

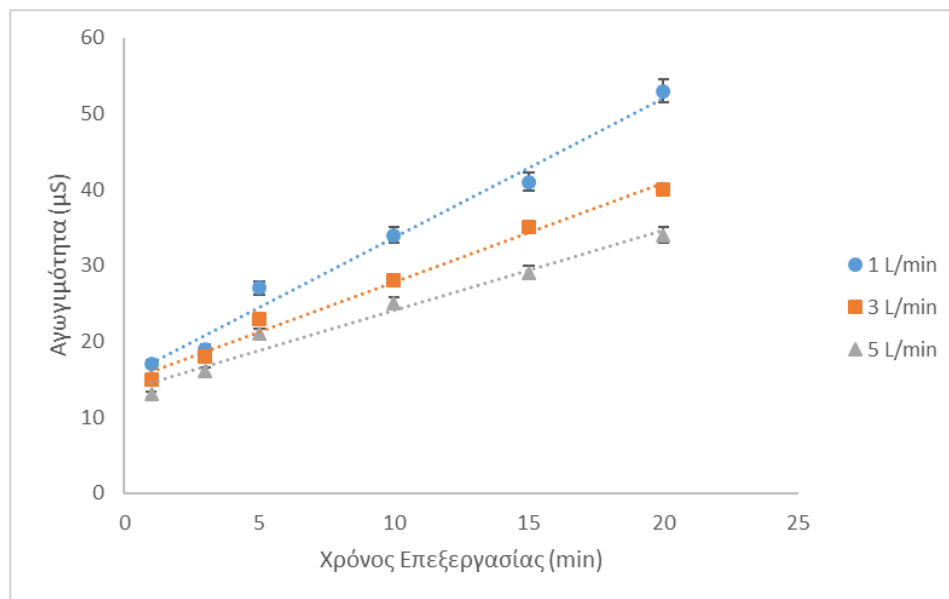
Πίνακας 5.2. Ρυθμοί μείωσης pH του ενεργοποιημένου νερού με το χρόνο επεξεργασίας, k

Ροή (L/min)	Ρυθμός k (min^{-1})	Standard Error
1	0.604	0.0558
3	0.611	0.0643
5	0.661	0.0806

Ο ρυθμός μεταβολής του pH του νερού με το χρόνο επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα φάνηκε να παρουσιάζει μικρή αύξηση με αύξηση της ροής του αερίου He από 1-5 L/min. Ωστόσο, χαμηλότερες τιμές pH επιτεύχθηκαν στη ροή 1 L/min, παρά το γεγονός ότι το pH στη ροή 5 L/min μειώνεται με ελάχιστα γρηγορότερο ρυθμό με αύξηση του χρόνου επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα. Η τιμή pH του ενεργοποιημένου με πλάσμα νερού μειώθηκε από 6.886 σε 4.475, 4.253 και 4.003 σε χρόνο επεξεργασίας 20 min και για ροές αερίου 5, 3 και 1 L/min

αντίστοιχα. Στη διεθνή βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί και υψηλότεροι ρυθμοί μείωσης του pH, καθώς η μείωση του pH εξαρτάται από τη διατάξη και το αέριο που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του ψυχρού πλάσματος. Χαρακτηριστικά, οι Ikawa et al. (2010) που χρησιμοποίησαν αέριο ήλιο για την παραγωγή του ψυχρού πλάσματος, μέτρησαν σε νερό μείωση του pH σε 4.2 μετά από 5 λεπτά επεξεργασίας.

5.1.4 Μελέτη μεταβολής της αγωγιμότητας συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής πλάσματος
Στο Διάγραμμα 5.9 παρουσιάζεται η μεταβολή της αγωγιμότητας του επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας (0 – 20 min) για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/min.



Διάγραμμα 5.9. Αγωγιμότητα νερού επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα συναρτήσει του χρόνου εφαρμογής (0-20 min) και για ροές αερίου He 1, 3 και 5 L/min

Η αγωγιμότητα του ενεργοποιημένου νερού παρουσίασε αύξηση συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα για ροές αερίου 1, 3 και 5 L/min. Η αγωγιμότητα του νερού συναρτήσει του χρόνου επεξεργασίας φάνηκε να ακολουθεί κινητική μηδενικής τάξης (Εξίσωση 5.3).

$$\text{Cond} = ktr + \text{Cond}_0 \text{ (Εξίσωση 5.3)}$$

Όπου, Cond η αγωγιμότητα του νερού, Cond₀ η αγωγιμότητα του απεσταγμένου νερού και k η σταθερά του ρυθμού μεταβολή της αγωγιμότητας του νερού με το χρόνο επεξεργασίας (tr).

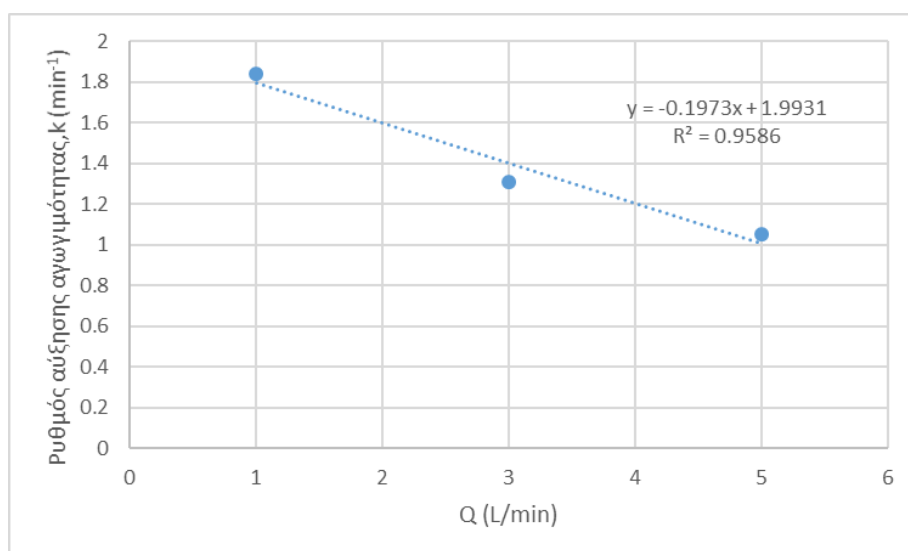
Στον Πίνακα 5.3 παρατίθενται οι σταθερές των ρυθμών αύξησης της αγωγιμότητας του επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού για ροές αερίου 1, 3 και 5 L/min.

Πίνακας 5.3. Ρυθμοί αύξησης αγωγιμότητας του ενεργοποιημένου νερού με το χρόνο επεξεργασίας, k

Ροή (L/min)	Ρυθμός k (min^{-1})	Standard Error
1	1.8431	0.1134
3	1.3066	0.0724
5	1.054	0.0915

Ο ρυθμός αύξησης της αγωγιμότητας του επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού με το χρόνο επεξεργασίας παρουσίασε μείωση με αύξηση της ροής του αερίου He. Η αγωγιμότητα που επιτεύχθηκε μετά από 20 λεπτά επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα ήταν 53, 40 και 34 μS για τις ροές 1, 3 και 5 L/min αντίστοιχα. Οι αγωγιμότητες του ενεργοποιημένου νερού διαφέρουν αρκετά στη βιβλιογραφία. Οι τιμές αγωγιμότητας στη βιβλιογραφία όσον αφορά την παραγωγή πλάσματος με τζετ κυμαίνονται από 18.8 μS (Tian et al., 2015) έως και 450 μS (Ma et al., 2015). Όπως φαίνεται και από τους ρυθμούς αύξησης της αγωγιμότητας (k), η ροή επηρεάζει την αύξηση της.

Η αύξηση του ρυθμού k με μείωση της ροής του αερίου περιγράφεται, επίσης από τη γραμμική συνάρτηση $k = -0.1973Q + 1.9931$ (Εξίσωση 5.4), όπου Q είναι η ροή του αερίου, όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 5.10.

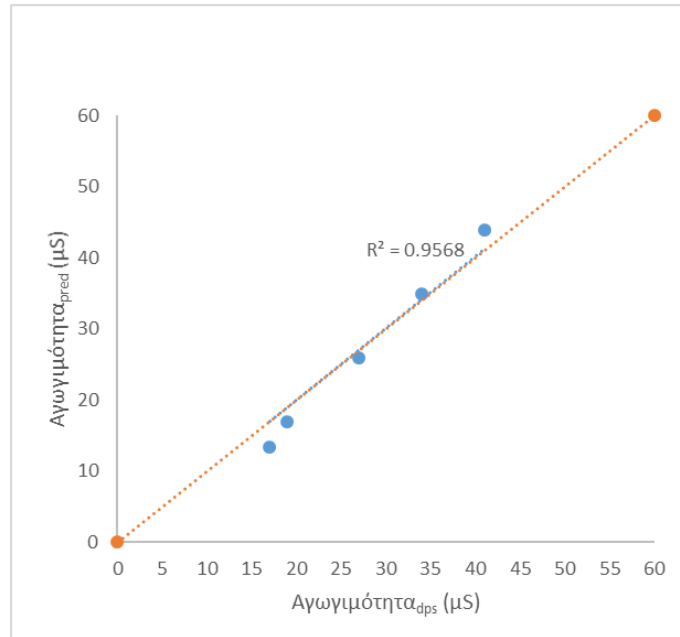


Διάγραμμα 5.10 Ρυθμός αύξησης της αγωγιμότητας συναρτήσει της ροής He

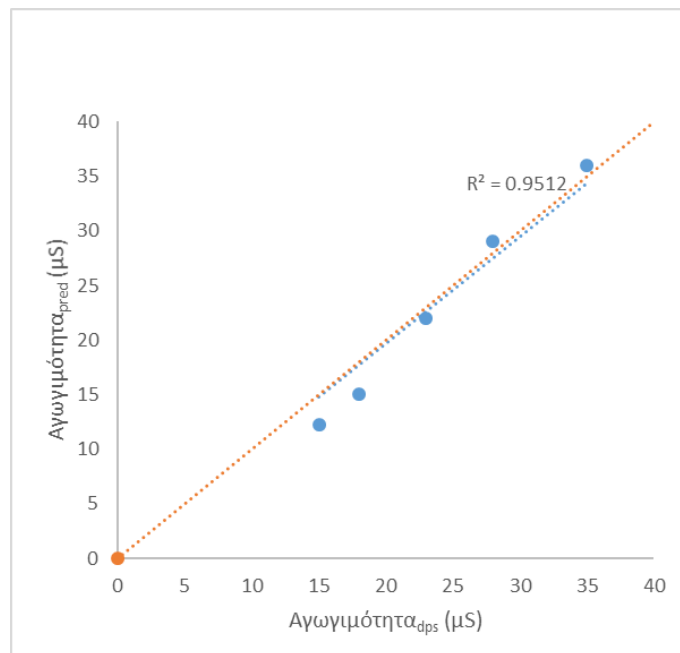
Με αντικατάσταση της Εξίσωσης 5.4 στην Εξίσωση 5.3 προκύπτει η Εξίσωση 5.5 μέσω της οποίας μπορεί να εξαχθεί η θεωρητική τιμή της αγωγιμότητας.

$$Cond = -0.1973Q \times t + 1.9931t + Cond_0 \quad (\text{Εξίσωση 5.5})$$

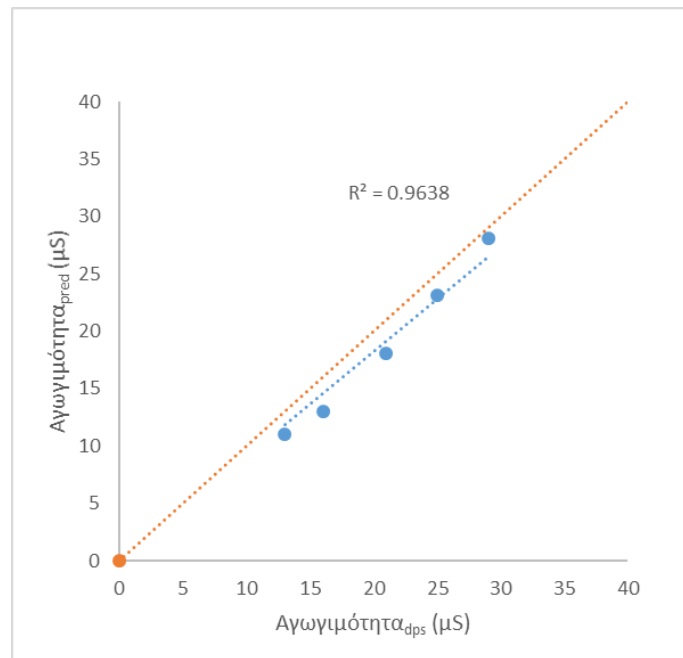
Στα διαγράμματα 5.11 – 5.13 παρουσιάζεται η συσχέτιση μεταξύ των πειραματικών και των θεωρητικών τιμών της αγωγιμότητας για τις διάφορες ροές που προέκυψαν από το μοντέλο που εξήχθηκε.



Διάγραμμα 5.11. Συσχέτιση θεωρητικών και πειραματικών τιμών αγωγιμότητας για ροή 1 L/min



Διάγραμμα 5.12. Συσχέτιση θεωρητικών και πειραματικών τιμών αγωγιμότητας για ροή 3 L/min



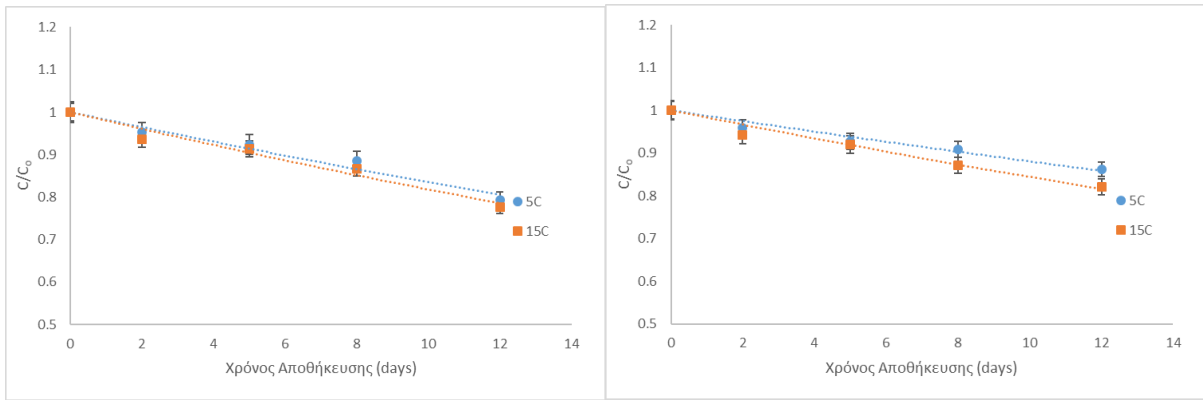
Διάγραμμα 5.13. Συσχέτιση θεωρητικών και πειραματικών τιμών αγωγιμότητας για ροή 5 L/min

Παρατηρείται πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ των πειραματικών και θεωρητικών τιμών της αγωγιμότητας σε όλες τις ροές, με συντελεστή συσχέτισης, R^2 0.9568, 0.9512 και 0.9638 για τις ροές 1, 3 και 5 L/min αντίστοιχα.

5.2 Κινητική μελέτη αντιστρεπτότητας ενεργοποιημένου νερού

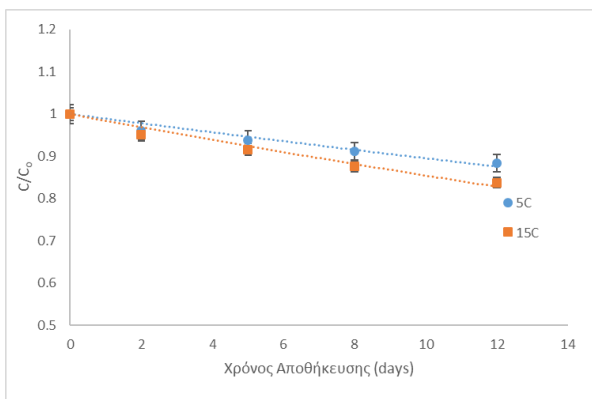
5.2.1 Συγκέντρωση υπεροξειδίου κατά την αποθήκευση

Στα Διαγράμματα 5.14 – 5.16 φαίνεται η μείωση της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου σε θερμοκρασίες 5 και 15°C για τις ροές αερίου He 1, 3 και 5 min και χρόνους επεξεργασίας (1-20 min).

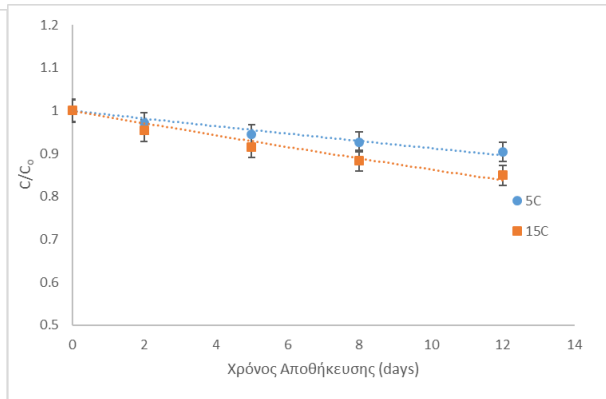


(α)

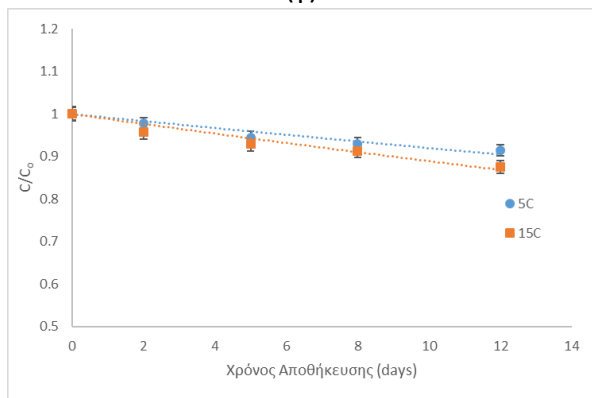
(β)



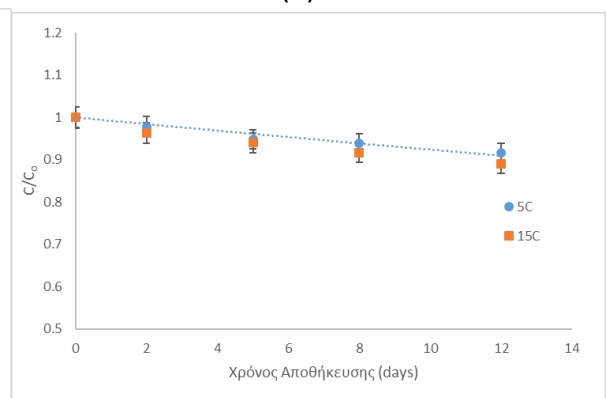
(γ)



(δ)

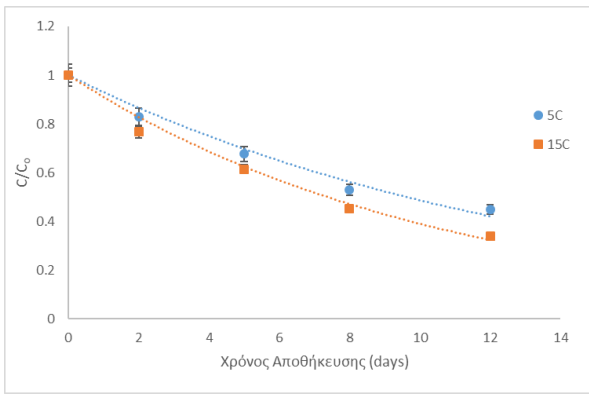


(ε)

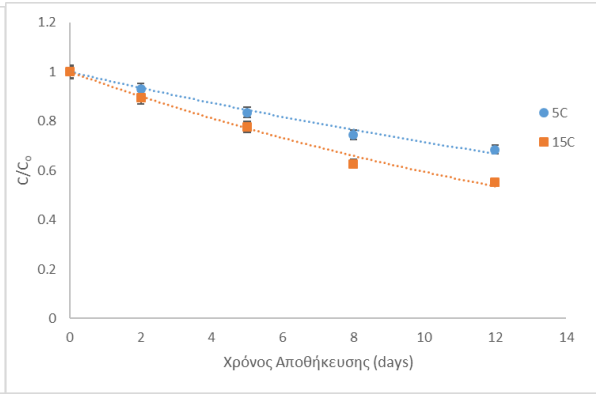


(ζ)

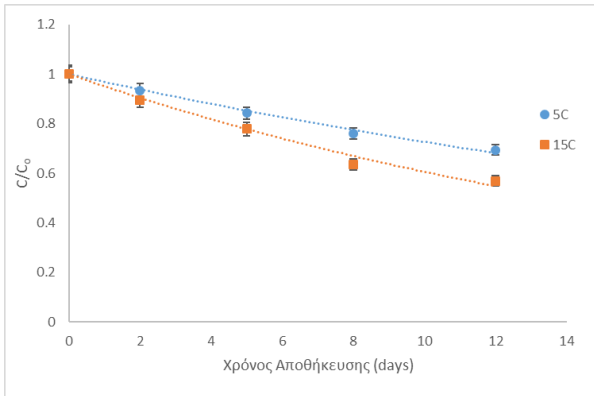
Διάγραμμα 5.14 Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης σε θερμοκρασίες 5 και 15 °C για ροή αερίου He 1 L/min και χρόνο εφαρμογής ψυχρού πλάσματος α) 1 min, β) 3 min, γ) 5 min, δ) 10 min, ε) 15 min και ζ) 20 min.



