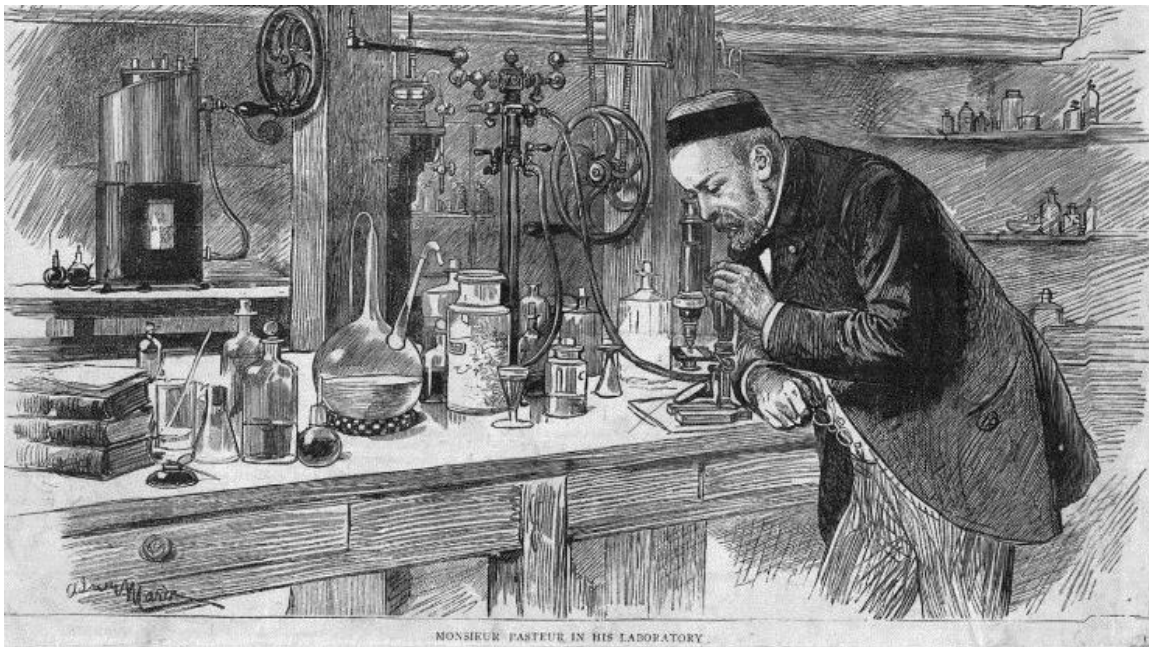




ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΣΗΤΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ

«Τεχνολογία εμποδίων: μια νέα προσέγγιση της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων»



ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Της φοιτήτριας: Ιωαννίδου Σοφίας