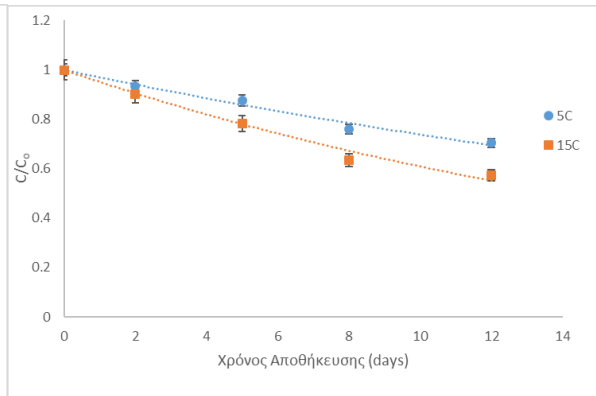
(α)



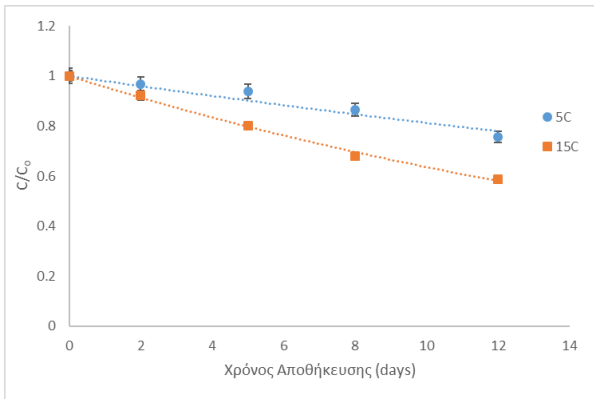
(β)



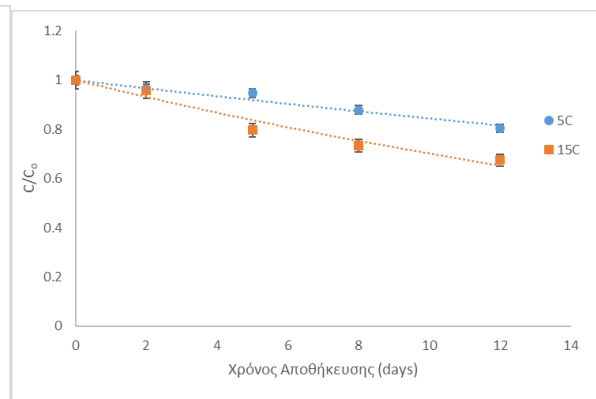
(γ)



(δ)

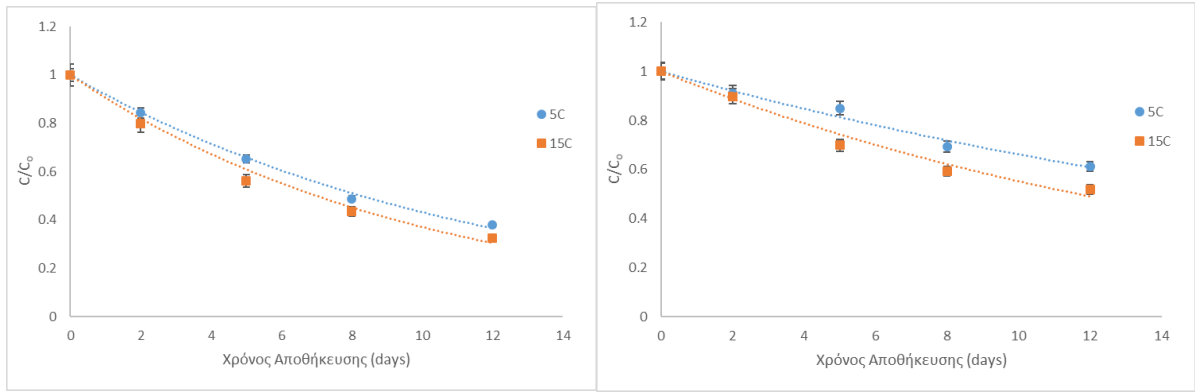


(ε)



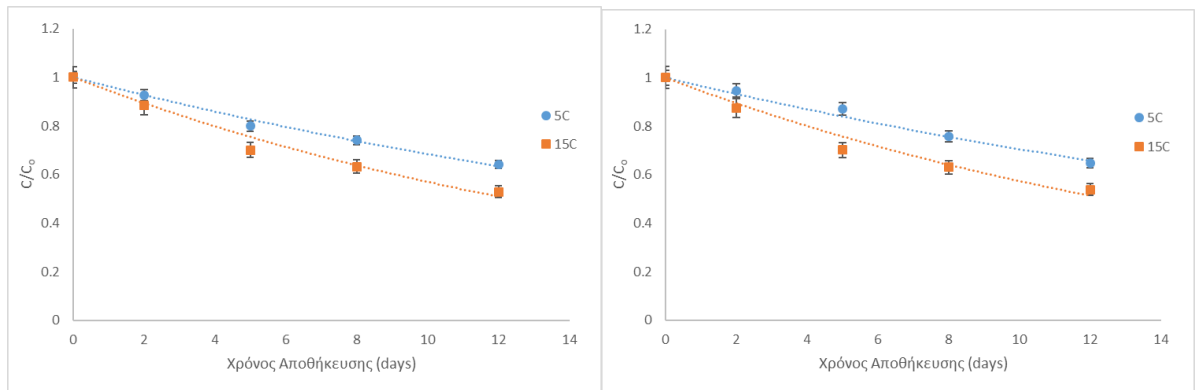
(ζ)

Διάγραμμα 5.15 Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης σε θερμοκρασίες 5 και 15 °C για ροή αερίου He 3 L/min και χρόνο εφαρμογής ψυχρού πλάσματος α) 1 min, β) 3 min, γ) 5 min, δ) 10 min, ε) 15 min και ζ) 20 min.



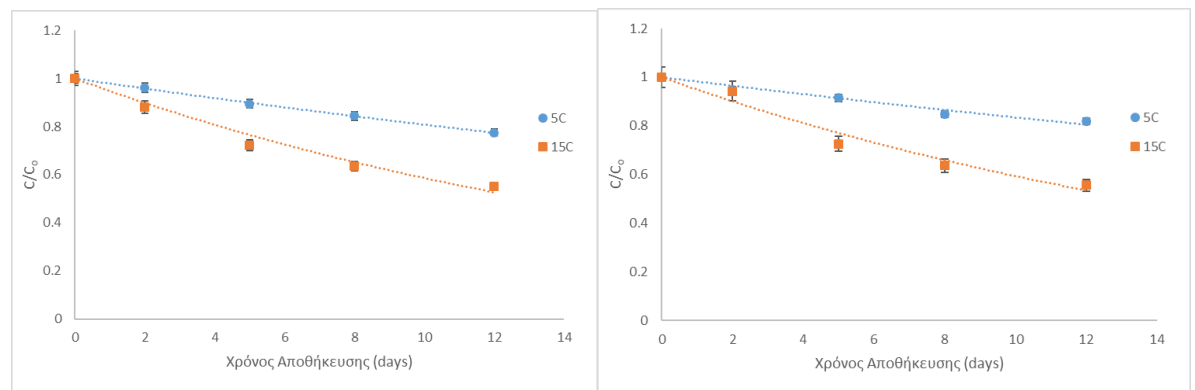
(α)

(β)



(γ)

(δ)



(ε)

(ζ)

Διάγραμμα 5.16 Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης σε θερμοκρασίες 5 και 15 °C για ροή αερίου He 5 L/min και χρόνο εφαρμογής ψυχρού πλάσματος α) 1 min, β) 3 min, γ) 5 min, δ) 10 min, ε) 15 min και ζ) 20 min.

Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού μειώθηκε συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης και στις δύο θερμοκρασίες αποθήκευσης σε όλα τα δείγματα που μελετήθηκαν. Η μείωση της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου με το χρόνο αποθήκευσης φάνηκε να ακολουθεί κινητική πρώτης τάξης και να περιγράφεται καλύτερα από την εκθετική συνάρτηση (Εξίσωση 5.6).

$$CH_2O_2 = e^{k*ts} \text{ (Εξίσωση 5.6)}$$

Όπου, CH_2O_2 η συγκέντρωση υπεροξειδίου του επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού και k η σταθερά του ρυθμού μεταβολής της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου με το χρόνο αποθήκευσης (ts).

Με χρήση της Εξίσωσης 5.6 υπολογίστηκαν οι σταθερές των ρυθμών μείωσης της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου κατά την αποθήκευση του επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού με χρήση ροής αερίου He 1-5 L/min και για χρόνους επεξεργασίας 1-20 min (Πίνακας 5.4).

Πίνακας 5.4. Σταθερές ρυθμών μείωσης συγκέντρωσης υπεροξειδίου, k ($days^{-1}$) κατά την αποθήκευση του επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού με χρήση ροής αερίου He 1-5 L/min και για χρόνους επεξεργασίας 1-20 min

Ροή (L/min)	1		3		5	
Χρόνος Επεξεργασίας (min)	5°C	15°C	5°C	15°C	5°C	15°C
1	0.01797 (0.0019*)	0.02009 (0.0021)	0.07194 (0.0051)	0.09396 (0.0047)	0.08376 (0.0034)	0.09903 (0.0057)
3	0.01272 (0.0011)	0.01694 (0.0013)	0.03352 (0.0022)	0.05198 (0.0035)	0.04133 (0.0034)	0.05939 (0.0055)
5	0.01107 (0.0009)	0.01573 (0.0011)	0.03193 (0.0016)	0.0501 (0.0039)	0.03809 (0.0021)	0.05631 (0.0046)
10	0.00915 (0.0008)	0.01473 (0.0013)	0.0303 (0.0024)	0.04954 (0.0041)	0.03489 (0.0021)	0.05554 (0.0049)
15	0.0083 (0.0010)	0.01172 (0.0012)	0.02078 (0.0029)	0.04526 (0.0017)	0.02129 (0.0004)	0.05344 (0.0041)
20	0.00788 (0.0008)	0.01044 (0.0009)	0.01693 (0.0019)	0.03548 (0.0043)	0.01805 (0.0017)	0.05214 (0.0055)

*Standard Error

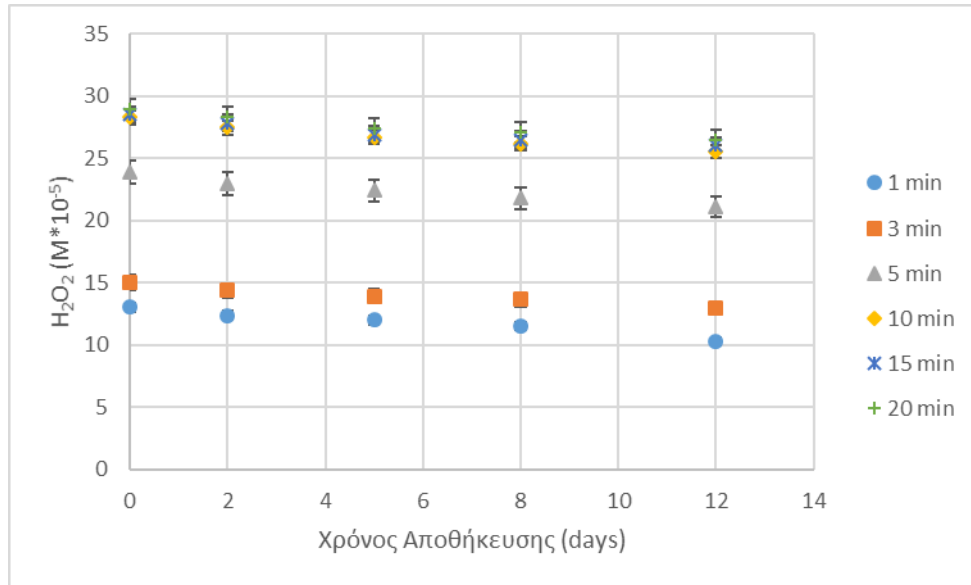
Μέσω της εξίσωσης Arrhenius υπολογίστηκαν οι ενέργειες ενεργοποίησης E_a και οι παράμετροι k_{ref} , για κάθε ροή και χρόνο επεξεργασίας με ψυχρό πλάσμα, ώστε να βρεθεί η επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στη μείωση της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου.

Πίνακας 5.5. Ενέργειες ενεργοποίησης, E_a και παράμετροι, k_{ref} ($T_{ref}=10^{\circ}C$) ρυθμού μείωσης της συγκέντρωσης υπεροξειδίου του ενεργοποιημένου νερού με το χρόνο αποθήκευσης για κάθε ροή και χρόνο επεξεργασίας με πλάσμα

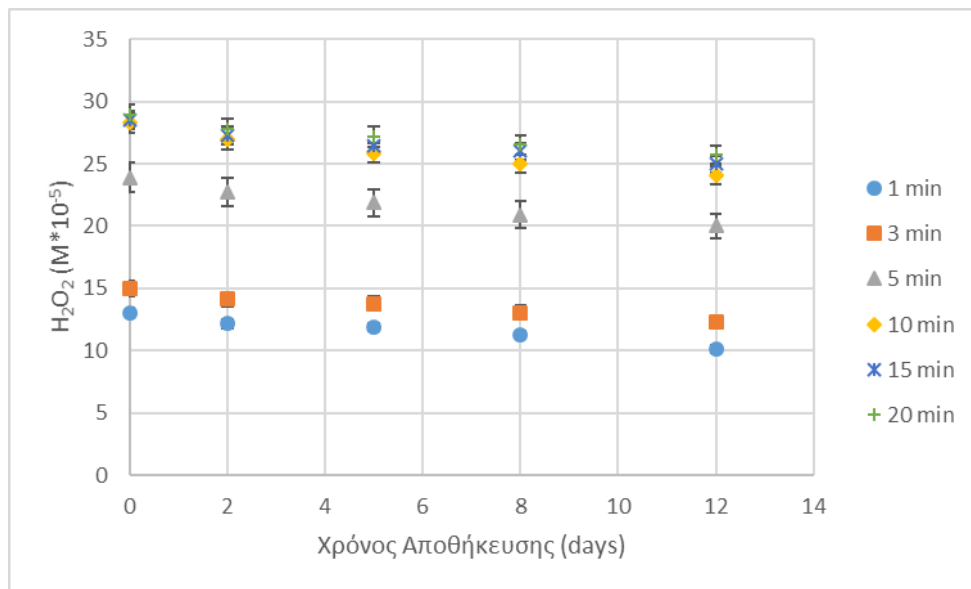
Ροή (L/min)	1		3		5	
Χρόνος Επεξεργασίας (min)	E_a (kJ/mol)	$k_{ref} (\frac{1}{days})$	E_a (kJ/mol)	$k_{ref} (\frac{1}{days})$	E_a (kJ/mol)	$k_{ref} (\frac{1}{days})$
1	7.4	0.0190	17.8	0.0824	11.2	0.0912
3	19.1	0.0147	29.2	0.0419	24.2	0.0497
5	23.4	0.0132	30.0	0.0402	26.0	0.0465
10	31.7	0.0117	32.8	0.0389	30.9	0.0442
15	22.8	0.0099	51.9	0.0309	61.3	0.0340
20	18.7	0.0091	49.3	0.0247	70.7	0.0309

Από τον Πίνακα 5.5 παρατηρείται ότι η ενέργεια ενεργοποίησης αυξάνεται με αύξηση του χρόνου επεξεργασίας και της ροής αερίου He. Χαρακτηριστικά, η θερμοκρασία αποθήκευσης φαίνεται να μην εμφανίζει επίδραση στο ρυθμό μείωσης της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου σε νερό που επεξεργάστηκε με ψυχρό πλάσμα για 1 min σε ροή αερίου 1 L/min. Αντιθέτως, η θερμοκρασία επιδρά στο ρυθμό μείωσης της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου σε νερό που επεξεργάστηκε με ψυχρό πλάσμα για 20 min σε ροή αερίου 5 L/min. Στις ροές 1 και 3 L/min η ενέργεια ενεργοποίησης μπορεί να θεωρηθεί σταθερή μετά τα 15 min επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα, που σημαίνει ότι η επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης είναι ίδια σε κάθε περίπτωση. Οι σταθερές των ρυθμών μεταβολής της συγκέντρωσης υπεροξειδίου στη θερμοκρασία αναφοράς k_{ref} ($T_{ref}=10^{\circ}C$) μειώνονται σε μεγαλύτερους χρόνους επεξεργασίας και χαμηλότερες ροές αερίου.

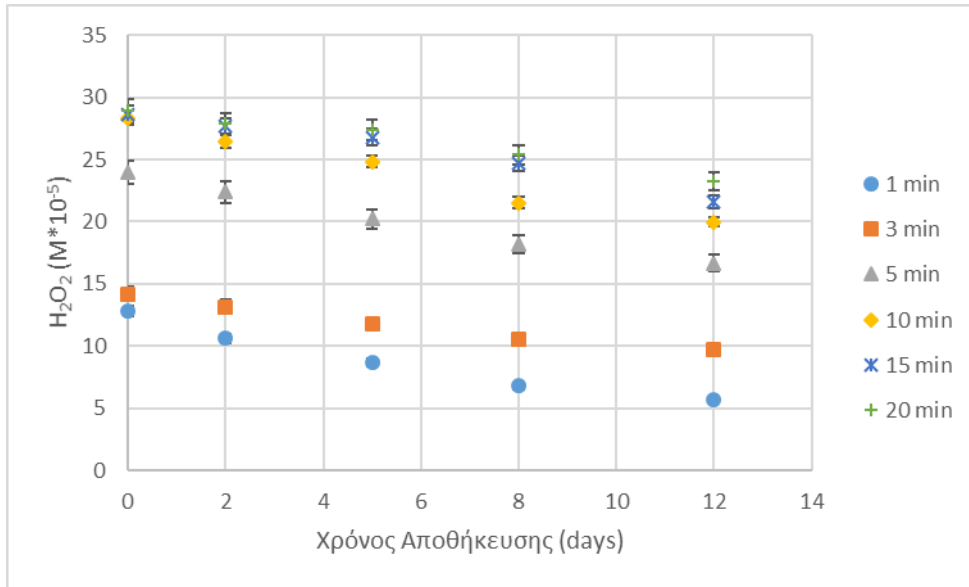
Στα Διαγράμματα 5.17 – 5.22 γίνεται σύγκριση της επίδρασης του χρόνου επεξεργασίας του νερού στη διατηρησιμότητα της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου κατά την αποθήκευση για κάθε ροή επεξεργασίας και θερμοκρασία αποθήκευσης.



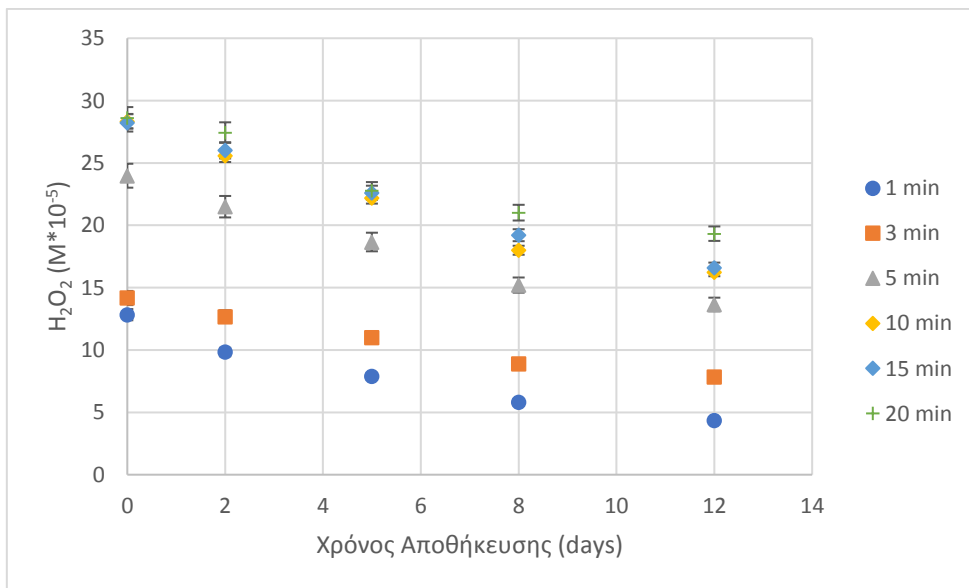
Διάγραμμα 5.17. Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης $5^{\circ}C$.



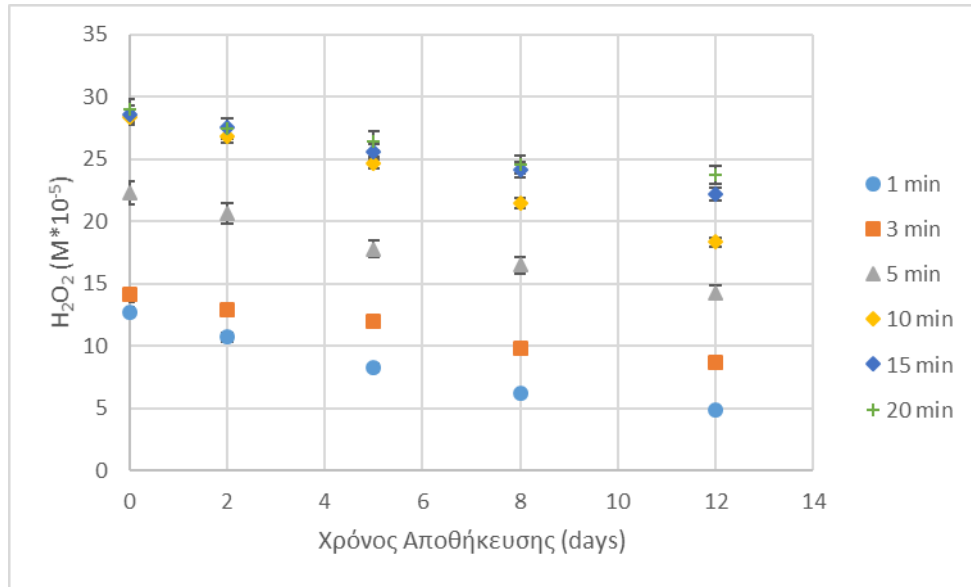
Διάγραμμα 5.18. Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης $15^{\circ}C$.