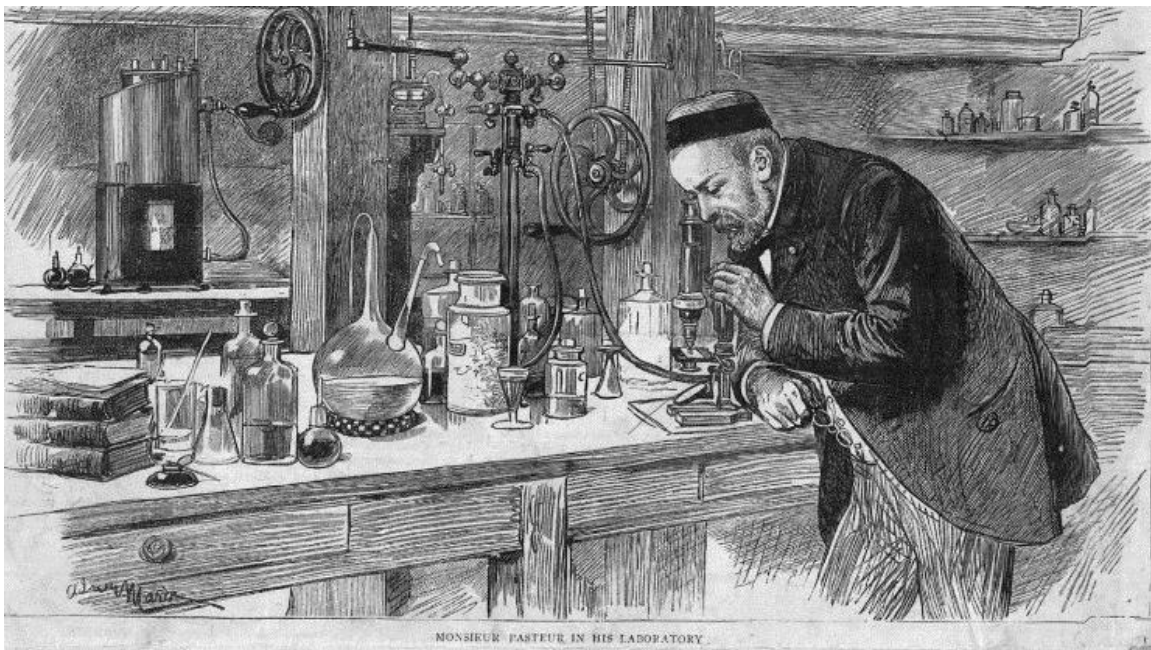
ΑΜ:1836

Επιβλέπων καθηγητής: Λαπιδάκης Νικόλαος



TECHNOLOGICAL EDUCATIONAL INSTITUTE OF CRETE
FACULTY OF SITIA
DEPARTMENT OF NUTRITION AND DIETETICS

**«Hurdle technology: a novel approach for enhanced food quality
and safety»**



THESIS

Student: Ioannidou Sophia

AM:1836

Supervisor: Lapidakis Nikolaos

Περίληψη

Οι συνεχώς αυξανόμενοι κίνδυνοι από τις τροφιμογενείς απειλές καθιστούν την ασφάλεια των τροφίμων ένα πολύ σημαντικό θέμα για διερεύνηση. Οι αρνητικές επιπτώσεις αυτών πλήττουν όχι μόνο τη βιομηχανία τροφίμων αλλά και την υγεία των καταναλωτών καθώς επίσης και την οικονομία. Η βιομηχανία τροφίμων αυξάνει τις προσπάθειές της για την ενίσχυση της ασφάλειας των τροφίμων σε όλο τον κόσμο. Έχει εκτιμηθεί μια ποικιλία συμβατικών και καινοτόμων τεχνικών για την επίλυση των προβλημάτων που σχετίζονται με την ασφάλεια των τροφίμων. Ωστόσο, ορισμένες από αυτές τις τεχνικές επηρεάζουν δυσμενώς την ποιότητα των τροφίμων, τα θρεπτικά συστατικά που περιέχουν αλλά και τις οργανοληπτικές τους ιδιότητες. Η τεχνολογία εμποδίων αποτελεί μια νέα μέθοδο επεξεργασίας των τροφίμων με στόχο την βελτίωση της ασφάλειας αλλά και τη διασφάλιση της ποιότητας του τελικού προϊόντος. Συνδιάζει τη δράση και την αποτελεσματικότητα διαφορετικών τεχνικών απολύμανσης και μελετά αρκετούς επιτυχείς συνδυασμούς θερμικών και μη θερμικών τεχνολογιών.

Λέξεις κλειδιά: τεχνολογία τροφίμων, ποιότητα τροφίμων, ασφάλεια τροφίμων, επεξεργασία τροφίμων, φυσικά αντιμικροβιακά

A b s t r a c t

Increasing hazards and insufficient knowledge regarding foodborne threats make food safety an important issue. Foodborne threats can disrupt markets and can lead to substantial economic losses for everyone from farm input traders to customers. The food industry is increasing its efforts to enhance food safety throughout the world. Researchers have redirected their focus toward food science to conform to the issues and find feasible solutions. A variety of conventional and novel techniques have been assessed to solve food safety-related problems. However, certain of these techniques adversely affect the quality of the food, the nutrients it contains and its organoleptic properties. Hurdle technology is A novel approach for enhanced food quality and Safety. This technique highlights the effectiveness of decontamination techniques and discusses several successful combinations of thermal and nonthermal technologies.

Key words: hurdle technology, food quality, food safety, food processing, natural antimicrobials

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	2
2. ΣΚΟΠΟΣ	7
3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	8
3.1 ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	8
3.1.1 ΘΕΡΜΑΝΣΗ.....	8
3.1.2 ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΘΕΡΜΑΝΣΗ (ΡΑΔΙΟ- ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ)	10
3.1.2 ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ	14
3.1.3 ΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ (HPP).....	16
3.1.4 ΠΑΛΜΙΚΑ ΗΛΕΚΤΡΙΚΑ ΠΕΔΙΑ (PEF)	20
3.1.5 ΩΜΙΚΗ ΘΕΡΜΑΝΣΗ.....	24
3.1.6 ΨΥΞΗ/ΚΑΤΑΨΥΞΗ.....	26
3.1.7 ΧΡΗΣΗ ΟΖΟΝΤΟΣ	29
3.1.8 ΗΛΕΚΤΡΟΛΥΣΗ ΝΕΡΟΥ.....	34
3.1.9 ΕΞΩΘΗΣΗ	37
3.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	41
3.2.1 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ	41
3.2.2 ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΟΞΕΑ.....	45
4. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ	47
4.1 ΦΥΣΙΚΑ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ	48
4.1.1 Φυσικά αντιμικροβιακά φυτικής προέλευσης.....	49
4.1.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΑΙ ΤΗ ΔΙΑΔΟΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	57
4.1.3 ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ	60
4.2 ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ	63
4.2.1 ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΕΣ.....	63
4.2.2 ΝΙΣΙΝΗ.....	65
4.2.3 ΠΕΔΙΟΣΙΝΕΣ	66
4.2.4 ΣΑΚΑΣΙΝΕΣ	66
4.2.5 ΑΛΛΕΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΕΣ.....	67
4.2.6 ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΩΝ.....	67
4.2.7 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΩΝ.....	68

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ 70

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 73

SHEARER A.E., DUNNE C.P., SIKES A., HOOVER D.G. (2000) "BACTERIAL SPORE INHIBITION AND INACTIVATION IN FOODS BY PRESSURE, CHEMICAL PRESERVATIVES AND MILD HEAT", J FOOD PROT.NOV;63(11):1503-10. 82

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Θέμα της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η τεχνολογία εμποδίων, μια μεθοδολογία που έχει αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια και κερδίζει συνεχώς έδαφος στη βιομηχανία τροφίμων. Πώς και πότε, όμως, ξεκίνησε η επεξεργασία τροφίμων; Η ιστορία της επεξεργασία τροφίμων ξεκινά πριν 2 εκατομμύρια χρόνια περίπου, όταν οι τότε άνθρωποι ανακάλυψαν το μαγείρεμα, τον πρώτο τρόπο επεξεργασίας τροφίμων (WranghamR. 2009).

Κατά τη διάρκεια των προϊστορικών χρόνων πέραν του μαγειρέματος εφευρέθηκαν κι άλλοι τρόποι για να προστατεύονται οι τροφές από την ανάπτυξη μικροοργανισμών, όπως ζύμωση, ξήρανση, παραγωγή αλίπαστων και άλλες μορφές επεξεργασίας τροφίμων. Αυτό επέτρεψε στις πρώτες κοινότητες να επιβιώσουν. Οι άνθρωποι, δηλαδή, έμαθαν πρώτα πώς να μαγειρεύουν τα τρόφιμα και μετά το πώς να τα διατηρούν. Αυτή η εμπειρική τεχνολογία οδήγησε στη σύγχρονη επεξεργασία τροφίμων (HallR.L. 1989, FlorosJ. 2008).

Πολύ αργότερα με την καλλιέργεια των φυτών και της γης - στο τέλος της τελευταίας εποχής των παγετώνων- οι άνθρωποι ξεκινούν να καταναλώνουν κρέας. Στο τέλος της τελευταίας εποχής των παγετώνων, οι άνθρωποι έχουν ήδη εξημερώσει τα ζώα και καλλιεργούν τη γη, επιτρέποντας την αποτελεσματικότερη παραγωγή τροφίμων από ό, τι σε κοινωνίες κυνηγών-συλλεκτών. Η εξημέρωση των φυτών και των ζώων συνέβη κυρίως στην Ευρασιατική ήπειρο (SmithB.D. 1998) και συγκεκριμένα στη Μέση Ανατολή στην επονομαζόμενη γόνιμη ημισέληνο, που εκτείνεται από την Παλαιστίνη μέχρι τη νότια Τουρκία, και κάτω από τις κοιλάδες του Τίγρη και του Ευφράτη. Εκεί υπήρχαν καλλιέργειες κριθαριού, σιταριού, φακές αλλά κι εκτροφή ζώων όπως πρόβατα, αίγες, βοοειδή και χοίροι.

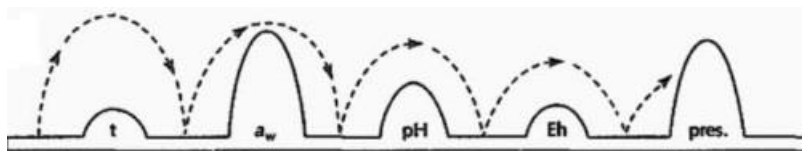
Η μελέτη κάθε αρχαίου πολιτισμού δείχνει σαφώς ότι σε όλη την ιστορία ο άνθρωπος ξεπέρασε την πείνα και την ασθένεια, όχι μόνο από συγκομιδή, αλλά και με επεξεργασία των τροφίμων . Για παράδειγμα, στην αρχαία Ελλάδα τα πιο σημαντικά τρόφιμα ήταν ψωμί, ελαιόλαδο και κρασί, όλα προϊόντα ζύμωσης (Floros J. 2004).

Σήμερα, το σύστημα παραγωγής τροφίμων είναι πολύπλοκο, διασφαλίζει όμως την ασφάλεια, νοστιμιά, χαμηλότερο κόστος. Στην επιτυχία αυτού του συστήματος συνέβαλαν η σύγχρονη επιστήμη και η τεχνολογία των τροφίμων με την αρωγή της

(μικρο)βιολογίας, της χημείας, της φυσικής, της μηχανικής, της βιοτεχνολογίας, αλλά και της επιστήμης υλικών.