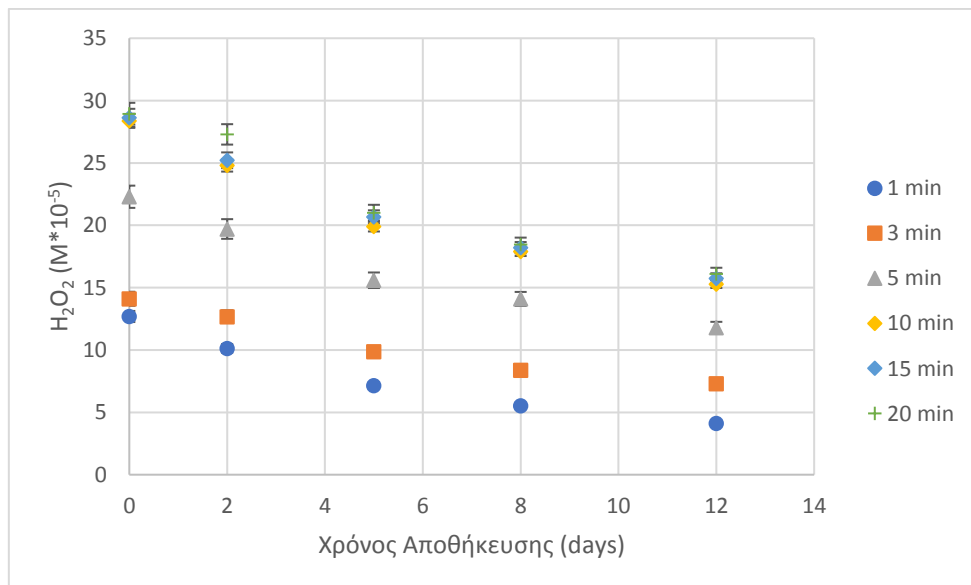
Διάγραμμα 5.19. Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης $5^\circ C$.



Διάγραμμα 5.20. Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης $15^\circ C$.



Διάγραμμα 5.21. Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.

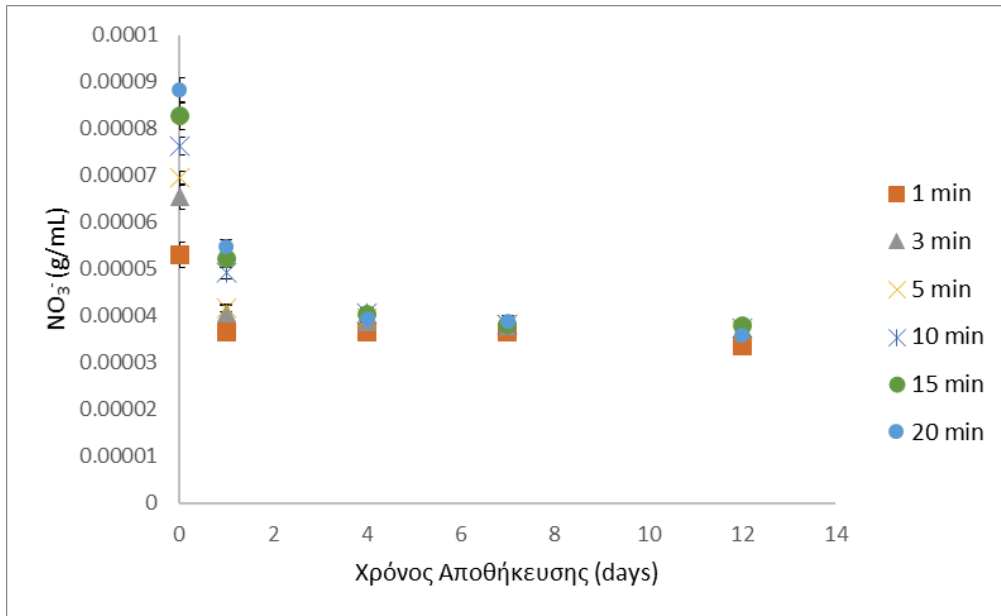


Διάγραμμα 5.22. Συγκέντρωση υπεροξειδίου συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.

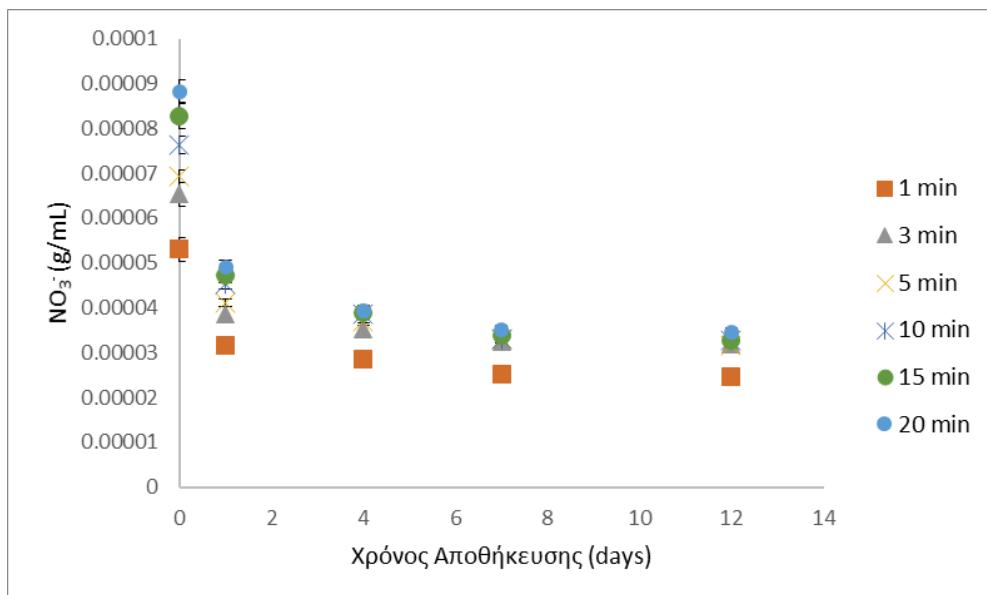
Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου, όπως γίνεται αντιληπτό από τα διαγράμματα και από τους ρυθμούς μεταβολής (k) στον Πίνακα 5.4 μειώθηκε με πολύ πιο αργό ρυθμό στη ροή 1 L/min σε αντίθεση με τις άλλες δύο ροές που μελετήθηκαν. Ο χρόνος επεξεργασίας παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στο ρυθμό μείωσης της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου, καθώς το νερό που επεξεργάστηκε για 20 min με ψυχρό πλάσμα και ροή αερίου He 1 L/min διατηρεί σε μεγάλο βαθμό τη συγκέντρωση υπεροξειδίου σε διάστημα 12 ημερών. Πιο συγκεκριμένα, στο νερό με χρόνο επεξεργασίας 20 min και ροή αερίου 1 L/min η μείωση στη συγκέντρωση του υπεροξειδίου μετά από 12 μέρες ήταν 8% σε αντίθεση με το νερό σε ίδιο χρόνο επεξεργασίας και ροή 5 L/min που ήταν 18%.

5.2.2 Μελέτη της μεταβολής της συγκέντρωσης νιτρικών και νιτρωδών ιόντων επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού κατά την αποθήκευση

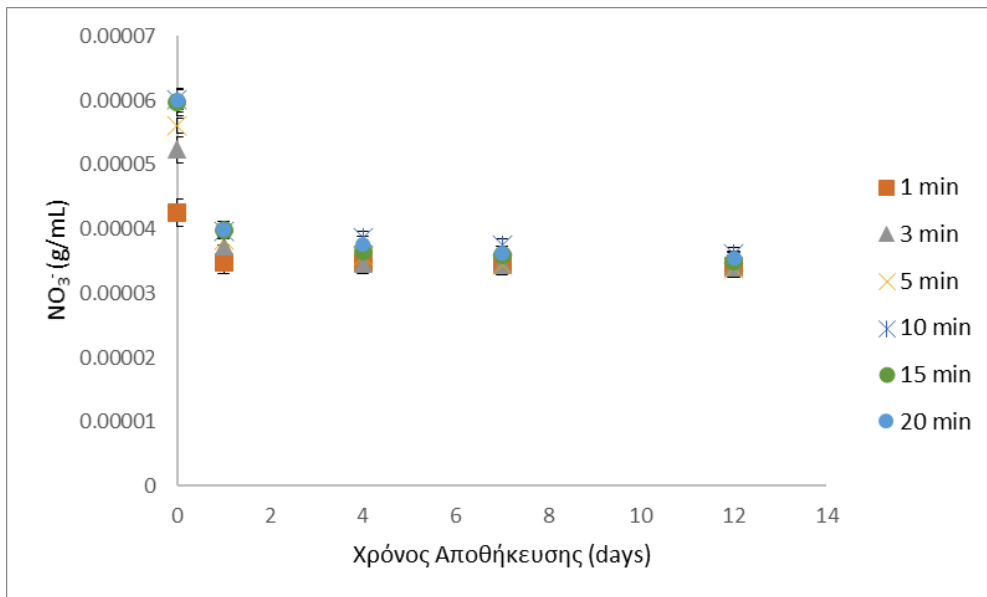
Στα Διαγράμματα 5.23 – 5.28 γίνεται σύγκριση της επίδρασης του χρόνου επεξεργασίας του νερού στη διατηρησιμότητα της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων του κατά την αποθήκευση για κάθε ροή επεξεργασίας και θερμοκρασία αποθήκευσης που μελετήθηκαν.



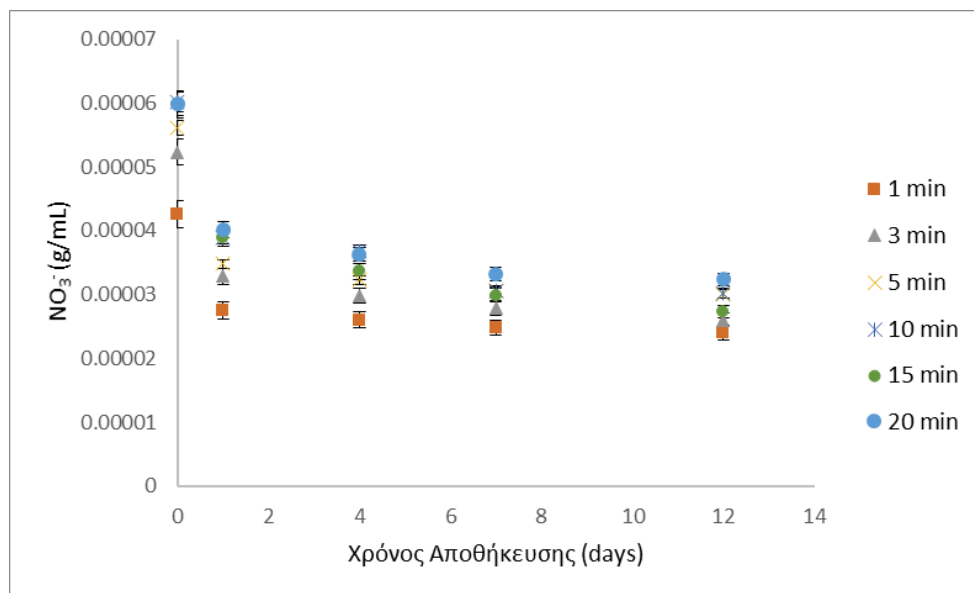
Διάγραμμα 5.23 Συγκέντρωση νιτρικών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



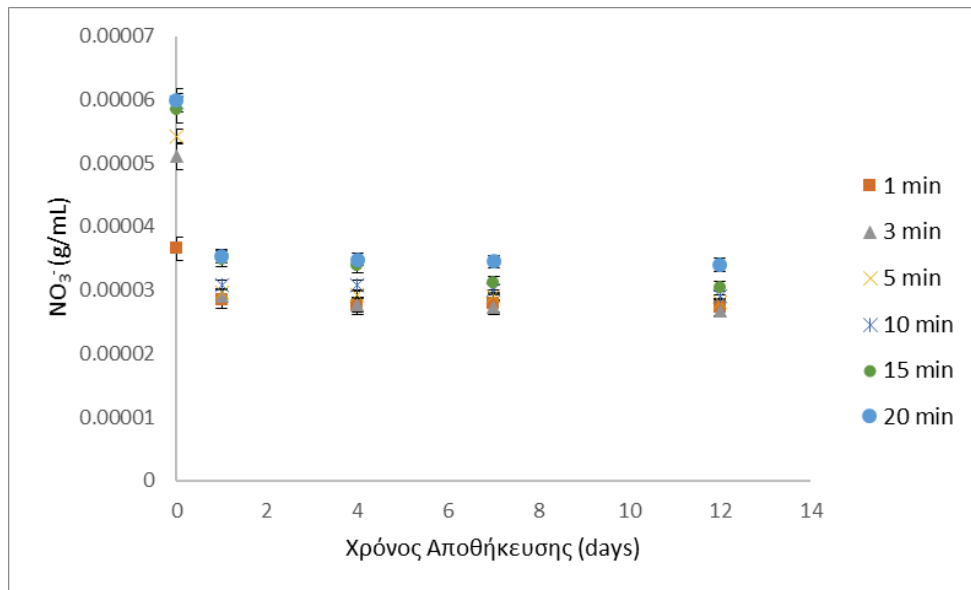
Διάγραμμα 5.24 Συγκέντρωση νιτρικών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.



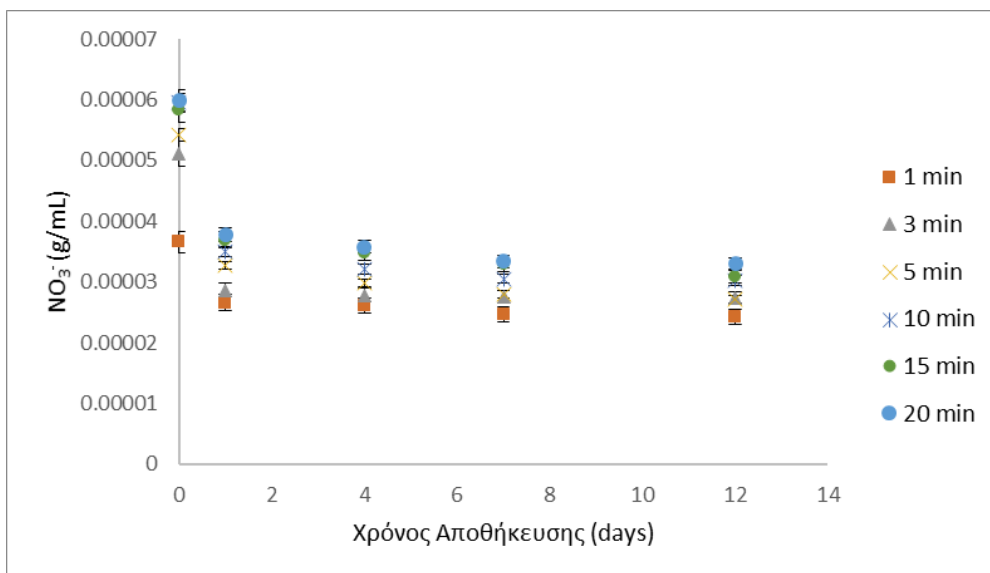
Διάγραμμα 5.25 Συγκέντρωση νιτρικών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



Διάγραμμα 5.26 Συγκέντρωση νιτρικών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.



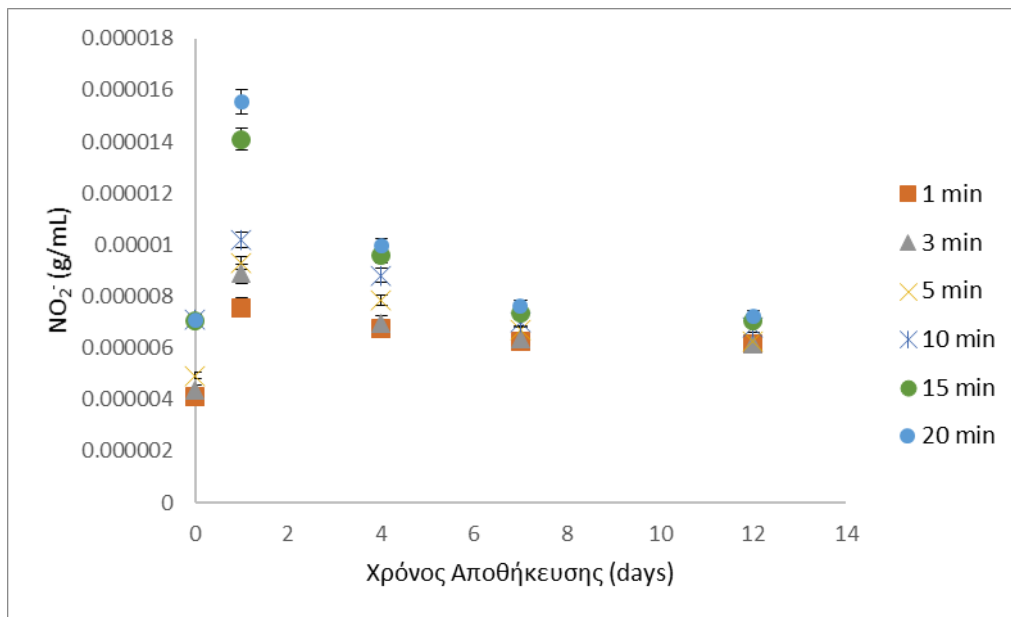
Διάγραμμα 5.27 Συγκέντρωση νιτρικών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



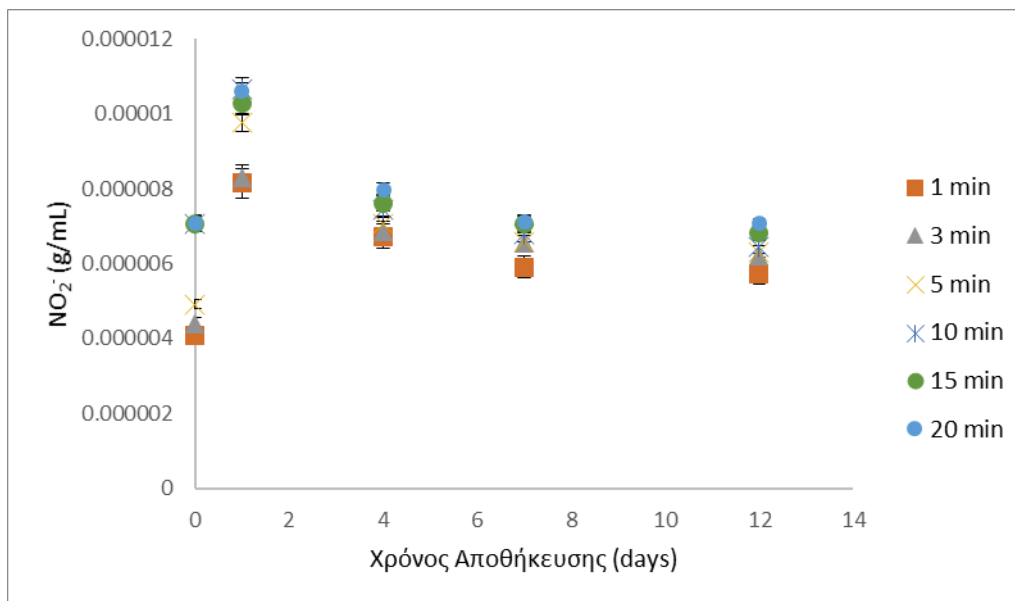
Διάγραμμα 5.28 Συγκέντρωση νιτρικών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.

Παρατηρήθηκε απότομη μείωση των νιτρικών ιόντων στη διάρκεια της πρώτης ημέρας σε όλα τα δείγματα και για κάθε θερμοκρασίας αποθήκευσης. Σε αντίθεση με τη χαμηλό ποσοστό μείωσης που παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση του υπεροξειδίου, η μείωση κυμάνθηκε μεταξύ 40 - 60% σε όλα τα δείγματα και θερμοκρασίες. Σε όλα τα δείγματα επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων φαίνεται να σταθεροποιείται μετά από τις 4 ημέρες αποθήκευσης με ελάχιστη μείωση στη διάρκεια των επόμενων ημερών.

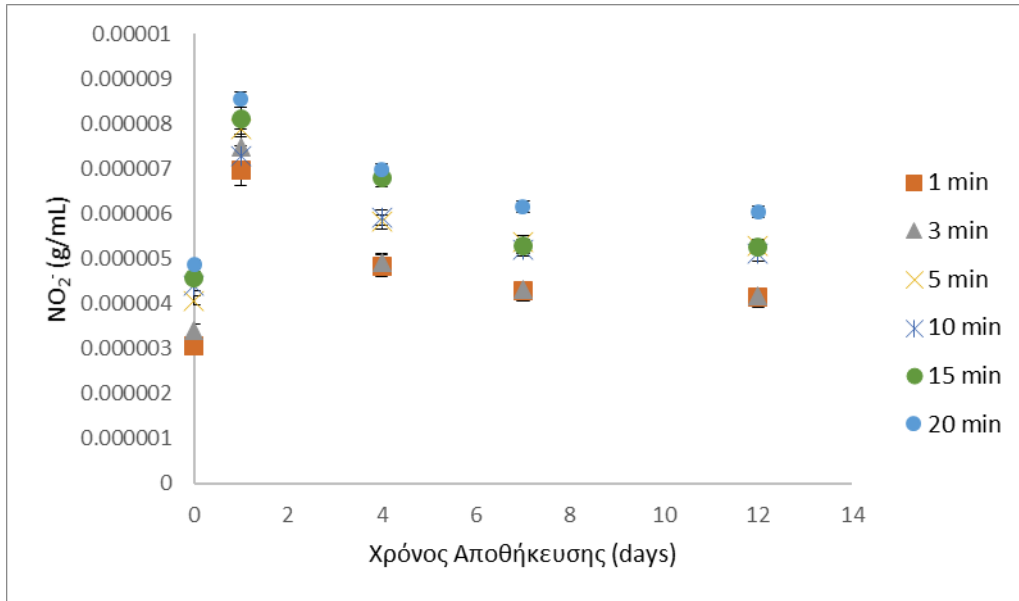
Στα Διαγράμματα 5.29 – 5.34 γίνεται σύγκριση της επίδρασης του χρόνου επεξεργασίας του νερού στη διατηρησιμότητα της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων του κατά την αποθήκευση για κάθε ροή επεξεργασίας και θερμοκρασία αποθήκευσης.