Αν και σήμερα οι καταναλωτές απολαμβάνουν τα οφέλη από την επεξεργασία τροφίμων, υπάρχουν ορισμένες αντιρρήσεις, οι οποίες αφορούν στην ανησυχία με την τεχνολογία, τη χρήση χημικών και τη διαφήμιση που έχει κατά καιρούς εκμεταλλευτεί τα πρόσθετα τροφίμων (Slovic P. 1987, Clydesdale F.M. 1989). Κατά καιρούς, άλλωστε, η βιομηχανία τροφίμων έχει εφαρμόσει εσφαλμένα τις επιστημονικές και τεχνολογικές γνώσεις για την ανάπτυξη επεξεργασμένων τροφίμων με αποτέλεσμα την υιοθέτηση κακών διατροφικών συνηθειών.

Υπάρχουν πολλές μέθοδοι συντήρησης που χρησιμοποιούνται προκειμένου τα τρόφιμα να διατηρηθούν αναλλοίωτα κι ασφαλή, όπως θέρμανση, ψύξη, κατάψυξη, ξήρανση, σκλήρυνση, αλάτισμα, προσθήκη ζάχαρης, οξίνιση, ζύμωση, κάπνισμα και αφαίρεση οξυγόνου. Ωστόσο, αυτές οι διαδικασίες βασίζονται σε λίγες παραμέτρους ή εμπόδια, δηλαδή υψηλή θερμοκρασία (F), χαμηλή θερμοκρασία (t), δραστηριότητα νερού (a_w), οξίνιση (pH), οξειδοαναγωγικό δυναμικό (Eh). Σε μερικές από τις προαναφερόμενες μεθόδους διατήρησης, αυτές οι παράμετροι έχουν μεγάλη σημασία, ενώ σε άλλες είναι μόνο δευτερεύοντα εμπόδια. Οι κρίσιμες τιμές αυτών των παραμέτρων για τον θάνατο, την επιβίωση ή την ανάπτυξη μικροοργανισμών που εμφανίζονται στα τρόφιμα έχουν καθοριστεί τις τελευταίες δεκαετίες και αποτελούν πλέον τη βάση διατήρησης των τροφίμων. Ωστόσο, πρέπει να ληφθεί υπ' όψη ότι η κρίσιμη τιμή μιας συγκεκριμένης παραμέτρου αλλάζει εφόσον υπάρχουν άλλοι συντηρητικοί παράμετροι στα τρόφιμα. Για παράδειγμα, η αντοχή των βακτηρίων στη θερμότητα αυξάνεται σε χαμηλά επίπεδα a_w και μειώνεται παρουσία ορισμένων συντηρητικών ή η χαμηλή Eh αυξάνει την αναστολή των μικροοργανισμών που προκαλείται από μια μειωμένη a_w .



Σχήμα 1.1: Σχηματική αναπαράσταση του φαινομένου φραγμού. Στο παράδειγμα έχουν χρησιμοποιηθεί ως εμπόδια (με σειρά εμφάνισης): χαμηλή θερμοκρασία (t), ενεργότητα υγρασίας (a_w), pH, οξειδοαναγωγικό δυναμικό (Eh), πίεση (pres.). Πηγή: <http://slideplayer.com/slide/10251553/>

Η ταυτόχρονη επίδραση διαφορετικών συντηρητικών παραγόντων μπορεί να είναι προσθετική ή ακόμα και συνεργιστική. Μάλιστα, έχει αποδειχθεί σε διάφορες μελέτες πως η μικροβιακή σταθερότητα και η ασφάλεια πολλών τροφίμων αυξάνεται κατά πολύ με συνδυασμό χρήσης τεχνολογιών - εμποδίων. Παραδείγματος χάριν, τα ελαφρώς θερμαινόμενα κονσερβοποιημένα τρόφιμα χρειάζονται ψύξη κατά την αποθήκευση ή τα λουκάνικα που έχουν υποστεί ζύμωση είναι σταθερά και ασφαλή εάν και το a_w και το pH βρίσκονται εντός κατάλληλου εύρους.

Προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφάλεια ενός τροφίμου, απαιτείται η εφαρμογή κάποιων φυσικοχημικών ή μικροβιολογικών παραγόντων, οι οποίοι λειτουργούν ως φραγμοί αναχαιτίζοντας την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Προφανώς οι παράγοντες που χρησιμοποιούνται διαφέρουν σε ποιότητα και ένταση ανάλογα με το συγκεκριμένο προϊόν. Ωστόσο, σε κάθε περίπτωση, τα εμπόδια πρέπει να διατηρούν τον «κανονικό» πληθυσμό μικροοργανισμών στα τρόφιμα υπό έλεγχο. Οι μικροοργανισμοί που υπάρχουν εξαρχής σε ένα τρόφιμο δεν πρέπει να είναι σε θέση να υπερνικήσουν τα υπάρχοντα εμπόδια. Αλλιώς το φαγητό θα αλλοιωθεί και μπορεί να προκαλέσει τροφική δηλητηρίαση. Συνήθως για τη διατήρηση της μικροβιακής σταθερότητας ενός προϊόντος χρησιμοποιούνται εμπόδια διαφορετικής έντασης.

Η καλύτερη κατανόηση της εμφάνισης και της αλληλεπίδρασης διαφόρων συντηρητικών παραγόντων (εμπόδια) στα τρόφιμα αποτελεί τη βάση για βελτιώσεις στη διατήρηση τροφίμων. Εάν τα εμπόδια σε ένα τρόφιμο είναι γνωστά, η μικροβιακή σταθερότητα και η ασφάλεια αυτού του τροφίμου μπορεί να βελτιστοποιηθεί αλλάζοντας την ένταση ή την ποιότητα αυτών των εμποδίων.

Ως εκ τούτου, προέκυψε ο όρος «τεχνολογία εμποδίων», σύμφωνα με την οποία τα εμπόδια συνδυάζονται σκόπιμα στη διατήρηση παραδοσιακών και νέων τροφίμων. Η τεχνολογία εμπόδιο ή η τεχνολογία συνδυασμένων μεθόδων (CMT), από την άλλη πλευρά, βασίζεται στο συνδυασμό χαμηλών επιπέδων δύο ή περισσότερων παραγόντων διατήρησης (εμπόδια). Κανένας παράγοντας δεν είναι υπεύθυνος για τη σταθερότητα του προϊόντος, αλλά η σταθερότητα προκύπτει από τη συνέργεια μεταξύ των συνδυασμένων παραγόντων. Η τεχνολογία εμποδίων παράγει ελάχιστες αισθητικές αλλαγές, γεγονός που καθιστά τα προϊόντα πιο αποδεκτά από εκείνα που λαμβάνονται με συμβατικές μεθόδους (Aguilera J.M. and Chirife J. 1994).

Εάν υπάρξει ο κατάλληλος συνδυασμός εμποδίων, είναι δυνατόν να βελτιωθεί όχι μόνο η μικροβιακή σταθερότητα και ασφάλεια αλλά και η αισθητική και θρεπτική ποιότητα ενός τροφίμου καθώς και το κόστος παραγωγής του. Όσον αφορά στο κόστος είναι σημαντικό να γνωρίζουμε κάποιες παραμέτρους όπως για παράδειγμα πόσο νερό στο προϊόν είναι συμβατό με τη μικροβιακή του σταθερότητα και αν μια αυξημένη a_w αντισταθμίζεται από άλλα εμπόδια (pH και Eh.) Η τεχνολογία εμποδίων χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο για τον σχεδιασμό τροφίμων στις βιομηχανικές και αναπτυσσόμενες χώρες. Στοχεύει στη βελτιστοποίηση των παραδοσιακών τροφίμων αλλά και στην κατασκευή νέων προϊόντων. Για παράδειγμα, εάν η διατήρηση της ενέργειας είναι ο στόχος, τότε τα εμπόδια κατανάλωσης ενέργειας όπως η ψύξη αντικαθίστανται από άλλα εμπόδια (a_w , pH ή Eh), τα οποία δεν απαιτούν ενέργεια και εξακολουθούν να εξασφαλίζουν την απαιτούμενη ασφάλεια. Επιπλέον, εάν θέλουμε να μειώσουμε ή να αντικαταστήσουμε συντηρητικά, όπως τα νιτρικά στα κρέατα, θα μπορούσαμε να αυξήσουμε άλλα εμπόδια στο τρόφιμο, π.χ. a_w , pH, ψύξη ή ανταγωνιστική χλωρίδα, που θα σταθεροποιούσαν το προϊόν (Leistner *et al.* 1980).

Η έννοια της τεχνολογίας εμποδίων όπως αναφέρθηκε είναι αρκετά παλιά. Σήμερα πλέον αυτό που ενδιαφέρει τους ερευνητές είναι η βελτίωση ή κι η χρήση νέων συντηρητικών παραγόντων (εμπόδια). Τα πιο σημαντικά εμπόδια που χρησιμοποιούνται συνήθως για τη διατήρηση των τροφίμων είναι η θερμοκρασία (υψηλή ή χαμηλή), η μειωμένη ενεργότητα νερού (a_w), η οξύτητα (pH), το χαμηλό οξειδοαναγωγικό δυναμικό (Eh), διάφορα οξέα (π.χ., νιτρώδη, σορβικά καιθειώδη) και ανταγωνιστικοί μικροοργανισμοί (π.χ. βακτήρια γαλακτικού οξέος). Βέβαια, πρέπει να αναφερθεί ότι έχουν καταγραφεί πολύ περισσότερα εμπόδια δυνητικής χρήσης σε τρόφιμα ζωικής ή φυτικής προέλευσης (πάνω από 50), τα οποία βελτιώνουν τη σταθερότητα και την ποιότητα των προϊόντων αυτών. Προς το παρόν, ιδιαίτερη προσοχή δίδεται κυρίως σε φυσικές, μη θερμικές διεργασίες (υψηλή υδροστατική πίεση, μαγνητοθεραπεία, ταλαντευόμενα μαγνητικά πεδία, παλμικά ηλεκτρικά πεδία και παλμοί φωτός), καθώς σε συνδυασμό με συμβατικά εμπόδια μπορεί να αποτελέσουν τον ιδανικό συνδυασμό εμποδίων που εξασφαλίζει μικροβιακή σταθερότητα με μικρή επαγωγική υποβάθμιση των αισθητηριακών και θρεπτικών ιδιοτήτων των φρέσκων, κυρίως, τροφίμων.