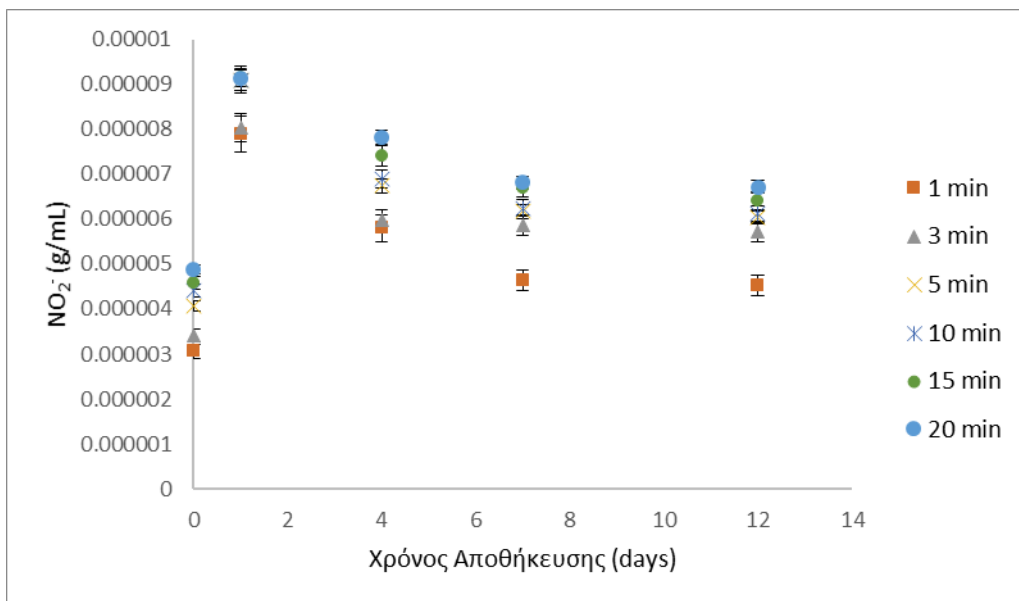
Διάγραμμα 5.29 Συγκέντρωση νιτρικών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



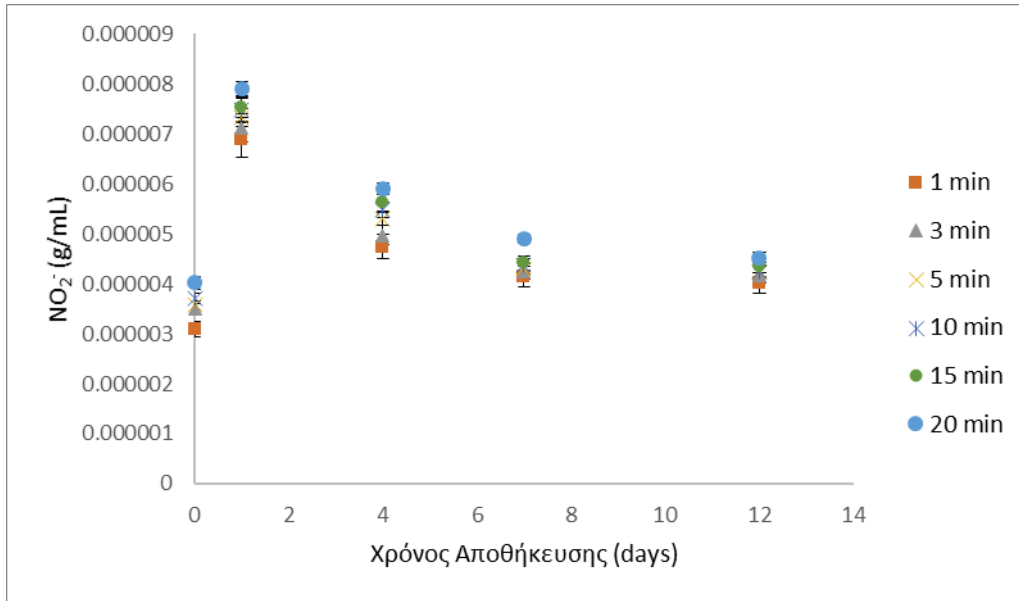
Διάγραμμα 5.30 Συγκέντρωση νιτρικών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.



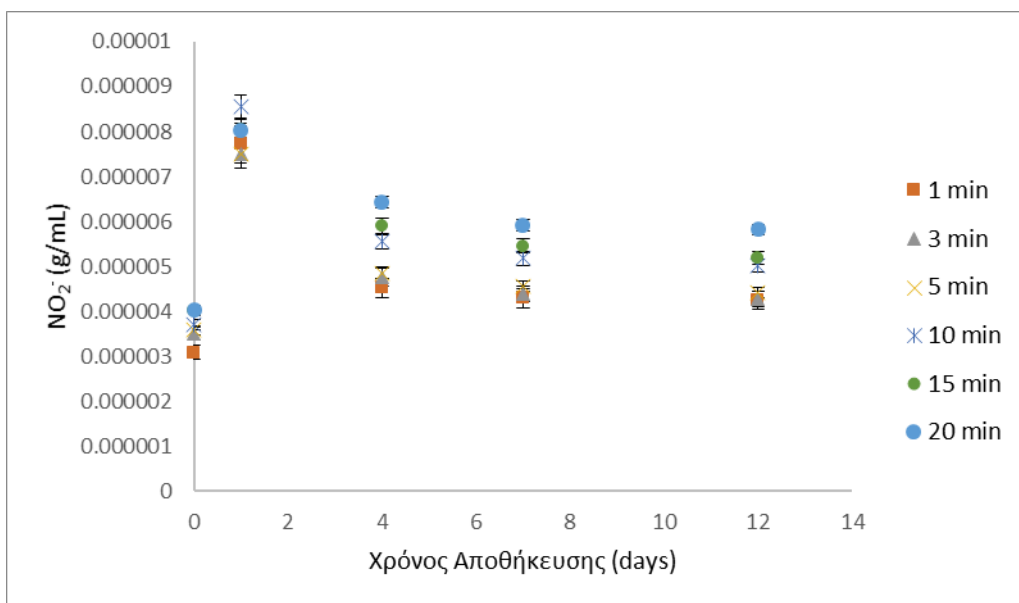
Διάγραμμα 5.31 Συγκέντρωση νιτρωδών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



Διάγραμμα 5.32 Συγκέντρωση νιτρωδών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.



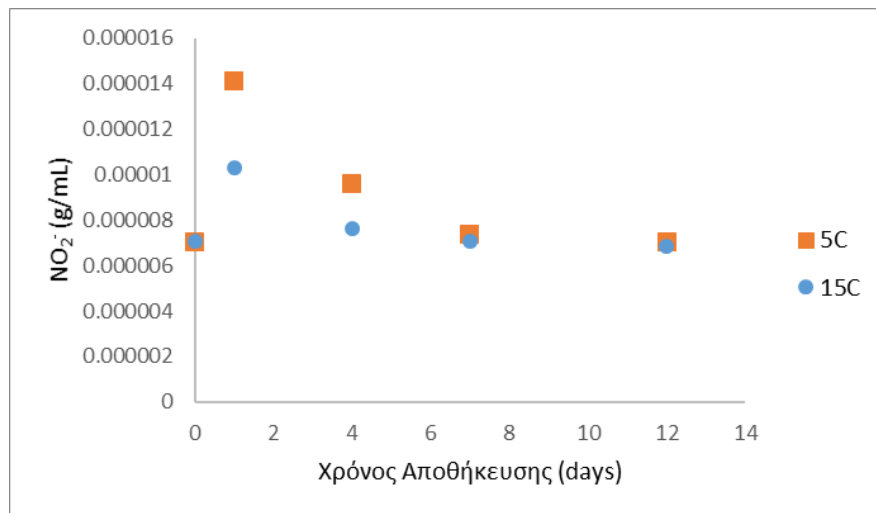
Διάγραμμα 5.33 Συγκέντρωση νιτρωδών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



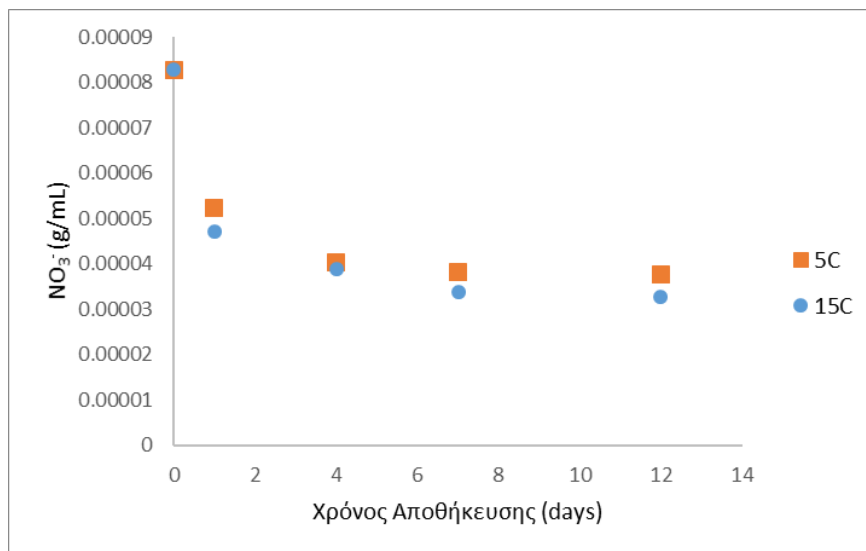
Διάγραμμα 5.34 Συγκέντρωση νιτρωδών συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.

Σε αντίθεση με τα νιτρικά ιόντα, στη διάρκεια της πρώτης ημέρας σε όλα τα δείγματα και για κάθε θερμοκρασίας αποθήκευσης η συγκέντρωση των νιτρωδών παρουσίασε αύξηση. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε κάποιου είδους αντίδραση, η οποία δεν έχει ερευνηθεί ακόμα, καθώς πρόκειται για μια νέα τεχνολογία, η οποία βρίσκεται ακόμα σε ερευνητικό επίπεδο και η χημεία του ενεργοποιημένου νερού είναι αρκετά πολύπλοκη. Στις 4 ημέρες, εμφανίστηκε απότομη μείωση της συγκέντρωσης των νιτρωδών ιόντων και στη διάρκεια των επόμενων ημέρων παρέμεινε πρακτικά σταθερή. Το φαινόμενο αυτό είναι χαρακτηριστικό ότι εντοπίζεται σε όλα τα δείγματα σε κάθε συνθήκη. Στα Διαγράμματα 5.35 και 5.36, φαίνεται η διαφορά στη μεταβολή της συγκέντρωσης των νιτρωδών και νιτρικών ιόντων για

διαφορετικές θερμοκρασίες αποθήκευσης σε νερό που επεξεργάστηκε για 15 min με ψυχρό πλάσμα και για ροή He 1 L/min. Στο Διάγραμμα 5.35 για τα νιτρώδη ιόντα, φαίνεται στους 5°C η απότομη αύξηση που παρατηρείται στη συγκέντρωση των νιτρωδών ιόντων κατά την αποθήκευση της πρώτης μέρας να είναι μεγαλύτερη, ωστόσο οι συγκεντρώσεις νιτρωδών στις δύο θερμοκρασίες αποθήκευσης καταλήγουν στην ίδια τιμή στο διάστημα των 12 ημερών. Τα νιτρικά ιόντα στους 5°C φαίνεται να διατηρούνται σε ελάχιστα υψηλότερες τιμές σε σύγκριση με τους 15°C.



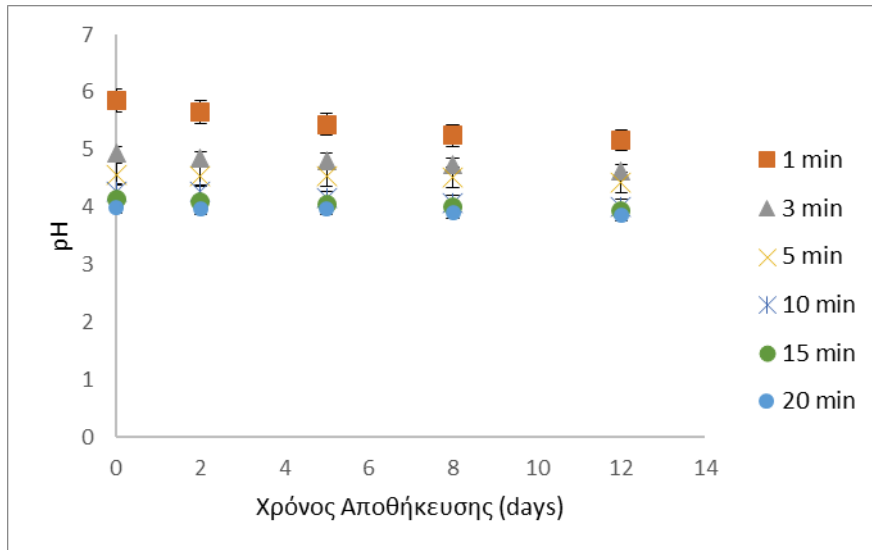
Διάγραμμα 5.35. Συγκέντρωση νιτρωδών ιόντων συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης σε θερμοκρασίες 5 και 15°C



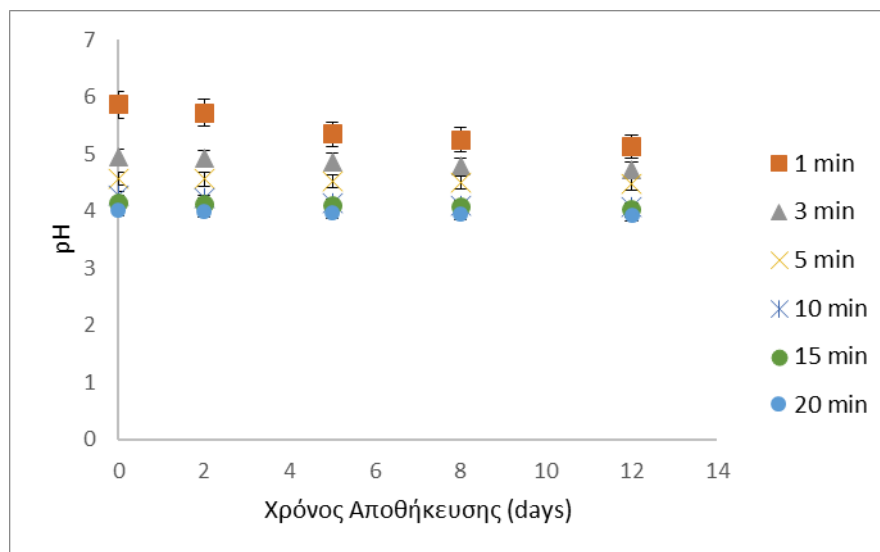
Διάγραμμα 5.36. Συγκέντρωση νιτρικών ιόντων συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης σε θερμοκρασίες 5 και 15°C

5.2.3 Τιμή pH ενεργοποιημένου νερού κατά την αποθήκευση

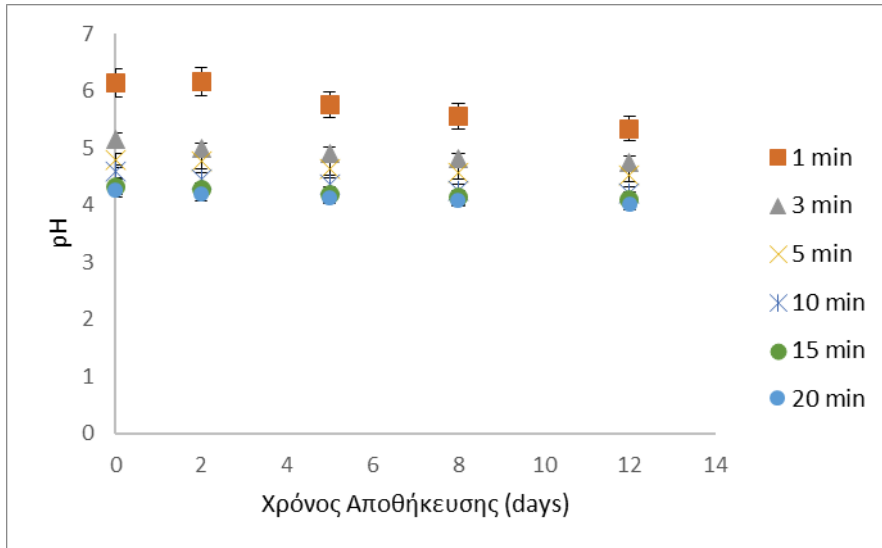
Στα Διαγράμματα 5.37 – 5.42 γίνεται σύγκριση της επίδρασης του χρόνου επεξεργασίας του νερού στη διατηρησιμότητα του pH κατά την αποθήκευση για κάθε ροή επεξεργασίας και θερμοκρασία αποθήκευσης.



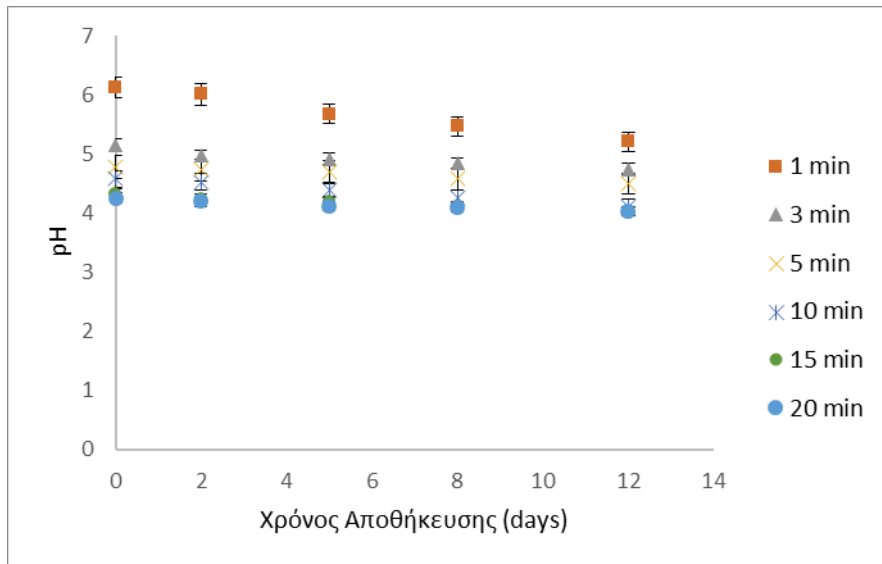
Διάγραμμα 5.37 Τιμή pH ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



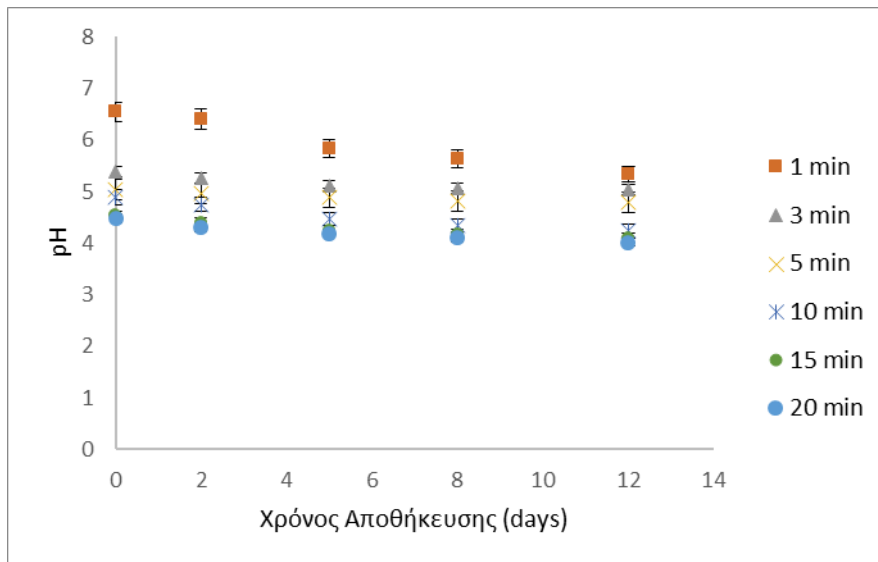
Διάγραμμα 5.38 Τιμή pH ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.



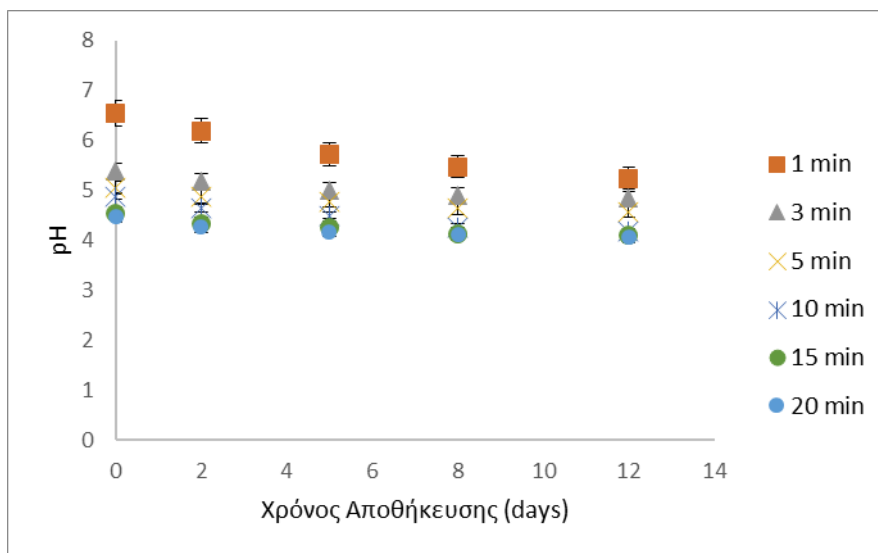
Διάγραμμα 5.39 Τιμή pH ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



Διάγραμμα 5.40 Τιμή pH ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.



Διάγραμμα 5.41 Τιμή pH ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.