Μια άλλη ομάδα εμποδίων που επί του παρόντος έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τις βιομηχανικές και αναπτυσσόμενες χώρες είναι τα λεγόμενα "φυσικά συντηρητικά" (εκχυλίσματα μπαχαρικών, λυσοζύμη, χιτοζάνη, υδρολύματα πηκτίνης, πρωταμίνη, γλυκοπρωτεΐνη πάπρικας και εκχυλίσματα λυκίσκου). Επιπλέον, μελετάται η μικροδομή ορισμένων τροφίμων (π.χ. γαλακτώματα, λουκάνικα που έχουν υποστεί ζύμωση και

τυριά που έχουν ωριμάσει), η οποία μπορεί να αποτελέσει σημαντικό εμπόδιο σε σχέση με την ανάπτυξη μικροβίων.

Η συνολική ποιότητα ενός τροφίμου πρέπει να εκτιμάται από διάφορες παραμέτρους, όπως τη σύσταση και το είδος του προϊόντος, την περιεκτικότητα (%) των συντηρητικών ουσιών, τη βιομηχανική επεξεργασία με την οποία λαμβάνεται το σταθερό, υγιεινό κι ασφαλές προϊόν.

Ωστόσο, όλα τα παραπάνω προφανώς και δεν θα χρησιμοποιηθούν όλα για τη διατήρηση των τροφίμων, και ασφαλώς όχι στο ίδιο προϊόν διατροφής. Παρακάτω δίνεται ένας πίνακας με τα εμπόδια που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων.

ΦΥΣΙΚΑ ΕΜΠΟΔΙΑ	ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΑ ΕΜΠΟΔΙΑ
1. Θερμική επεξεργασία	1. Ενεργότητα νερού
2. Θερμική συντήρηση	2. Οξύτητα (pH)
3. Ακτινοβόληση	3. Οργανικά οξέα
4. Ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία	4. Ανόργανα οξέα (CO ₂ , NO ₃ ⁻ , SO ₄ ²⁻)
5. Υπερυψηλή πίεση	5. Ανταγωνιστική μικροχλωρίδα
	6. Βακτηριοσίνες

Πίνακας 1: Φυσικά και χημικά εμπόδια που χρησιμοποιούνται για τη διασφάλιση της ποιότητας τροφίμων.

2. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής εργασίας είναι η αναλυτική εξέταση των μεθόδων της τεχνολογίας εμποδίων, η οποία αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη πρόταση στην τεχνολογία τροφίμων. Αρχικά θα αναλυθούν οι διάφορες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σήμερα στην τεχνολογία τροφίμων προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφάλεια των τροφίμων κατά την παραγωγή, τη διατήρηση και τη διακίνηση τους, χωρίς να αλλοιώνονται τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Πέραν όμως των αρχών της κάθε μεθόδου θα αναφερθούν τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα έκαστης, καθώς και παραδείγματα εφαρμογής τους στη βιομηχανία τροφίμων. Παράλληλα, όπου είναι δυνατό, θα δοθούν και παραδείγματα συνδυαστικής δράσης μεθοδολογιών, τα οποία έχουν μελετηθεί από την ερευνητική κοινότητα, προκειμένου να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητά τους και να αξιολογηθεί πιθανή τους χρήση προς όφελος της βιομηχανίας τροφίμων.

3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Σήμερα με την ανάπτυξη διαφόρων τομέων της επιστήμης (χημεία, βιολογία, φυσική, μαθηματικά, μηχανική), αλλά και τη διαμόρφωση κατάλληλων μεθοδολογιών για την πρακτική εφαρμογή της αποκτηθείσας γνώσης η βιομηχανία τροφίμων έχει καταφέρει να λύσει προβλήματα του παρελθόντος σχετικά με τη διατήρηση των τροφίμων. Παρόλα αυτά ορισμένα προβλήματα εξακολουθούν να υφίστανται κι οι ερευνητές στοχεύουν σε επίλυση αυτών, αλλά ταυτόχρονα και σε διατήρηση αναλλοίωτων ορισμένων χαρακτηριστικών των τροφίμων, όπως η γεύση, η υφή, το χρώμα. Οι μεθοδολογίες που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων θα μπορούσαν να καταταγούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες: τις φυσικές, τις χημικές και τις βιολογικές.

3.1 ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Στην ομάδα των φυσικών μεθόδων εντάσσονται οι τεχνικές εκείνες που στηρίζονται στην εφαρμογή φυσικών φαινομένων (θερμότητα, πίεση, ακτινοβολία) προς όφελος της επεξεργασίας και διατήρησης τροφίμων.

3.1.1 ΘΕΡΜΑΝΣΗ

Οι θερμικές διεργασίες που εφαρμόζονται στα τρόφιμα στην παρασκευή τροφίμων διέπονται από τις ίδιες αρχές με εκείνες του παραδοσιακού μαγειρέματος. Απότοκο αυτής της διαδικασίας είναι η διατήρηση αναλλοίωτων των συστατικών του τροφίμου, που υπόκειται σε επεξεργασία ή ακόμη κι η βελτίωση γεύσης κι υφής. Παράλληλα όμως υπάρχουν κι απώλειες κάποιων θερμικά ευαίσθητων θρεπτικών ουσιών. Η θέρμανση των τροφίμων ως μέθοδος επεξεργασίας τροφίμων χρονολογείται από την αρχαιότητα, όταν οι άνθρωποι παρατήρησαν ότι τα τρόφιμα που είχαν μαγειρευτεί διατηρήθηκαν περισσότερο χωρίς να αλλοιωθούν. Με την πρόοδο όμως των θετικών επιστημών τα τελευταία χρόνια σε συνδυασμό με την εφαρμογή των γνώσεων αυτών στην τεχνολογία τροφίμων, αναπτύχθηκαν οι κατάλληλες διαδικασίες για τη βελτιστοποίηση της χρήσης της θερμότητας στα τρόφιμα με σκοπό την παράταση της διάρκειας ζωής τους και την ενίσχυση της βιωσιμότητάς τους (υφή, γεύση κι οπτική εμφάνιση).

Υπάρχουν τρεις τύποι θερμικών διεργασιών, πέραν του μαγειρέματος, που εφαρμόζονται στη βιομηχανία τροφίμων: αποφλοίωση, παστερίωση και κονσερβοποίηση.

3.1.1.1 ΑΠΟΦΛΟΙΩΣΗ

Η αποφλοίωση είναι μια ήπια θερμική επεξεργασία (συνήθως γίνεται σε θερμοκρασίες κάτω από 100°C για λιγότερο από 2 έως 3 λεπτά) που εφαρμόζεται στα τρόφιμα που πρόκειται να συσκευαστούν, να καταψυχθούν ή να αποξηρανθούν. Σκοπός της μεθόδου είναι η μείωση ή εξάλειψη της δραστηριότητας ενζύμων που σχετίζονται με αλλοιώσεις στη γεύση, την υφή ή το χρώμα. Εκτός αυτού όμως η μέθοδος αυτή διασφαλίζει την απομάκρυνση του αέρα από τον ιστό των τροφίμων με αποτέλεσμα να μην συμβαίνουν φαινόμενα οξειδωσης. Για την εφαρμογή της μεθόδου απαιτείται ζεστό νερό ή ατμός, αν και σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιείται και θερμαινόμενος αέρας ή μικροκύματα. Δεδομένου ότι η διαδικασία είναι σχετικά ήπια, δεν υπάρχει επίδραση στις θρεπτικές ουσίες. Βέβαια η χρήση θερμού νερού μπορεί να οδηγήσει σε έκπλυση ορισμένων θρεπτικών συστατικών, συνήθως υδατοδιαλυτών βιταμινών του συμπλέγματος Β και C.

3.1.1.2 ΠΑΣΤΕΡΙΩΣΗ

Η παστερίωση πήρε το όνομά της από τον L.Pasteur, ο οποίος απέδειξε ότι μια ήπια θερμική επεξεργασία μπορεί για να αδρανοποιήσει τους μικροοργανισμούς κι έτσι να παρατείνει τη διάρκεια ζωής του προϊόντος. Εφαρμόζεται γενικά στα υγρά, αλλά και σε ημιστερεά και στερεά τρόφιμα. Η πλέον γνωστή της εφαρμογή είναι το γάλα. Η διαδικασία έχει ως εξής: αυξάνεται η θερμοκρασία από 60 έως 100 °C για μικρό χρονικό διάστημα (συνήθως λιγότερο από 1 λεπτό) κι έτσι αδρανοποιούνται οι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Στην αρχή της εφαρμογής της εν λόγω μεθοδολογίας η θέρμανση επετεύχθη μετά την τοποθέτηση του υγρού σε δοχείο. Στη πορεία όμως χρησιμοποιήθηκαν εναλλάκτες θερμότητας, δηλαδή μηχανές που χρησιμοποιούνται για τη μεταφορά θερμότητας από ένα θερμό υγρό σε ένα ψυχρότερο. Οι σύγχρονες μέθοδοι είναι σχεδόν αποκλειστικά συνεχείς, με το παστεριωμένο υγρό να εναποτίθεται σε στείρες συσκευασίες. Οι περισσότερες παστεριωμένες τροφές στη συνέχεια φυλάσσονται στην ψύξη για να παραταθεί η διάρκεια ζωής, διότι δεν έχουν απενεργοποιηθεί όλοι οι παθογόνοι μικροοργανισμοί.