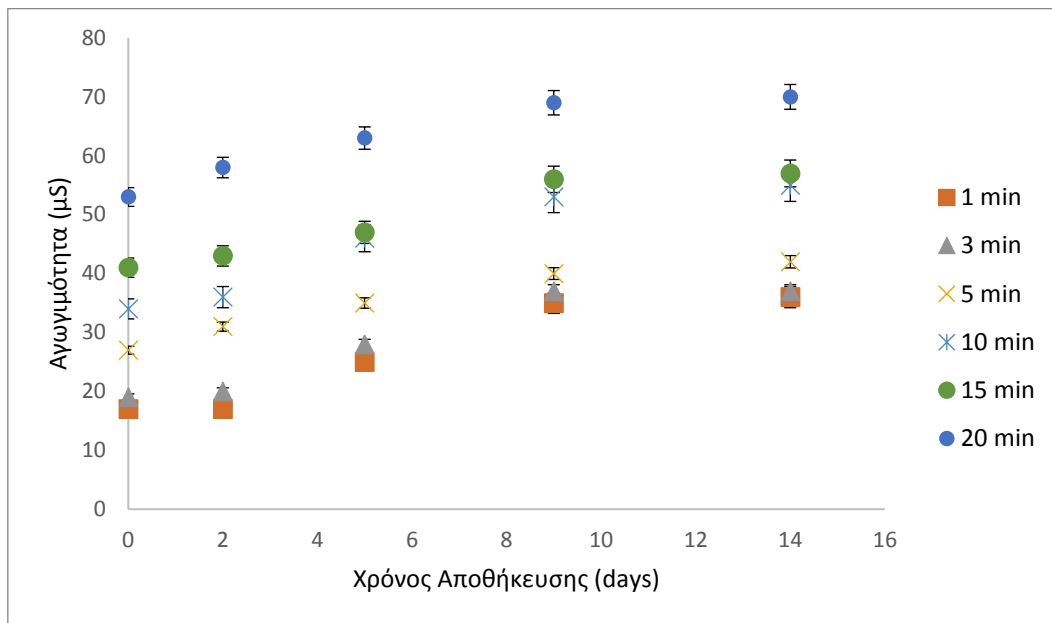


Διάγραμμα 5.42 pH ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης min για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.

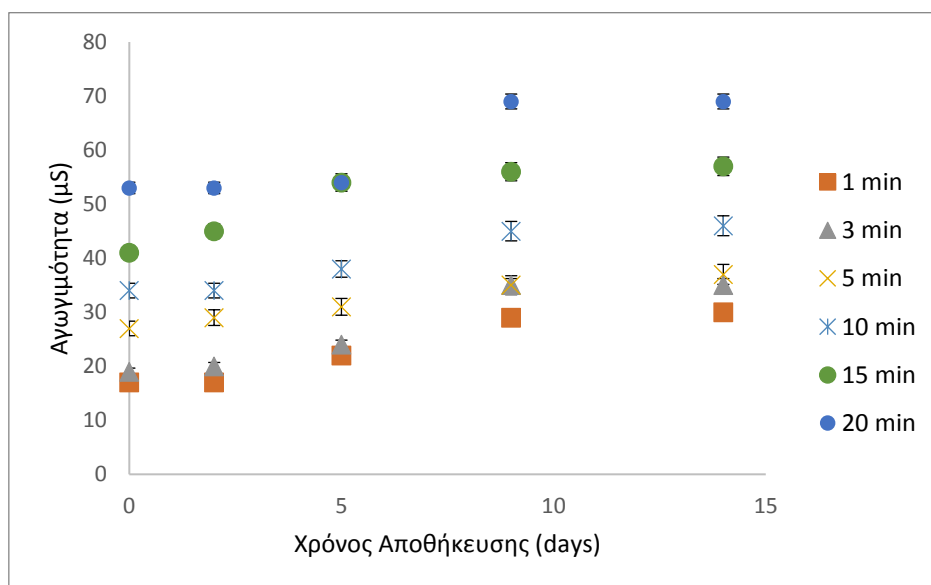
Σύμφωνα με τα διαγράμματα, το pH του ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης φαίνεται να παρουσιάζει μικρή μείωση σε όλα τα δείγματα κατά την αποθήκευση, γεγονός το οποίο μπορεί να οφείλεται στην αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρικών ιόντων που παρατηρήθηκε προηγουμένως ή ακόμα και στο σχηματισμό άλλων ιόντων που επιδρούν στην οξύτητα του ενεργοποιημένου νερού, όπως ο σχηματισμός υπεροξυνιτριδίων (Lukes, 2012). Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε συμφωνία με τις παρατηρήσεις του Shainshky et al. (2012), ο οποίος επίσης παρατήρησε μια μείωση στη τιμή του pH κατά την αποθήκευση.

5.2.4 Αγωγιμότητα ενεργοποιημένου νερού κατά την αποθήκευση

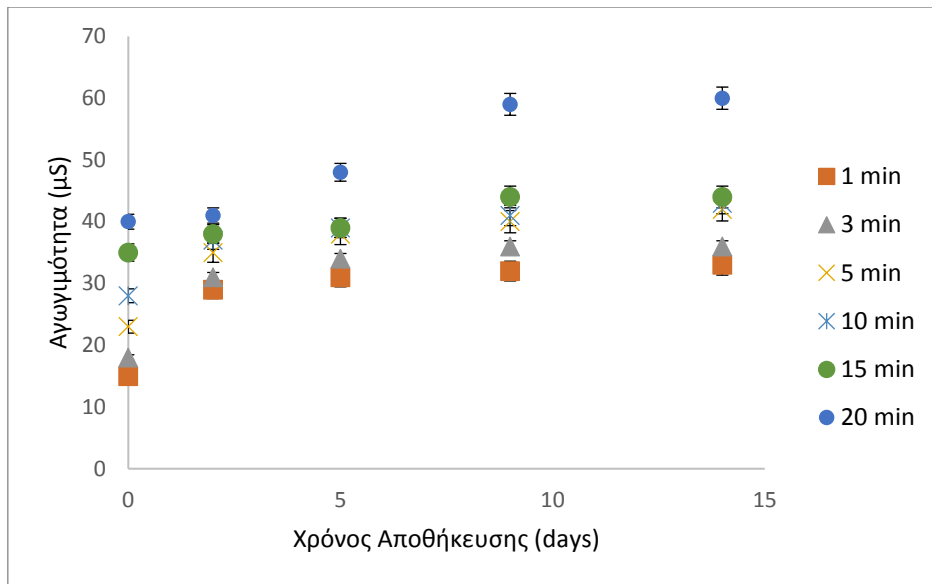
Στα Διαγράμματα 5.43 – 5.48 γίνεται σύγκριση της επίδρασης του χρόνου επεξεργασίας του νερού στη διατηρησιμότητα της αγωγιμότητας του κατά την αποθήκευση για κάθε ροή επεξεργασίας και θερμοκρασία αποθήκευσης.



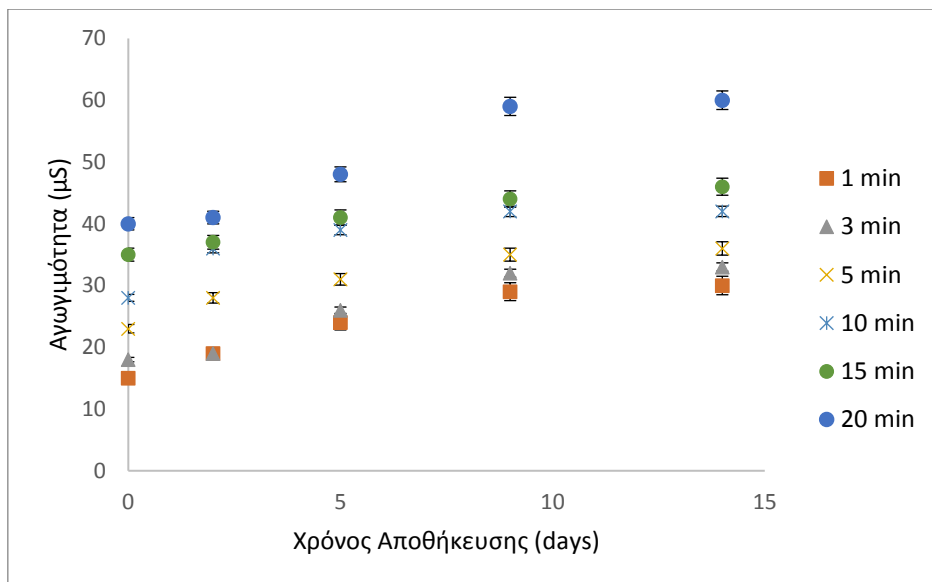
Διάγραμμα 5.43 Αγωγιμότητα ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



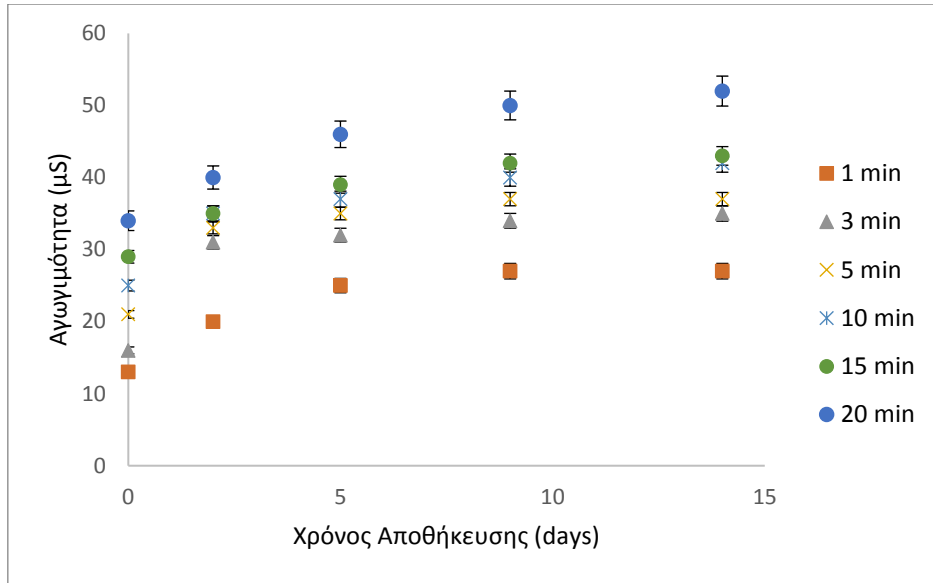
Διάγραμμα 5.44 Αγωγιμότητα ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 1 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.



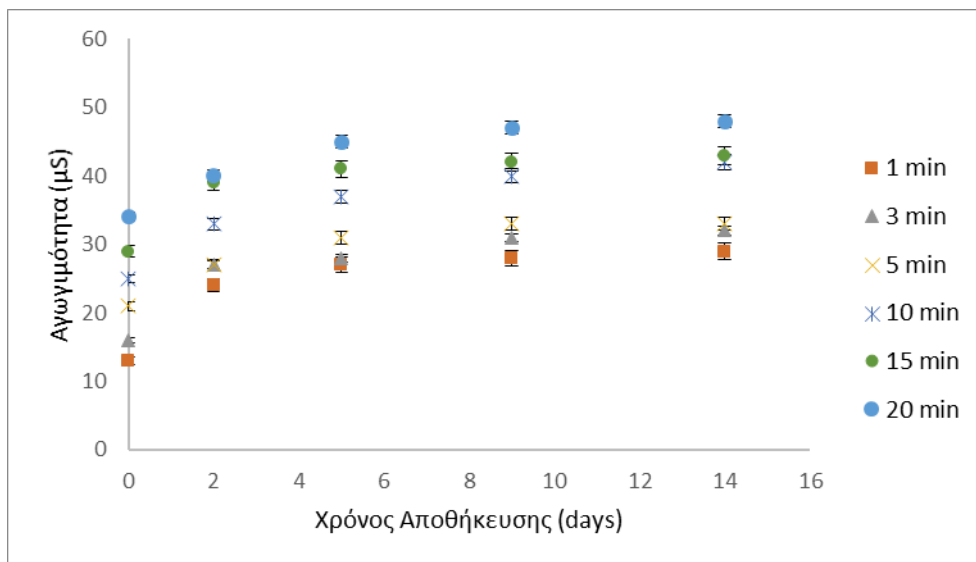
Διάγραμμα 5.45 Αγωγιμότητα ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



Διάγραμμα 5.46 Αγωγιμότητα ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 3 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.



Διάγραμμα 5.47 Αγωγιμότητα ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 5°C.



Διάγραμμα 5.48 Αγωγιμότητα ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει χρόνου αποθήκευσης για ροή αερίου He 5 L/min και θερμοκρασία αποθήκευσης 15°C.

Η αγωγιμότητα του ενεργοποιημένου νερού συναρτήσει του χρόνου αποθήκευσης φάνηκε να αυξάνεται. Το γεγονός αυτό έρχεται σε συμφωνία με τη μικρή μείωση του pH, που όπως αναφέρθηκε μπορεί να οφείλεται στο σχηματισμό υπεροξυνιτριδίων τα οποία οφείλονται και για τη σημαντική αύξηση της αγωγιμότητας. Παρατηρείται, επιπλέον ότι η απότομη αύξηση της αγωγιμότητας συμβαίνει στη διάρκεια των πρώτων ημερών κατά αντιστοιχία με την αύξηση και των νιτρωδών ιόντων που επίσης επιδρούν στην αγωγιμότητα του νερού.

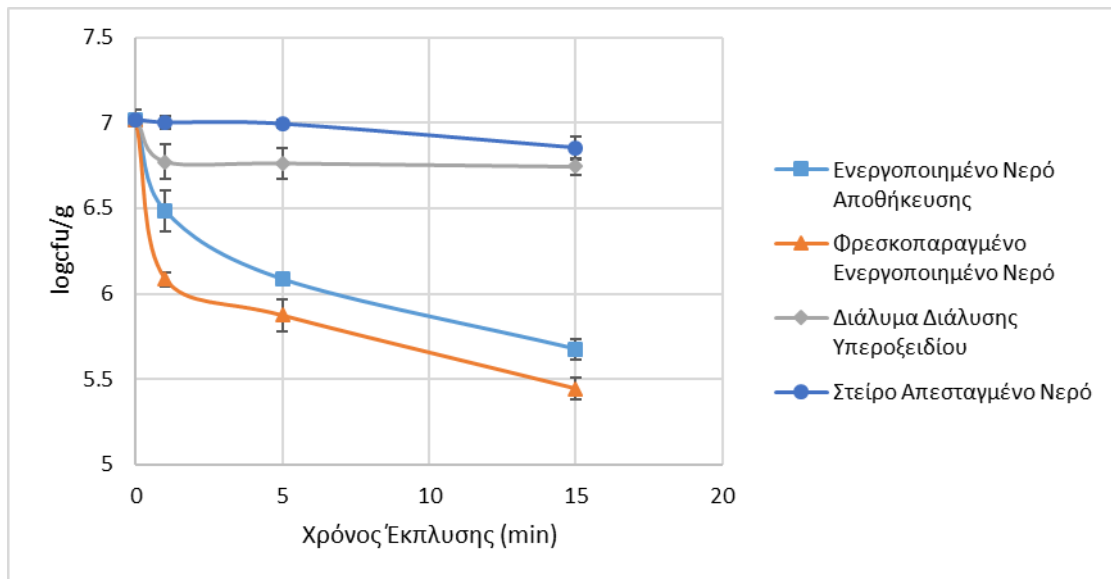
5.3 Μελέτη της επίδρασης επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερό σε παραμέτρους ποιότητας φρεσκοκομμένης σαλάτας ρόκας

Η ροή He 1 L/min είναι αποτελεσματικότερη όσον αφορά τις τιμές των παραμέτρων που επιτυγχάνονται. Επιπλέον, ο χρόνος επεξεργασίας επιδρά σημαντικά σε όλες τις παραμέτρους με τα 20 min επεξεργασίας να είναι τα πιο αποτελεσματικά. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των χρόνων επεξεργασίας 15 και 20 min και για πρακτικούς λόγους επιλέχθηκαν τα 15 min, ως βέλτιστος χρόνος επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα. Χαρακτηριστικά, σε αυτές τις συνθήκες, η συγκέντρωση του H₂O₂ βρέθηκε 28.5*10⁻⁵ M, η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων 8.28*10⁻⁵ g/mL, η συγκέντρωση των νιτρωδών 7.1*10⁻⁶ g/mL, το pH 4.1 και η αγωγιμότητα 41 μS. Λόγω των προαναφερθέντων και της ικανοποιητικής διατήρησης κατά την αποθήκευση, του νερού που έχει ενεργοποιηθεί υπό αυτές τις συνθήκες, το ενεργοποιημένο νερό που χρησιμοποιήθηκε στο ακόλουθο πείραμα επεξεργάσθηκε με ψυχρό πλάσμα για 15 min με ροή He 1 L/min.

Στη συνέχεια, παραθέτονται τα αποτελέσματα της μελετής της επίδρασης διαφόρων επεμβάσεων και μέσων απολύμανσης, στο μικροβιακό φορτίο και σε παραμέτρους ποιότητας φυλλώδους σαλάτας ρόκας, για χρόνους έκπλυσης 1, 5 και 15 min. Τα μέσα απολύμανσης που εξετάστηκαν ήταν στείρο απεσταγμένο νερό, διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου ίδιας συγκέντρωσης με το υπεροξείδιο του υδρογόνου ενεργοποιημένου νερού, ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών σε θερμοκρασία 5°C για μείωση με τον χρόνο των «δραστικών» στοιχείων του καθώς και φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό. Σε όλες τις περιπτώσεις εκτός από το σκέτο νερό, η συγκέντρωση του υπεροξειδίου ήταν ακριβώς ίδια και για τα τρία διαλύματα ακριβώς πριν τη χρήση τους.

5.3.1 Μικροβιολογική Ανάλυση

Στο Διάγραμμα 5.49 παρουσιάζεται η μείωση του ολικού μικροβιακού φορτίου συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης μετά από έκπλυση των φύλλων ρόκας με στείρο απεσταγμένο νερό, διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου ίδιας συγκέντρωσης με το υπεροξείδιο του υδρογόνου ενεργοποιημένου νερού, ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών σε θερμοκρασία 5°C και φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό.



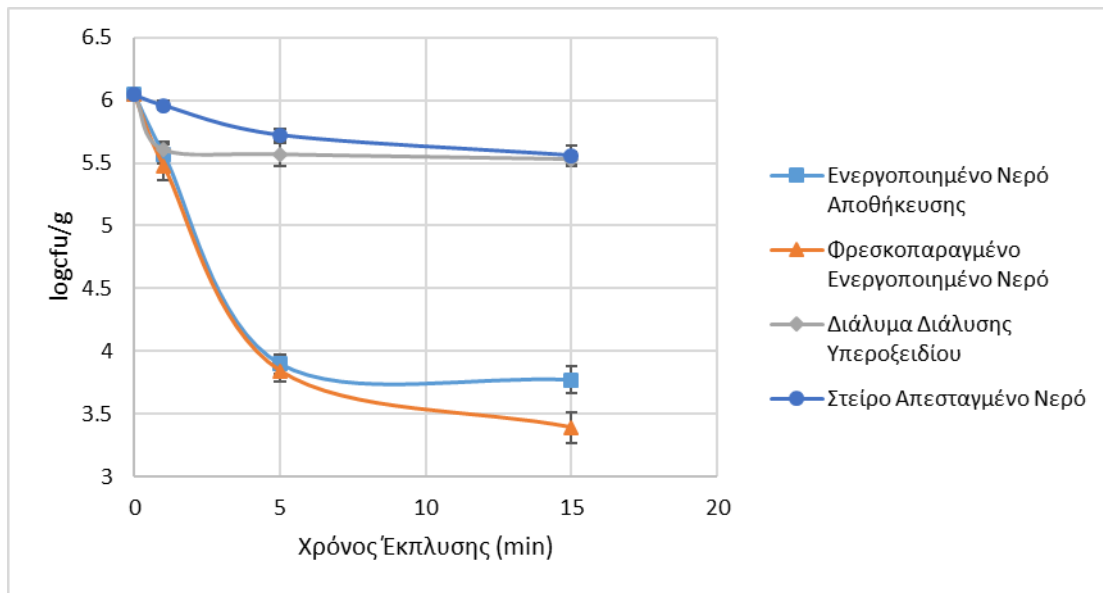
Διάγραμμα 5.49. Μείωση ολικής μικροχλωρίδας φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης.

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 5.49 η έκπλυση των φύλλων με στείρο απεσταγμένο νερό δε φαίνεται να επιφέρει σημαντική μείωση του ολικού μικροβιακού φορτίου. Το διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου μείωσε κατά 0.3 logcfu/g το ολικό μικροβιακό φορτίο μέσα σε 1 λεπτό ενώ μετά δε φαίνεται να επιδρά περαιτέρω. Το ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών οδήγησε σε μείωση του ολικού μικροβιακού φορτίου κατά 1.3 logcfu/g, ενώ το φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό οδήγησε σε μείωση κατά 1.5 logcfu/g.

Πίνακας 5.6. Ποσοστά μείωσης του ολικού μικροβιακού φορτίου φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων για χρόνους 1-15 min σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων

Μέσο Απολύμανσης	Ενεργοποιημένο Νερό Αποθήκευσης 7 ημερών	Φρεσκοπαραγμένο Ενεργοποιημένο Νερό.	Διάλυμα Διάλυσης Υπεροξειδίου	Στείρο Απεσταγμένο Νερό
Χρόνος Έκπλυσης (min)				
1	7.6 %	13.3 %	3.5 %	0.26 %
5	13.3 %	16.3 %	3.7 %	0.37 %
15	19.1 %	22.4 %	3.9 %	2.4 %

Στο Διάγραμμα 5.50 παρουσιάζεται η μείωση του φορτίου των ψευδομονάδων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης μετά από έκπλυση των φύλλων ρόκας με στείρο απεσταγμένο νερό, διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου ίδιας συγκέντρωσης με το υπεροξείδιο του υδρογόνου ενεργοποιημένου νερού, ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών σε θερμοκρασία 5°C και φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό.



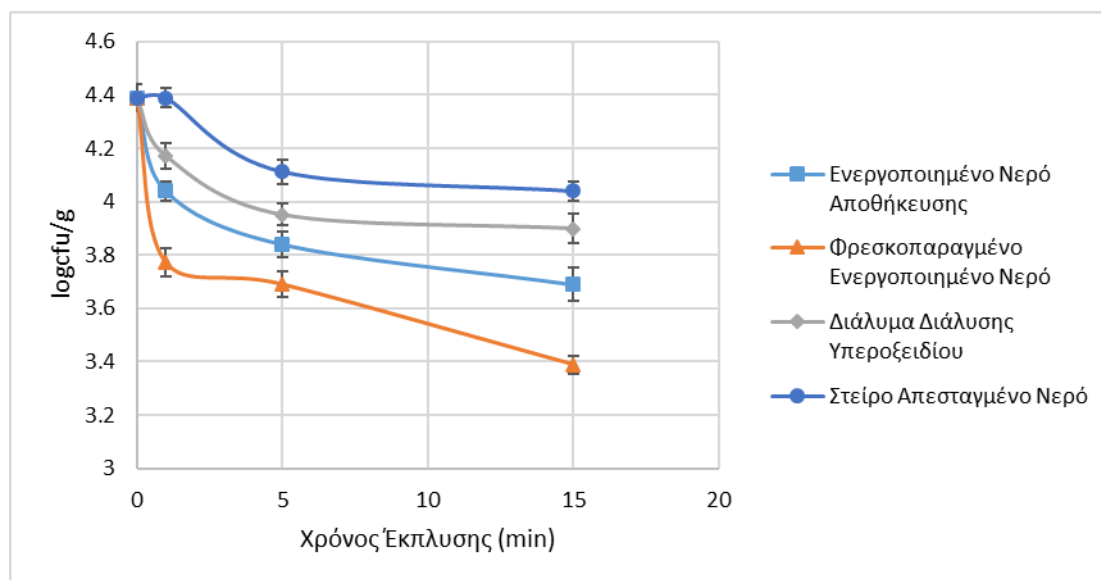
Διάγραμμα 5.50. Μείωση ψευδομονάδων φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης.

Σταδιακή μείωση του φορτίου των ψευδομονάδων παρατηρήθηκε μετά από έκπλυση των φύλλων σε στείρο απεσταγμένο νερό με μέγιστη μείωση 0.5 logcfu/g για 15 min έκπλυση. Το διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου οδήγησε επίσης σε μείωση κατά 0.5 logcfu/g του φορτίου των ψευδομονάδων μέσα σε 1 λεπτό και μετά δε φάνηκε να επιδρά περαιτέρω. Το ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών οδήγησε σε μείωση κατά 2.2 logcfu/g του φορτίου των ψευδομονάδων, ενώ το φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό μείωσε το φορτίο κατά 2.5 logcfu/g. Το ενεργοποιημένο νερό φάνηκε αποτελεσματικό στην απενεργοποίηση των ψευδομονάδων, όπως φαίνεται και από τα ποσοστά μείωσης τους στον Πίνακα 5.7.

Πίνακας 5.7. Ποσοστά μείωσης ψευδομονάδων φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων για χρόνους 1-15 min σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων

Μέσο Απολύμανσης	Ενεργοποιημένο Νερό Αποθήκευσης 7 ημερών	Φρεσκοπαραγμένο Ενεργοποιημένο Νερό.	Διάλυμα Διάλυσης Υπεροξειδίου	Στείρο Απεσταγμένο Νερό
Χρόνος Έκπλυσης (min)				
1	6.7%	8.1%	6.3%	1.2%
5	30.5%	31.4%	6.8%	4.6%
15	32.4%	37.8%	7.3%	6.9%

Στο Διάγραμμα 5.51 παρουσιάζεται η μείωση του φορτίου των ζυμών/μυκήτων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης μετά από έκπλυση των φύλλων ρόκας με στείρο απεσταγμένο νερό, διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου ίδιας συγκέντρωσης με το υπεροξείδιο του υδρογόνου ενεργοποιημένου νερού, ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών σε θερμοκρασία 5°C και φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό.



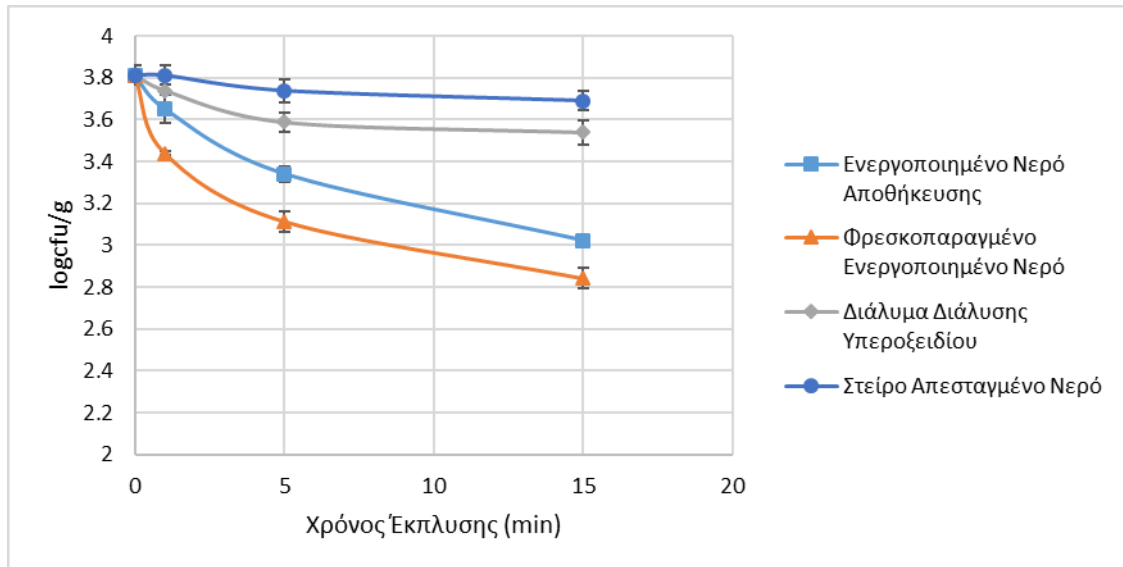
Διάγραμμα 5.51. Μείωση ζυμών και μυκήτων φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης.

Σύμφωνα με το Διάγραμμα 5.51. παρατηρείται ότι έκπλυση των φύλλων ρόκας για 15 min με στείρο απεσταγμένο νερό επέφερε μέγιστη μείωση του φορτίου κατά 0.4 logcfu/g, με διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου ≈ 0.5 logcfu/g, με ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών 0.7 logcfu/g και το φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό 1 logcfu/g.

Πίνακας 5.8. Ποσοστά μείωσης ζυμών και μυκήτων φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων για χρόνους 1-15 min σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων

Μέσο Απολύμανσης	Ενεργοποιημένο Νερό Αποθήκευσης 7 ημερών	Φρεσκοπαραγμένο Ενεργοποιημένο Νερό.	Διάλυμα Διάλυσης Υπεροξειδίου	Στείρο Απεσταγμένο Νερό
Χρόνος Έκπλυσης (min)				
1	4.9%	8.8%	3.1%	0%
5	7.8%	9.9%	6.2%	3.9%
15	9.9%	14.2%	6.9%	4.9%

Στο Διάγραμμα 5.52 παρουσιάζεται η μείωση του φορτίου των γαλακτικών βακτηρίων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης μετά από έκπλυση των φύλλων ρόκας με στείρο απεσταγμένο νερό, διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου ίδιας συγκέντρωσης με το υπεροξείδιο του υδρογόνου ενεργοποιημένου νερού, ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών σε θερμοκρασία 5°C και φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό.



Διάγραμμα 5.52. Μείωση γαλακτικών βακτηρίων φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης.

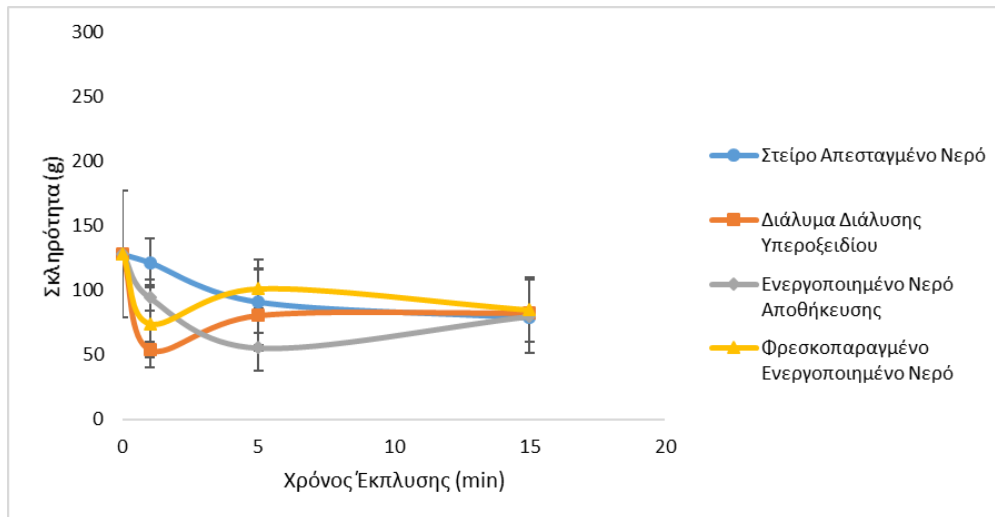
Σύμφωνα με το διάγραμμα παρατηρήθηκε ότι η έκπλυση των φύλλων ρόκας με στείρο απεσταγμένο νερό οδήγησε σε μείωση φορτίου 0.1 logcfu/g, με διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου περίπου 0.3 logcfu/g, ενώ έκπλυση με ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών μείωσε το φορτίο κατά 0.8 logcfu/g και με φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό περίπου 1 logcfu/g.

Πίνακας 5.9. Ποσοστά μείωσης γαλακτικών βακτηρίων

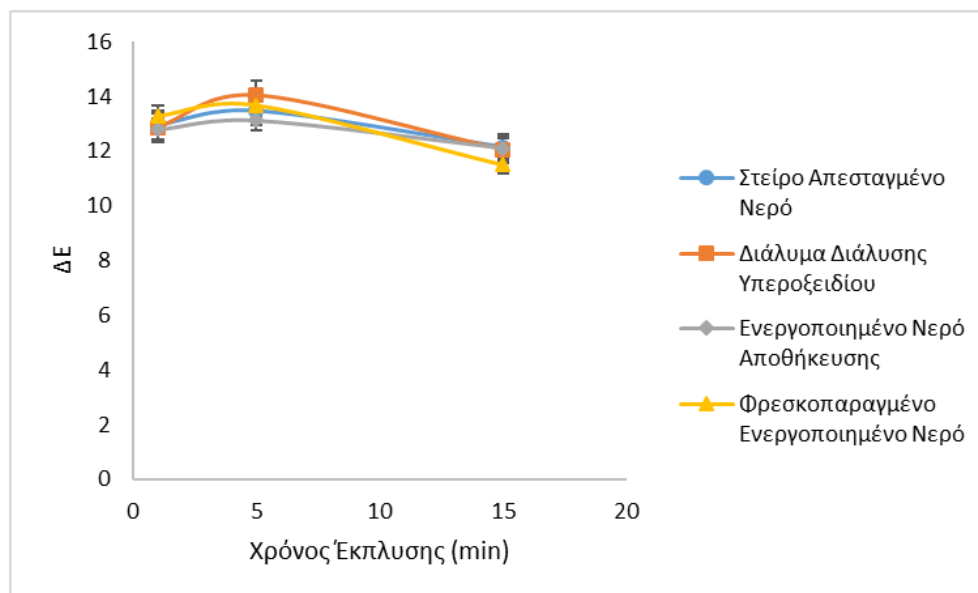
Μέσο Απολύμανσης	Ενεργοποιημένο Νερό Αποθήκευσης 7 ημερών	Φρεσκοπαραγμένο Ενεργοποιημένο Νερό.	Διάλυμα Διάλυσης Υπεροξειδίου	Στείρο Απεσταγμένο Νερό
Χρόνος Έκπλυσης (min)				
1	4.2%	9.8%	1.9%	0%
5	7.1%	18.3%	5.9%	1.9%
15	20.8%	25.5%	7.1%	3.2%

5.3.2 Μελέτη της επίδρασης επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερό στην υφή, το χρώμα και το pH φύλλων ρόκας

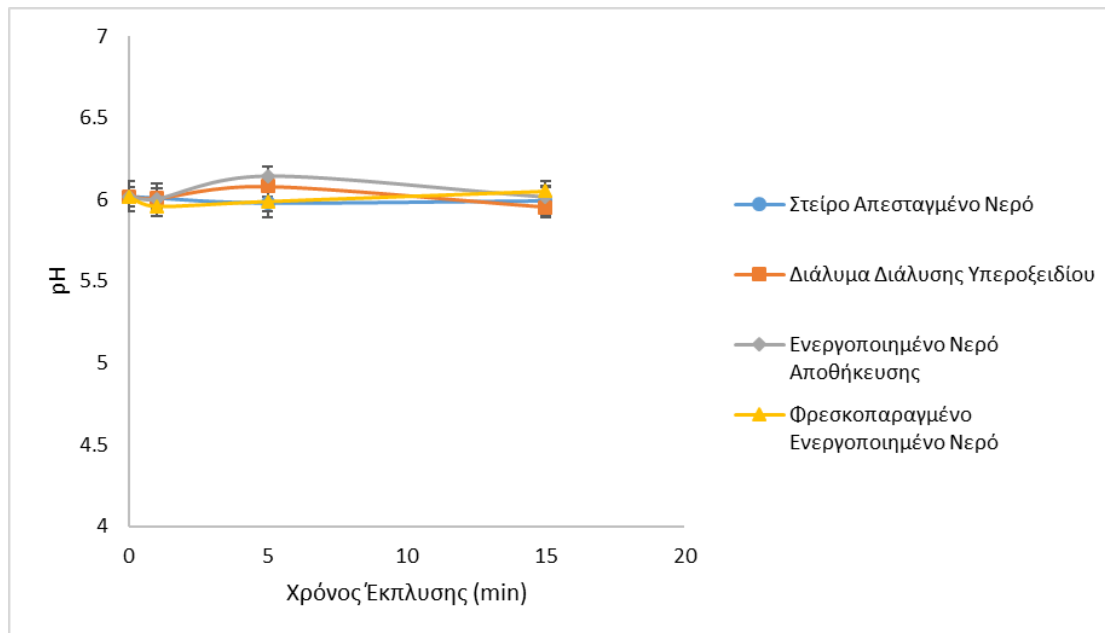
Στα Διαγράμματα 5.53, 5.54 και 5.55 φαίνεται η επίδραση της έκπλυσης των φύλλων ρόκας σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων (στείρο απεσταγμένο νερό, διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου, ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών σε θερμοκρασία 5°C, φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό) στη σκληρότητα, το χρώμα και το pH, αντίστοιχα.



Διάγραμμα 5.53. Μεταβολή της δύναμης σπασίματος (*burst strength*) φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης.



Διάγραμμα 5.54. Μεταβολή δείκτη χρώματος ΔΕ φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης..



Διάγραμμα 5.55. Μεταβολή της τιμής pH των φύλλων ρόκας εμβαπτισμένων σε υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων συναρτήσει του χρόνου έκπλυσης.

Δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή σε κανένα από τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των φύλλων ρόκας, γεγονός το οποίο είναι επιθυμητό, καθώς ένας από τους λόγους που χρησιμοποιείται ενεργοποιημένο νερό για την απολύμανση των φύλλων και όχι απευθείας επαφή με το ψυχρό πλάσμα, είναι η αποφυγή αλλοιώσεων των ποιοτικών χαρακτηριστικών τους. Τα αποτελέσματα βρίσκονται σε συμφωνία με όσα έχουν αναφερθεί και από τους Ma et al. (2015), οι οποίοι δεν παρατήρησαν καμία μεταβολή σε φράουλες μετά από την έκπλυσή τους με ενεργοποιημένο νερό σε κανένα από τα ποιοτικά χαρακτηριστικά.

6 ΣΥΝΟΨΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σκοπός της μελέτης ήταν η έμμεση χρήση ψυχρού ατμοσφαιρικού πλάσματος ως μικροβιακό απολυμαντικό μέσω της παραγωγής ενεργοποιημένου νερού (Plasma Activated Water-PAW) και χρήσης του ως μέσο έκπλυσης έτοιμων προς κατανάλωση φρεσκοκομμένων σαλατών. Για το λόγο αυτό στην παρούσα διπλωματική πραγματοποιήθηκε μελέτη παραμέτρων ενεργοποίησης επεξεργασμένου με ψυχρό πλάσμα νερού σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας, μελέτη της διατηρησιμότητας του ενεργοποιημένου νερού κατά την αποθήκευσή του σε διαφορετικές θερμοκρασίες, εύρεση των βέλτιστων συνθηκών ενεργοποίησης του νερού με ψυχρό πλάσμα και τέλος μελέτη και σύγκριση παραμέτρων ποιότητας έτοιμων προς κατανάλωση φρεσκοκομμένων φύλλων ρόκας μετά από έκπλυσή τους με υδατικά διαλύματα διαφορετικών επεμβάσεων. Πιο αναλυτικά:

Κατά το **Πρώτο Πειραματικό Σκέλος** πραγματοποιήθηκε μελέτη παραμέτρων ενεργοποίησης απεσταγμένου νερού επεξεργασμένου με χρήση ψυχρού ατμοσφαιρικού πλάσματος σε διαφορετικές συνθήκες επεξεργασίας. Βασικός στόχος κατά τον πειραματικό σχεδιασμό ήταν η επιλογή κατάλληλης πηγής και σύνθεσης, καθώς και παραμέτρων για την παραγωγή του ψυχρού ατμοσφαιρικού πλάσματος. Η επεξεργασία του νερού πραγματοποιήθηκε με χρήση τζετ πλάσματος (εφαρμοζόμενη τάση 3-4 kV, συχνότητα 85 kHz, ισχύς 60%) και αέριο He. Για κάθε πείραμα ενεργοποίησης τοποθετούνταν 25 mL απεσταγμένου νερού σε γυάλινο τρυβλίο, το οποίο οδηγούνταν κάτω από το τζετ πλάσματος έτσι ώστε η επιφάνεια του νερού βρίσκεται περίπου 0.5 cm από το τζετ. Το νερό επεξεργάστηκε με ψυχρό πλάσμα σε έξι χρόνους από 1 – 20 min και σε τρεις διαφορετικές ροές αερίου He (1 – 5 L/min flow rate). Σε όλες τις συνθήκες επεξεργασίας μετρήθηκαν στο νερό, η συγκέντρωση του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H₂O₂) και των νιτρωδών/νιτρικών ιόντων (NO₂⁻ / NO₃⁻), το pH και η αγωγιμότητα των δειγμάτων. Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου αυξήθηκε με το χρόνο επεξεργασίας του νερού και η αύξηση αυτή περιγράφηκε με εφαρμογή σιγμοειδούς συνάρτησης.
- Οι διαφορετικές ροές αερίου He που χρησιμοποιήθηκαν φάνηκε να έχουν παρόμοια επίδραση ($p > 0.05$) στη συγκέντρωση του υπεροξειδίου που επιτυγχάνεται κατά την ενεργοποίηση του νερού σε όλους τους χρόνους επεξεργασίας.
- Η συγκέντρωση των νιτρωδών και των νιτρικών ιόντων αυξήθηκε με το χρόνο επεξεργασίας του νερού.
- Η μείωση της ροής αερίου He οδήγησε σε αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρωδών και νιτρικών ιόντων στο νερό σε όλους τους χρόνους επεξεργασίας.
- Η αγωγιμότητα του νερού αυξήθηκε γραμμικά με το χρόνο επεξεργασίας του νερού.
- Ο ρυθμός αύξησης της αγωγιμότητας με το χρόνο επεξεργασίας αυξήθηκε με μείωση της ροής του αερίου He (1 L/min). Άρα η ροή He έχει επίδραση στην αγωγιμότητα που επιτυγχάνεται με την ενεργοποίηση του νερού.
- Με χρήση των αποτελεσμάτων κατασκευάστηκε το ακόλουθο μαθηματικό μοντέλο:

$$Cond = -0.1973Q \times t + 1.9931t + Cond_0,$$

Όπου, Q η ροή του αερίου σε L/min, t ο χρόνος επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα σε min και $ConD_0$ η αγωγιμότητα του απεσταγμένου νερού σε μS . Το μοντέλο αυτό συσχετίζει τη μεταβολή της αγωγιμότητας του νερού με τη ροή του αερίου He και το χρόνο επεξεργασίας, μέσω του οποίου υπολογίστηκαν οι προβλεπόμενες τιμές αγωγιμότητας σε κάθε συνθήκη οι οποίες φάνηκε να συσχετίζονται πολύ καλά με τις πειραματικές τιμές (0,951-0.964).

- Η τιμή pH του νερού μειώθηκε με αύξηση του χρόνου επεξεργασίας και η αύξηση αυτή μοντελοποιήθηκε με χρήση λογαριθμικής συνάρτησης.
- Χαμηλότερες τιμές pH επιτεύχθηκαν για χαμηλότερες ροές He, αν και ο ρυθμός μείωσης ήταν παρόμοιος και στις τρεις ροές που μελετήθηκαν.

Συμπερασματικά, η ροή He 1 L/min αξιολογήθηκε ως αποτελεσματικότερη για εφαρμογή κατά την επεξεργασία του νερού με ψυχρό πλάσμα βάσει των τιμών των παραμέτρων που επιτεύχθηκαν. Επιπλέον, ο χρόνος επεξεργασίας φάνηκε να επιδρά σημαντικά σε όλες τις παραμέτρους που μελετήθηκαν. Ειδικότερα, αύξηση του χρόνου επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα οδήγησε σε αύξηση της ενεργοποίησής του. Ωστόσο, λόγω του ότι ως επί το πλείστον οι παράμετροι ενεργοποίησης που μετρήθηκαν εμφάνισαν σχετική σταθεροποίηση σε χρόνους επεξεργασίας ≥ 15 min, για πρακτικούς λόγους επιλέχθηκαν τα 15 min, ως βέλτιστος χρόνος επεξεργασίας του νερού με ψυχρό πλάσμα. Χαρακτηριστικά, σε αυτές τις συνθήκες, στο ενεργοποιημένο νερό μετρήθηκαν η συγκέντρωση του H_2O_2 $28.5 \cdot 10^{-5}$ M, η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων $8.28 \cdot 10^{-5}$ g/mL, η συγκέντρωση των νιτρωδών $7.1 \cdot 10^{-6}$ g/mL, το pH 4.1 και η αγωγιμότητα 41 μS .

Κατά το **Δεύτερο Πειραματικό Σκέλος** διερευνήθηκε η διατηρησιμότητα του ενεργοποιημένου νερού, επεξεργασμένου σε όλες τις μελετώμενες συνθήκες, σε θερμοκρασίες αποθήκευσης 5 και 15°C. Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου, των νιτρικών και των νιτρωδών ιόντων, το pH και η αγωγιμότητα των δειγμάτων ενεργοποιημένου νερού μετρήθηκαν για διάστημα 0-15 ημερών. Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

- Η συγκέντρωση του υπεροξειδίου μειώθηκε εκθετικά κατά την αποθήκευση του ενεργοποιημένου νερού σε θερμοκρασίες 5 και 15°C.
- Η επίδραση της θερμοκρασίας αποθήκευσης στο ρυθμό μείωσης της συγκέντρωσης του υπεροξειδίου του ενεργοποιημένου νερού αξιολογήθηκε μέσω υπολογισμού των ενεργειών ενεργοποίησης, E_a . Η ενέργεια ενεργοποίησης παρουσίασε αύξηση με αύξηση του χρόνου επεξεργασίας του νερού και με αύξηση της ροής του αερίου (7.4 – 70.7 kJ).
- Η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων παρουσίασε μείωση κατά την αποθήκευση του ενεργοποιημένου νερού σε θερμοκρασίες 5 και 15°C. Η μείωση ήταν υψηλή κατά την πρώτη μέρα αποθήκευσης ενώ η συγκέντρωση των νιτρικών ιόντων εμφάνισε σχετική σταθεροποίηση μετά από 4 ημέρες αποθήκευσης με ελάχιστη μείωση στη διάρκεια των επόμενων ημερών.
- Αντίθετα, παρατηρήθηκε απότομη αύξηση στη συγκέντρωση των νιτρωδών ιόντων κατά την πρώτη μέρα αποθήκευσης του νερού. Η αύξηση αυτή θα μπορούσε να αποδοθεί σε αντιδράσεις που πιθανόν υφίστανται στο ενεργοποιημένο νερό και που δεν έχουν

μελετηθεί ακόμα. Σε μεγαλύτερους χρόνους αποθήκευσης του ενεργοποιημένου νερού η συγκέντρωση των νιτρωδών εμφάνισε μείωση.

- Η τιμή pH του ενεργοποιημένου νερού μειώθηκε κατά την αποθήκευσή του γεγονός που πιθανόν οφείλεται στη δημιουργία υπεροξυνιτριδίου, αλλά και στην αύξηση της συγκέντρωσης των νιτρωδών κατά την πρώτη μέρα αποθήκευσης του νερού. Η θερμοκρασία αποθήκευσης δε φάνηκε να επιδρά στη μείωση του pH του επεξεργασμένου νερού ($p > 0.5$).
- Αντίστοιχα με το pH, η αγωγιμότητα του επεξεργασμένου νερού αυξήθηκε κατά την αποθήκευση. Αυτό πιθανόν να οφείλεται στους ίδιους λόγους που προαναφέρθηκαν για τη μείωση του pH και κυρίως στη δημιουργία υπεροξυνιτριδίου. Η θερμοκρασία αποθήκευσης δε φάνηκε να επιδρά στην αύξηση της αγωγιμότητας του επεξεργασμένου νερού ($p > 0.5$).

Συμπερασματικά, το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε κάθε περίπτωση φαίνεται να διατηρείται περισσότερο από τα νιτρώδη και τα νιτρικά ιόντα και ενδεχομένως να μπορούσε να διατηρηθεί ακόμα και σε διάστημα μηνών. Επιπλέον, κατά την αποθήκευση το νερό που ενεργοποιήθηκε σε ροή He 1 L/min φαίνεται να διατηρεί καλύτερα τα χαρακτηριστικά του. Χαρακτηριστικά, υψηλότερη διατήρηση της συγκέντρωσης των υπεροξειδίων εμφάνισε νερό επεξεργασμένο σε ροή αερίου He 1 L/min και για χρόνο επεξεργασίας 20 min, με μείωση της συγκέντρωσης κατά 8% σε διάστημα 12 ημερών. Αυτή η ικανοποιητική διατηρησιμότητα του ενεργοποιημένου σε ροή He 1 L/min νερού είναι ένας ακόμα λόγος επιλογής της συγκεκριμένης ροής, ως τη βέλτιστη για την διεξαγωγή του πειράματος στην τρίτη θεματική ενότητα της διπλωματικής.

Στο **Τρίτο Πειραματικό Σκέλος**, πραγματοποιήθηκε μελέτη της επίδρασης διαφόρων επεμβάσεων και μέσων απολύμανσης, στο μικροβιακό φορτίο και σε παραμέτρους ποιότητας φυλλώδους σαλάτας ρόκας, για χρόνους έκπλυσης 1, 5 και 15 min. Τα μέσα απολύμανσης που εξετάστηκαν ήταν στείρο απεσταγμένο νερό, διάλυμα υπεροξειδίου ίδιας συγκέντρωσης με το υπεροξείδιο του υδρογόνου του ενεργοποιημένου νερού, ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών σε θερμοκρασία 5°C για μείωση με τον χρόνο των «δραστικών» στοιχείων του καθώς και φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό. Η αξιολόγηση του προϊόντος έγινε μέσω μικροβιακών αναλύσεων, υφής, χρώματος και pH. Παρατηρήθηκαν τα εξής:

- Το φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό επέφερε μείωση 1.5 logCFU/g του ολικού μικροβιακού φορτίου μετά από 15 min έκπλυσης των φύλλων ρόκας, ενώ το ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών σε θερμοκρασία 5°C μείωσε το ολικό μικροβιακό φορτίο κατά 1.3 logCFU/g μετά από 15 min έκπλυσης των φύλλων ρόκας.
- Το φρεσκοπαραγμένο και ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών αποδείχτηκαν ιδιαίτερα αποτελεσματικά στην μείωση του φορτίου των ψευδομονάδων (μείωση 2.5 και 2.2 logCFU/g μετά από 15 λεπτά έκπλυσης των φύλλων ρόκας).
- Αντίστοιχα, η μείωση του φορτίου των ζύμων και μυκήτων και των γαλακτικών βακτηρίων ήταν 1 logCFU/g μετά από 15 λεπτά έκπλυσης των φύλλων ρόκας με φρεσκοπαραγμένο ενεργοποιημένο νερό.
- Δεν παρατηρήθηκε σημαντική μείωση του μικροβιακού φορτίου μετά από έκπλυση με στείρο απεσταγμένο νερό και διάλυμα διάλυσης υπεροξειδίου.

- Η μείωση του μικροβιακού φορτίου μετά από έκπλυση είτε με το φρεσκοπαραγμένο είτε με το ενεργοποιημένο νερό αποθήκευσης 7 ημερών στους 5°C, φάνηκε να εξαρτάται από το χρόνο έκπλυσης των φύλλων με το μέσο απολύμανσης.
- Όσον αφορά την επίπτωση που μπορεί να έχει στα ποιοτικά χαρακτηριστικά η έκπλυση των φύλλων ρόκας με ενεργοποιημένο νερό, δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή στο χρώμα, στο pH και στην υφή τους.

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποδεικνύουν τη δυναμική εφαρμογή της έμμεσης εφαρμογής της καινοτόμου τεχνολογίας ψυχρού πλάσματος στον τομέα των τροφίμων και ειδικά στην παραγωγική διαδικασία ιδιαίτερα ευαίσθητων έτοιμων προς κατανάλωση φρεσκοκομμένων προϊόντων.

Η απολύμανση τροφίμων με έκπλυση με ενεργοποιημένο με ψυχρό πλάσμα νερό είναι μία νέα, αναδυόμενη τεχνολογία η μελέτη των παραμέτρων της οποίας βρίσκεται σε εξέλιξη ή δεν έχουν μελετηθεί ακόμη και είναι σημαντικό να εξεταστούν για την μετάβαση αυτής της πολλά υποσχόμενης μεθόδου απολύμανσης από την ερευνητική κλίμακα στη βιομηχανική. Η πλήρης κατανόηση της χημείας του ενεργοποιημένου νερού που παράγεται είναι ένα ιδιαίτερα σημαντικό και πολύπλοκο θέμα και παρουσιάζει σίγουρα μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον, καθώς η χημεία του ενεργοποιημένου νερού και οι χημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα σε αυτό είναι διαφορετικές ανάλογα τη χρησιμοποιούμενη διάταξη παραγωγής ψυχρού πλάσματος και του αερίου που χρησιμοποιείται. Ένας ακόμα περιορισμός της χρήσης του ενεργοποιημένου νερού σε βιομηχανική κλίμακα είναι η ποσότητα που μπορεί να παραχθεί. Είναι αναγκαίο να μελετηθεί διάταξη που να προσφέρει μεγάλη ποσότητα ενεργοποιημένου νερού με την ίδια αντιμικροβιακή δράση με αυτή που επιτυγχάνεται σε μικρότερους όγκους ενεργοποιημένου νερού. Το κόστος ενεργοποίησης του νερού με ψυχρό πλάσμα αποτελεί ένα ακόμα εμπόδιο για την χρήση του. Η χρήση αδρανών αερίων, όπως το ήλιο και το αργό, είναι ιδιαίτερα κοστοβόρα. Η εύρεση αερίων χαμηλότερου κόστους που να μπορούν να επιτύχουν ενεργοποίηση νερού με τις ίδιες αντιμικροβιακές ικανότητες με αυτές των ενεργοποιημένων νερών που παράγονται από αδρανή αέρια, ενδεχομένως θα μπορούσε να λύσει το πρόβλημα του κόστους ενεργοποίησης του νερού με ψυχρό πλάσμα, έτσι ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος απολύμανσης σε βιομηχανίες μαζικής παραγωγής τροφίμων. Τέλος, προτείνονται ως μελλοντικά βήματα η μελέτη της διατηρησιμότητας του τροφίμου σε αποθήκευση μετά την έκπλυση του με ενεργοποιημένο νερό και η οικονομικοτεχνική μελέτη για την απολύμανση των σαλατών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Adamovich, I., Baalrud, S. D., Bogaerts, A., Bruggeman, P. J., Cappelli, M., Colombo, V., . . . Favia, P. (2017). The 2017 Plasma Roadmap: Low temperature plasma science and technology. *Journal of Physics D: Applied Physics*.
- Adams, G. E., Aldrich, J. E., Bisby, R. H., Cundall, R. B., Redpath, J. L., & Willson, R. L. (1972). Selective free radical reactions with proteins and enzymes: Reactions of inorganic radical anions with amino acids. *Radiation Research*.
- Adams, M., Hartley, A., & Cox, L. (1989). Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared salads. *Food Microbiol.*
- Ahmed, J., & Rhaman, M. (2012). *Handbook of Food Process Design*. Wiley-Blackwell publication.
- Ahvenainen, R. (1996). New approaches in improving the shelf life of minimally processed. *Trends Food Sci. Technol.*, 179–187.
- Alshraideh, N. H., Alkawareek, M. Y., Gorman, S. P., Graham, W. G., & Gilmore, B. F. (2013). Atmospheric pressure, nonthermal plasma inactivation of MS2 bacteriophage: Effect of oxygen concentration on virucidal activity. *Journal of Applied Microbiology*.
- Anonymous. (1986). *L'industrie des légumes frais prêts à l'emploi, dits légumes de la 4ème*. Strasbourg, France.
- Anonymous. (1988). *Guide des bonnes pratiques hygiéniques concernant les produits végétaux*.
- Anonymous. (1993). Arrêté du 22 Mars 1993 relatif aux règles d'hygiène applicables aux végétaux et préparations de végétaux crus prêts à l'emploi à la consommation humaine. *Journal Officiel de la République Française*.
- Anonymous. (1996). Guide de bonnes pratiques hygiénique-végétaux crus prêts à l'emploi. *Les éditions du Journal Officiel*.
- Babayan, S., Jeong, J., Schutze, A., Tu, V., Moravej, M., & Selwyn, G. (2001). Deposition of silicon dioxide films with a non-equilibrium atmospheric pressure plasma jet. *Plasma Sources Sci Technol*.
- Baselice, A., Colantuoni, F., Lass, D., Gianluca, N., & Stasi, A. (2014). EU Consumers' Perceptions of Fresh-cut Fruit and Vegetables Attributes: a Choice Experiment Model. *Agricultural & Applied Economics*.
- Bennick, M., Vorstman, W., Smid, E., & Gorris, L. (1998). The influence of oxygen and carbon dioxide on the growth of prevalent Enterobacteriaceae and Pseudomonas species isolated from fresh and controlled-atmosphere-stored vegetables. *Food Microbiol.*, 459–469.
- Beuchat, L. (1998). Surface decontamination of fruits and vegetables eaten raw: a review. *Food Safety Unit World Health Organization*, 1–42.
- Beuchat, L., & Brackett, R. (1990). Survival and growth of *Listeria monocytogenes* on lettuce as influenced by shredding, chlorine treatment, modified atmosphere packaging and temperature. *J. Food Sci.*

- Brackett, R. (1987). Microbiological consequences of minimally processed fruits and vegetables. *J. Food Qual.*, 195–206.
- Brackett, R. (1989). Changes in the microflora of packaged fresh broccoli. *J. Food Qual.*
- Brackett, R. (1992). Shelf stability and safety of fresh produce as influenced by sanitation and disinfection. *J. Food Prot.*
- Brackett, R. (1994). Microbiological spoilage and pathogens in minimally processed fresh fruits and vegetables. Στο C. & R.C. Riley, *Minimally Processed Refrigerated Fruits and Vegetables* (σσ. 269–312).
- Brackett, R. (1997). Fruits, vegetables and grains. Στο L. B. M.P. Doyle, *Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers*. Washington.
- Brisset, J. L., Benstaali, B., Moussa, D., Fanmoe, J., & Njoyim-Tamungang, E. (2011). Acidity control of plasma-chemical oxidation: Applications to dye removal, urban waste abatement and microbial inactivation. *Plasma Sources Science and Technology*.
- Brisset, J., & Pawlat, J. (2016). Chemical effects of air plasma species on aqueous solutes in direct and delayed exposure modes: Discharge, post-discharge and plasma activated water. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*.
- Brocklehurst, T., & Lund, B. (1994). Microbiological changes in mayonnaise-based salads during storage. *Food Microbiol.*, 5–12.
- Brocklehurst, T., White, C., & Dennis, C. (1983). The microflora of stored coleslaw and factors affecting the growth of spoilage yeasts in coleslaw. *J. Appl. Bacteriology.*, 57–63.
- Bruggeman, P., & Leys, C. (2009). Non-thermal plasmas in and in contact with liquids. *Journal of Physics*.
- Bryk, R., Griffin, P., & Nathan, C. (2000). Peroxynitrite reductase activity of bacterial peroxiredoxins. *Nature*.
- Burlica, R., Grim, R. G., Shih, K. Y., Balkwill, D., & Locke, B. R. (2010). Bacteria inactivation using low power pulsed gliding arc discharges with water spray. *Plasma Processes and Polymers*.
- Carlin, F., Nguyen-The, C., Cudennec, P., & Reich, M. (1989). Microbial spoilage of fresh ready-to-use grated carrots. *Sci. Alim.*, 371–386.
- Carmichael, I. H. (1999). Bacterial colonisation and biofilm development on minimally processed vegetables. *J. of Appl. Microbio.*
- CCI. (2016). Le insalate di quarta gamma-mercati e tendenze. *Export & Mercati, Vol. 10*.
- CFIA. (2014). *HACCP Generic Model for Ready-To-Eat Fresh-Cut Vegetables*.
- Chang, J., Lawless, P., & Yamamoto, T. (1991). Corona discharge processes. *IEEE Trans. Plasma Sci.*
- Chen, H., Bai, F., & Xiu, Z. (2010). Oxidative stress induced in *Saccharomyces cerevisiae* exposed to dielectric barrier discharge plasma in air at atmospheric pressure. *IEEE Transactions on Plasma Science*.
- Cherry, J. (1999). Improving the safety of fresh produce with antimicrobials. *Food Technol.*

- Christiansen, L., & King, N. (1971). The microbial content of some salads and sandwiches at retail outlets. *J. Milk Food Technol.*, 289–293.
- Cook, R. (2015). *Trends in the Marketing of Fresh Produce and Fresh-Cut/Value-added Produce*.
- Dakrouri, E., Yan, J., Gupta, M., Laroussi, M., & Badr, Y. (2002). VUV emission from a novel DBD based radiation source. *J Phys D Appl Phys*.
- Darvishi, H., Hosainpour, A., & Nargesi, F. (2012). Ohmic Heating Behaviour and Electrical Conductivity of Tomato Paste. *Nutrition & Food Sciences*.
- Deak, T., & Beuchat, L. (1987). Identification of foodborne yeasts. *J. Food Prot.*
- Deng, X., Shi, J., & Kong, M. G. (2006). Physical mechanisms of inactivation of *Bacillus subtilis* spores using cold atmospheric plasmas. *IEEE Transactions on Plasma Science*.
- Denis, C., & Buhagiar, R. (1980). Yeast spoilage of fresh and processed fruits and vegetables. Στο S. P. F.A. Skinner, *Biology and Activities of Yeasts*.
- Denis, C., & Pioche, B. (1986). Microbiologie des légumes frais prédécoupés. *Ind. Alimen. et Agricoles*.
- DeRoeever, C. (1999). Microbiological safety evaluations and recommendations on fresh produce. *Food Control*, 117–143.
- Dolezalova, E., & Lukes, P. (2015). Membrane damage and active but nonculturable state in liquid cultures of *Escherichia coli* treated with an atmospheric pressure plasma jet. *Bioelectrochemistry*.
- Doyle, M. (1990). Fruit and vegetable safety—microbiological considerations. *HortScience.*, 1478–1482.
- Doyle, M., & Schoeni, J. (1986). Isolation of *Campylobacter jejuni* from retail mushrooms. *Appl. Environ. Microbiol.*
- Fain, A. (1996). A review of the microbiological safety of fresh salads. *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, 146–149.
- FAO. (2010). Ανάκτηση από <http://www.fao.org/docrep/014/i1909e/i1909e00.pdf>
- FAO. (2013). Ανάκτηση από <http://www.fao.org/docrep/017/i3138e/i3138e05.pdf>
- FAO/WHO, C. G. (2003). *Codex Alimentarius Commission. Food and Agriculture Organization and World Health Organization*. Rome.
- FDA. (1994). Food and safety assurance program; development of hazard analysis critical control points; proposal rule. *Federal Register*.
- Fernandez, A., Noriega, E., & Thompson, A. (2013). Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium on fresh produce by cold atmospheric gas plasma technology. *Food Microbiology*.
- Fine, F., & Gervais, P. (2004). Efficiency of pulsed UV-light for microbial decontamination of food powders. *Journal of Food Protection*.
- Fleet, G. (1992). Spoilage yeasts. *Crit. Rev. Biotech.*

- Fowler, J. L., & Clark Jr., W. (1975). Microbiology of delicatessen salads. *J. Milk Food*, 146–149.
- Frame, J., Wheeler, D., DeTemple, T., & Eden, J. (1997). Micro discharge fabricated in silicon. *Appl. Phys. Lett.*
- Francis, G., Thomas, C., & O'Beirne, D. (1999). The microbiological safety of minimally processed vegetables. *Int. J. Food Sci. and Technol.*, 1–22.
- Frazier, W. C., & Westhoff, D. C. (1988). Food as a substrate for microorganism . *Food microbiology*.
- Fridman, A. (2008). Plasma Chemistry. *Cambridge University Press*.
- Fridman, A., Chirokov, A., & Gutsol, A. (2005). Non-thermal atmospheric pressure discharges. *J. Phys D: Appl Phys*.
- Garg, N., Churey, J., & Splittstoesser, D. (1990). Effect of processing conditions on the microflora of fresh-cut vegetables. *J. Food Prot.*, 701–703.
- Geiges, O., Stahlin, B., & Baumann, B. (1990). Mikrobiologische Beurteilung von Schnittsalat und Sprossgemuse. *Mitt. Gebiete Lebensm.*
- Gibalov, V., Murata, T., & Pietsch, G. (2002). Parameters of barrier discharges in coplanar arrangements.
- Gorny, J., & Zagory, D. (2002). Produce Food Safety. Στο K. Gross, M. Saltveit, & C. Wang, *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*.
- Gorris, L., & Tauscher, B. (1999). Quality and safety aspects of novel minimal processing technologies. Στο F. Oliveira, & J. Oliveira, *Processing Foods: Quality Optimization and Process Assessment*.
- Gould, G. (1999). *New methods of food preservation*. Gaithersburg: Aspen publications.
- Gustavo, B., Pothakamury, U., Palou, E., & Swanson, B. (1998). Nonthermal Preservation of Foods.
- Heard, G. (1999b). Microbial safety of ready-to-eat salads and minimally processed vegetables and fruits. *Food Aust.*, 414–420.
- Hedberg, C., MacDonald, K., & Osterholm, M. (1994). Changing epidemiology of. *Clinical Infect. Dis.*, 671–682.
- Herrmann, H., Henins, I., J., P., & Selwyn, G. (1999). Decontamination of chemical and biological warfare (CBW) agents using an atmospheric pressure plasma jet (APPJ). *Physics of Plasmas*.
- Hofmann, G. (1985). Deactivation of microorganisms by an oscillating magnetic field.
- Huang, Y., Sekhon, N., Borninski, J., Chen, N., & Rubinsky, B. (2003). Instantaneous, quantitative single- cell viability assessment by electrical evaluation of cell membrane integrity with microfabricated devices. *Sensors and Actuators A: Physical*.
- Hulka, L., & Pietsch, G. (2002). On the ignition voltage and structure of coplanar barrier discharges.
- Hunter, P., Hornby, H., Campbell, C., & Browne, K. (1994). Isolation of food spoilage yeasts from salads purchased from delicatessens. *British Food J.*, 23–25.
- Hurst, W. (1995). Sanitation of lightly processed fruits and vegetables. *Hortscience*, 22–24.

- IAEA. (2002). Natural and Induced Radioactivity in Food. *International Atomic Energy Agency*.
- Ikawa, S., Kitano, K., & Hamaguchi, S. (2010). Effects of pH on bacterial inactivation in aqueous solutions due to low-temperature atmospheric pressure plasma application. *Plasma Processes and Polymers*.
- Jacques, M.-A., & Morris, C. (1995). Bacterial population dynamics and decay on leaves of different ages of ready-to-use broad-leaved endive. *Internat. J. Food Sci. Technol.*, 221–236.
- Jakób, A., Bryjak, J., Wójtowicz, H., Illeová, V., Annus, J., & Polakovič, M. (2010). Inactivation kinetics of food enzymes during ohmic heating. *Food Chemistry*.
- Jay, J., Loessner, M., & Golden, D. (2005). Radiation protection of foods, and nature of microbial radiation resistance. *Modern Food Microbiology, 7th edition, Springer Science and Business Media*.
- Jayasekara, N. (1999). Ecological, physiological and biotechnological properties of pseudomonads isolated from mineral waters and salads. *PhD thesis*.
- Jeong, J., Babayan, S., Tu, V., Park, J., Henins, I., R.F., H., & Selwyn, G. (1998). Etching materials with an atmospheric pressure plasmas jet. *Plasma Sources Sci Technol*.
- Ji, S. H., Kim, T., Panngom, K., Hong, Y. J., Pengkit, A., Park, D. H., & Uhm, H. S. (2015). Assessment of the effects of nitrogen plasma and plasma-generated nitric oxide on early development of *Coriandum sativum*. *Plasma Processes and Polymers*.
- Joshi, R., Hu, Q., Schoenbach, K., & Hjalmarson, H. (2002). Improved energy model for membrane electroporation in biological cells subjected to electrical pulses. *Physical Review E (Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics)*.
- Kadam, S., Misra, N., & Zaima, N. (2016). Mass spectrometry based chemical imaging of foods. *RSC Adv*.
- Kato, H., Rhue, M., & Nishimura, T. (1989). Role of free amino acids and peptides in food taste. Στο R. B. R. Teranishi, *Flavor Chemistry: Trends and Developments*.
- Kaufman, P., Handy, C., McLaughlin, E. W., Park, K., & Green, G. (2000). *Understanding the Dynamics of Produce Markets : Consumption and Consolidation Grow*. Food and Rural Economics Division.
- Klonowski, I., Heinz, V., Toepfl, S., Gunnarsson, G., & Porkelsson, G. (2006). Applications of Pulsed Electric Field Technology for the Food Industry. *R&D Report Summary 06-06, Icelandic Fisheries Laboratories*.
- Kogelschatz, U. (2004). Atmospheric-pressure plasma technology. *Plasma Phys. Control. Fusion*.
- Kogelschatz, U., Eliasson, B., & Walter, E. (1999). From ozone generator to flat television screens: history and future potential of dielectric barrier discharges. *Pure Appl. Chem*.
- Kogelschatz, U., Hirth, M., & Eliasson, B. (1987). Ozone synthesis from oxygen in dielectric barrier discharges. *J. Phys. D: Appl. Phy.*
- Kogelschatz, U. (1990). Silent discharges for the generation of ultraviolet and vacuum ultraviolet excimer radiation. *Pure Appl. Chem*.

- Krishnamurthy, K., Demirci, A., & Irudayaraj, J. (2007). Inactivation of *Staphylococcus aureus* in milk using flow-through pulsed UV light treatment system. *Journal of Food Science*.
- Krishnamurthy, K., Demirci, A., Irudayaraj, J., & Yang, W. (2008). UV pasteurization of food materials. *Food Processing Operations ModelingQ Design and Analysis*.
- Lamikanra, O. (2002). *Fresh-Cut Fruits and Vegetables: Science, Technology and Market*.
- Lamikanra, O., Chen, J., Banks, D., & Hunter, P. (2000). Biochemical and microbial changes during the storage of minimally processed cantaloupe. *J. Agric. Food Chem.*
- Laroussi, M., & Leipold, F. (2004). Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure. *International Journal of Mass Spectrometry*.
- Laurita, R., Barbieri, D., Gherardi, M., Colombo, V., & Lukes, P. (2015). Chemical analysis of reactive species and antimicrobial activity of water treated by nanosecond pulsed DBD air plasma. *Clinical Plasma Medicine*.
- Lawn, J., & Krummert, B. (1995). Rise of Fresh-cut: Conquering New Frontiers. *The Foodservice Distributor*.
- Lee, Y., & Yeom, G. (2005). Properties and applications of a modified dielectric barrier discharge generated at atmospheric pressure. *Jpn. J. Appl. Phys.*
- Leistner, L. (1987). Shelf-table products and intermediate moisture foods based on meat, Water activity: Theory and applications to Food.
- Li, Z., Ohno, T., Sato, H., Sakugawa, T., Akiyama, H., Kunitomo, S., . . . Fujiwara, H. (2008). A method of water-bloom prevention using underwater pulsed streamer discharge. *Journal of Environmental Science and Health*,
- Liao, C. H., & Wells, J. M. (1987). Association of pectolytic strains of *Xanthomonas campestris* with soft rots of fruits and vegetables at retail markets. *Phytopathology*.
- Lindroth, S., Korkeala, H., Suiko, M., Aalto, M., Kuhmon, A., & Pentilla, P. (1985). Microbiological and sensory quality changes in cabbage casserole and mixed vegetable salad with mayonnaise during storage. *J. Food Prot.*, 292–299.
- Lindsay, A., Byrns, B., King, W., Andhvarapou, A., Fields, J., Knappe, D., . . . Shannon, S. (2014). Fertilization of radishes, tomatoes, and marigolds using a large-volume atmospheric glow discharge. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*.
- Ling, L., Jiafeng, J., Jiangang, L., Minchong, S., Xin, H., Hanliang, S., & Yuanhua, D. (2014). Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. *Scientific Reports*.
- Locke, B. R., Lukes, P., & Brisset, J. L. (2012). Elementary chemical and physical phenomena in electrical discharge plasma in gas–liquid environments and in liquids. Στο M. M. V. I. Parvulescu, *Plasma chemistry and catalysis in gases and liquids*. Weinheim, Germany.
- Lukes, P., Clupek, M., Babicky, V., & Sunka, P. (2008). Ultraviolet radiation from the pulsed corona discharge in water. *Plasma Sources Science and Technology*.

- Lukes, P., Dolezalova, E., Sisrova, I., & Clupek, M. (2014). Aqueous-phase chemistry and bactericidal effects from an air discharge plasma in contact with water: Evidence for the formation of peroxyxynitrite through a pseudo-second-order post-discharge reaction of H₂O₂ and HNO₂. *Plasma Sources Science and Technology*.
- Lukes, P., Locke, B. R., & Brisset, J. (2012). Aqueous-phase chemistry of electrical discharge plasma in water and in gas–liquid environments. *Plasma chemistry and catalysis in gases and liquids*.
- Lund, B. (1971). Bacterial spoilage of vegetables and certain fruits. *J. Appl. Bact.*
- Lund, B. (1992). Ecosystems in vegetable foods. *J. Appl. Bact. Symposium Supplement*, 115–126.
- Lund, B., & Snowden, A. (2000). Fresh and processed fruits. Στο T. B.-P. B.M. Lund, *The Microbiological Safety and Quality of Food Volume I*. Maryland.
- Lymar, S. V., & Hurst, J. K. (1998). CO₂-catalyzed one-electron oxidations by peroxyxynitrite: Properties of the reactive intermediate. *Inorganic Chemistry*.
- Ma, R., Wang, G., Tian, Y., Wang, K., Zhang, J., & Fang, J. (2015). Non thermal plasma activated water inactivation of food-borne pathogens on fresh produce. *Journal of Hazardous Materials*.
- Magnuson, J., King Jr., A., & Torok, T. (1990). Microflora of partially processed lettuce. *Applied Environmental Microbiology*, 3851–3854.
- Manos, D., & Flamm, D. (1989). Plasma Etching: An introduction. *Elsevier Academic Press*.
- Manzano, M., Citterio, B., Maifreni, M., Paganessi, M., & Comi, G. (1995). Microbial and sensory quality of vegetables for soup packaged in different atmospheres. *J. Food Sci. Agric.*, 521–529.
- Marchetti, R., Casadei, M., & Guerzoni, M. (1992). Microbial population dynamics in ready-to-eat vegetable salads. *Ital. J. Food Sci.*
- Marnett, L. J. (1999). Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutation Research: Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*.
- Mcferson, L. L. (1993). Understanding ORP's role in the disinfection process. *Water Engineering and Management*.
- Misra, N. (2015). The contribution of non-thermal and advanced oxidation technologies towards dissipation of pesticide residues. *Trends Food Sci. Technol.*
- Misra, N., Patil, S., Moiseev, T., Bourke, P., Mosnier, J., Keener, K., & Cullen, P. (2014). In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of strawberries. *J.Food*.
- Misra, N., Schlüter, O., & Cullen, P. (2016). *Cold Plasma in Food and Agriculture*.
- Mitra, A., Li, Y. F., Klämpfl, T. G., Shimizu, T., Jeon, J., Morfill, G. E., & Zimmermann, J. (2014). Inactivation of surface-borne microorganisms and increased germination of seed specimen by cold atmospheric plasma. *Food and Bioprocess Technology*.
- Møller, I. M., Jensen, P. E., & Hansson, A. (2007). Oxidative modifications to cellular components in plants. *Annual Review of Plant Biology*.
- Moreau, M., Feuilleley, M. G., Orange, N., & Brisset, J. L. (2005). Lethal effect of the gliding arc discharges on *Erwinia* spp. *Journal of Applied Microbiology*.

- Naitali, 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*.
- Narayana, B., & Sunil, K. (2009). A Spectrophotometric Method for the Determination of Nitrite and Nitrate. *Eurasian J. Anal. Chem.*
- Naumova, I. K., Maksimov, A. I., & Khlyustova, A. V. (2011). Stimulation of the germinability of seeds and germ growth under treatment with plasma-activated water. *Surface Engineering and Applied Electrochemistry*.
- Nehra, V., Kumar, A., & Dwivedi, H. (2008). Atmospheric Non-Thermal Plasma Sources. *International Journal of Engineering*.
- Nehra, V., Mittal, C., & Dwivedi, H. (2005). Micro hollow Cathode Plasma Applications: From Excimer Source to Flat TV Screens. *ICFAI Journal of Science & Technology*.
- Nguyen-The, C., & Carlin, F. (1994). The microbiology of minimally processed fresh fruit. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 371–401.
- Nguyen-The, C., & Carlin, F. (2000). Fresh and processed vegetables. Στο T. B.-P. B.M. Lund, *The Microbiological Safety and Quality of Food Volume I* (σσ. 620–684). Maryland: Aspen Publishers.
- Nguyen-The, C., & Prunier, J. (1989). Involvement of pseudomonads in deterioration of ready-to-use salads. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 47–58.
- O’Conner-Shaw, R., Roberts, R., & Nottingham, S. (1994). Shelf-life of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. *J. Food Sci.*
- Oehmigen, K., Hähnel, M., Brandenburg, R., Wilke, C., Weltmann, K. D., & Von Woedtke, T. (2010). The role of acidification for antimicrobial activity of atmospheric pressure plasma in liquids. *Plasma Processes and Polymers*.
- Ortega-Rivas, E. (2012). *Non Thermal Food Engineering Operations*.
- Padaga, M., Heard, G., Paton, J., & Fleet, G. (1999). Proceedings of the Seventeenth International Conference of the International Committee on Food Microbiology and Hygiene (ICFMH).
- Park, D. P., Davis, K., Gilani, S., Alonzo, C. A., Dobrynin, D., Friedman, G., . . . Fridman, G. (2013). Reactive nitrogen species produced in water by non-equilibrium plasma increase plant growth rate and nutritional yield. *Current Applied Physics*.
- Park, J., Henins, I., Hermann, H., & Selwyn, G. (2001). Gas breakdown in atmospheric radiofrequency capacitive plasma source. *J. Appl. Phy.*
- Patil, S., Moiseev, T., Misra, N., Cullen, P., Mosnier, J., Keener, K., & Bourke, P. (2014). Influence of high voltage atmospheric cold plasma process parameters and role of relative humidity on inactivation of *Bacillus atrophaeus* spores inside a sealed package. *J. Hosp. Infect.*
- Pemen, A., Hoeben, W. F., van Ooij, P., & Leenders, P. H. (2016). Plasma activated water.
- Pemen, A., Hoeben, W., van Ooij, P., & Leenders, P. (2016). *Ευρεσιτεχνία Αρ. WO2016096751*.

- Pietsch, G., & Humpert, C. (2002). Discharge mechanism and ozone generation by surface discharges depending on polarity.
- Puač, N., Gherardi, M., & Shiratani, M. (2017). Plasma agriculture: A rapidly emerging field. *Plasma Processes and Polymers*.
- Quass, D. (1997). Pulsed Electric Field Processing in the Food Industry. *Electric Power Research Institute*.
- Riordan, E., Minogue, N., Healy, D., O'Driscoll, P., & Sodeau, J. R. (2005). Spectroscopic and optimization modeling study of nitrous acid in aqueous solution. *The Journal of Physical Chemistry*.
- Roth, J. (1995). Industrial Plasma Engineering: vol. 1—Principles. Bristol and Philadelphia.
- Roth, J. (2001). Industrial plasma engineering: vol. 2, Application to non thermal plasma. Bristol and Philadelphia.
- Rubbo, H., Trostchansky, A., & O'Donnell, V. B. (2009). Peroxynitrite-mediated lipid oxidation and nitration: Mechanisms and consequences. *Archives of Biochemistry and Biophysics*.
- Sabino, J. (1990). *Contribution de l'acheteur aux innovations: Le cas de la quatrième gamme fruits et légumes frais*. France.
- Sahu, J. (2001). *Introduction to Advanced Food Process Engineering*.
- Sapers, G., & Simmons, G. (1998). Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruits and vegetables. *Food Technol.*, 48–52.
- Satchell, F. B., Stephenson, P., Andrews, W., Estela, L., & Allen, G. (1990). The survival of *Shigella sonnei* in shredded cabbage. *J. Food Prot.*
- Scandella, D., & Leteinturier, J. (1989). *La quatrième gamme*. Paris, France.
- Schnabel, U., Niquet, R., Schmidt, C., Stachowiak, J., Schlüter, O., Andrasch, M., & Ehlbeck, J. (2016). Antimicrobial efficiency of non-thermal atmospheric pressure plasma processed water (PPW) against agricultural relevant bacteria suspensions. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*.
- Schoenbach, K., & Stark, R. (1998). Direct current high-pressure glow discharges. *Appl Phys Lett*.
- Schoenbach, K., Habachi, A., Shi, W., & Ciocca, M. (1997). High- pressure micro hollow cathode discharges. *Plasma Sources Sci Technol*.
- Schoenbach, K., Stark, R. H., Katsuki, S., Buescher, E., & Beebe, S. (2001). Bioelectrics – new applications for pulsed power technology. *IEEE Conference Record Abstracts*.
- Scholtz, V., Pazlarova, J., Souskova, H., Khun, J., & Julak, J. (2015). Nonthermal plasma—a tool for decontamination and disinfection. *Biotechnology Advances*.
- Schroth, M., Hildebrand, D., & Panopoulos, N. (1992). Phytopathogenic pseudomonads and related plant-associated pseudomonads. Στο H. T. A. Balows, *Prokaryotes, Vol. 111—A Handbook on the Biology of Bacteria*. New York.
- Schutze, A., Jeong, J., Babayan, S., Park, J., Selwyn, G., & Hicks, R. (1998). The atmospheric-pressure plasma jet: A review and comparison to other plasma sources. *IEEE Trans Plasma Sci*.

- Scott, J., & Hui, Y. (2004). *Food Processing Principles and Applications*. Blackwell publishing.
- Selwyn, G., Herrmann, H., Park, J., & Henins, I. (2001). Material processing using an atmospheric pressure RF-generated plasma source. *Contrib Plasma Phys.*
- Shainsky, N., Dobrynin, D., Ercan, U., Joshi, S., Fridman, G., Friedman, G., & Fridman, A. (2010). Effect of liquid modified by non-equilibrium atmospheric pressure plasmas on bacteria inactivation rates. *Plasma Science.*
- Shainsky, N., Dobrynin, D., Ercan, U., Joshi, S., Ji, H., Brooks, A., . . . Friedman, G. (2012). Retraction: Plasma acid: Water treated by dielectric barrier discharge. *Plasma Process and Polymers.*
- 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.*
- Silliker, J. (1995). Microbiological testing and HACCP programs. *Scope.*
- Souskova, H., Scholtz, V., Julák, J., Kómmová, L., Savická, D., & Pazlarová, J. (2011). The survival of micromycetes and yeasts under the low-temperature plasma generated in electrical discharge. *Folia Microbiologica.*
- Spetlikova, E., Janda, V., Lukes, P., & Clupek, M. (2010). Role of UV radiation, solution conductivity and pulse repetition frequency in the bactericidal effects during pulse corona discharges.
- Stara, Z., & Krčma, F. (2004). The study of H₂O₂ generation by DC diaphragm discharge in liquids. *Journal of Physics.*
- Su, L., Lan, Q., Pritchard, H. W., Xue, H., & Wang, X. (2016). Reactive oxygen species induced by cold stratification promote germination of *Hedysarum scoparium* seeds. *Plant Physiology and Biochemistry.*
- Sun, P., Wu, H., Bai, N., Zhou, H., Wang, R., Feng, H., & Fang, J. (2012). Inactivation of *Bacillus subtilis* spores in water by a direct-current, cold atmospheric-pressure air plasma microjet. *Plasma Processes and Polymers.*
- Sunil, K., & Narayana, B. (2008). Spectrophotometric Determination of Hydrogen Peroxide. *Bull Environ Contam Toxicol.*
- Suslow, T. (2004). Oxidation-reduction potential (ORP) for water disinfection monitoring. *UCANR Publications.*
- Swart, G., Blignaut, C., & Jooste, P. (2003). Other Pasteurization Processes. Στο L. Trugo, & P. Finglas, *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)* (σσ. 4401-4406).
- Takahata, J., Takaki, K., Satta, N., Takahashi, K., Fujio, T., & Sasaki, Y. (2014). Improvement of growth rate of plants by bubble discharge in water. *Japanese Journal of Applied Physics.*
- Tarr, M. A. (2003). Chemical degradation methods for wastes and pollutants: Environmental and industrial applications. *CRC Press.*
- Tauxe, R., Kruse, H., Hedberg, C., Potter, M., Madden, J., & Wachmuth, K. (1997). Microbial hazards and emerging issues associated with produce. A preliminary report to the National Advisory Committee on Microbiologic Criteria for Foods. *J. of Food Prot.*, 1400–1408.

- Terrier, O., Essere, B., Yver, M., Barthélémy, M., Bouscambert-Duchamp, M., Kurtz, P., . . . Moules, V. (2009). Cold oxygen plasma technology efficiency against different airborne respiratory viruses. *Journal of Clinical Virology*.
- Thirumdas, R., Kothakota, A., Annapure, U., Siliveru, K., Blundelle, R., Gatt, R., & Valdramidis, V. (2018). Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture. *Trends in Food Science & Technology*.
- Thirumdas, R., Sarangapani, C., & Annapure, U. S. (2015). Cold plasma: A novel nonthermal technology for food processing. *Food Biophysics*.
- Tian, Y., Ma, R., Zhang, Q., Feng, H., Liang, Y., Zhang, J., & Fang, J. (2015). 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*.
- Townsend, J. (1915). *Electricity in Gases*. Clarendon Press.
- Townsend, J. (1925). *Motion of Electrons in Gases*. Clarendon Press.
- Traylor, M. J., Pavlovich, M. J., Karim, S., Hait, P., Sakiyama, Y., & Clark, D. S. (2011). Long-term antibacterial efficacy of air plasma-activated water. *Journal of Physics*.
- van Gils, C. A., Hofmann, S., Boekema, B. K., Brandenburg, R., & Bruggeman, P. J. (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*.
- Watts, R. J., Kong, S., Orr, M. P., Miller, G. C., & Henry, B. E. (1995). Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent. *Water Research*.
- White, A. (1959). New hollow cathode glow discharge. *J. Appl. Phy.*
- Wouters, P., A.P., B., & Ueckert, J. (2001). Membrane permeabilization in relation to inactivation kinetics of Lactobacillus species due to pulsed electric fields. *Applied and Environmental Microbiology*.
- Wyllie, S., & Leach, D. (1992). Sulfur-containing compounds in the aroma volatiles of melons (Cucumis melo). *J. Agric. Food Chem.*
- Xu, X. (2001). Dielectric barrier discharge-properties and applications. *Thin Solid Films*.
- Xu, Y., Tian, Y., Ma, R., Liu, Q., & Zhang, J. (2016). Effect of plasma activated water on the postharvest quality of button mushrooms, Agaricus bisporus. *Food Chemistry*.
- Yusupov, M., Bogaerts, A., Huygh, S., Snoeckx, R., van Duin, A. C., & Neyts, E. (2013). Plasma induced destruction of bacterial cell wall components: A reactive molecular dynamics simulation. *Journal of Physical Chemistry*.
- Zagory, D., & Hurst, W. (1996). Food Safety Guidelines for the Fresh-cut Produce Industry. 3rd Ed., *International Fresh-cut Produce Association (IFPA)*.
- Zhang, Q., Ma, R., Tian, Y., Su, B., Wang, K., Yu, S., . . . Fang, J. (2016). Sterilization efficiency of a novel electrochemical disinfectant against Staphylococcus aureus. *Science and Technology*.
- Zhang, S., & Farber, J. (1996). The effects of various disinfectants against Listeria monocytogenes on fresh-cut vegetables. *Food Microbiol.*

- Zhuang, H., Barth, M., & Hildebrand, D. (1994). Packaging influenced total chlorophyll, soluble protein, fatty acid composition and lipoxygenase activity in broccoli florets. *J. Food Sci.*
- Θωμόπουλος, Χ. (1981). *Τεχνολογία γεωργικών βιομηχανιών*. Αθήνα: Πανεπιστημιακές εκδόσεις ΕΜΠ.
- Σαββαΐδης, Ι. (2002-2003). Εισαγωγή στην τεχνολογία εμποδίων ως μεθόδου συντήρησης των τροφίμων. *Εργαστήριο Χημείας και Μικροβιολογίας Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων*.
- Τζιά, Κ. (1999). *Στοιχεία χημείας τροφίμων*. Αθήνα: εκδόσεις ΕΜΠ.
- Ωραιοπούλου, Β., & Τσιμογιάννης, Δ. (2016). Θερμικές Κατεργασίες τροφίμων - Ζεμάτισμα, Αποστείρωση κονσερβών. Στο *Σχεδιασμός Βιομηχανιών Τροφίμων-Επεξεργασία και Συντήρηση Τροφίμων* (σσ. 27-29). Αθήνα.