3.1.1.3 ΚΟΝΣΕΡΒΟΠΟΙΗΣΗ

Η "κονσερβοποίηση" χρησιμοποιείται κυρίως για την αδρανοποίηση των μικροοργανισμών που προκαλούν ασθένειες, όπως η αλλαντίαση, αλλά αδρανοποιεί επίσης τους μικροοργανισμούς που προκαλούν αλλοίωση των τροφίμων. Αυτή η θερμική διαδικασία επιτυγχάνεται συνήθως διατηρώντας το προϊόν σε θερμοκρασίες πολύ πάνω από 110°C για αρκετά λεπτά. Τα κονσερβοποιημένα τρόφιμα δεν είναι απόλυτα αποστειρωμένα (στερούνται όλων των βιώσιμων μικροοργανισμών) αλλά εμπορικά αποστειρωμένα (στερούνται όλων των βιώσιμων μικροοργανισμών που θα μπορούσαν να αναπτυχθούν υπό κανονικές συνθήκες αποθήκευσης).

3.1.2 ΔΙΗΛΕΚΤΡΙΚΗ ΘΕΡΜΑΝΣΗ (ΡΑΔΙΟ- ΚΑΙ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ)

Η χρήση θερμικής ενέργειας είναι η πλέον αναγνωρισμένη προσέγγιση για τη διατήρηση των τροφίμων. Με την αύξηση της θερμοκρασίας σε επιτρεπτά όρια και τη διατήρηση για κατάλληλο χρόνο, ο οποίος εξαρτάται τόσο από τη φύση του τροφίμου όσο και από τον στόχο της μεθόδου, οι παθογόνοι μικροοργανισμοί στην καλλιέργεια μειώνονται ή εκλείπουν.

Η διηλεκτρική θέρμανση (DEH) διέπεται από την αρχή, σύμφωνα με την οποία ένα εναλλασσόμενο ηλεκτρικό πεδίο υψηλής συχνότητας ή ραδιοκύματα ή ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία μικροκυμάτων θερμαίνουν ένα διηλεκτρικό υλικό. Η τεχνική αυτή ουσιαστικά συνεπάγεται την αλληλεπίδραση ιοντικών φορτίων και διπόλων που περιέχονται στο προϊόν διατροφής με ηλεκτρομαγνητικά πεδία εναλλαγής που επιτρέπουν την ογκομετρική θέρμανση του προϊόντος (PereiraR.and VicenteA. 2010). Ως μέθοδος πλεονεκτεί καθώς παρέχει ταχεία και ομοιόμορφη θέρμανση στα τρόφιμα ενώ παράλληλα εξασφαλίζει την ασφάλεια και την ποιότητα των τροφίμων (Zhaoetal. 2000). Τόσο τα μικροκύματα όσο και τα ραδιοκύματα είναι τεχνολογίες διηλεκτρικής θέρμανσης που διέπονται από τις ίδιες αρχές που επιτρέπουν την ταχεία και ομοιόμορφη θέρμανση σε ένα μέσο (PiyasenaP.etal.2003). Παρόλα αυτά, διαφοροποιούνται μεταξύ τους με βάση την παραγωγή ηλεκτρικού πεδίου και το βάθος των ηλεκτρομαγνητικών κυμάτων (WangY.etal. 2003). Τα ραδιοκύματα χρησιμοποιούνται ευρέως για τη διασφάλιση ποιότητας κρέατος σε περιπτώσεις απόψυξης (BansalB.andChenX.D. 2006). Συγκεκριμένα έχει δειχθεί η χρήση τους στην παστερίωση των γαλακτωμάτων λουκάνικου και τα αποτελέσματα ήταν θεαματικά τόσο ως προς την αποδοτικότητα και το βάθος διεύθυνσης της μεθόδου, αλλά κι ως προς την ποιότητα του τελικού προϊόντος (LaycockL.etal.2003). Σε άλλη μελέτη με θέμα την εφαρμογή των ραδιοκυμάτων στη βιομηχανία κρέατος (OrsatV.etal.1999) διαπιστώθηκε ότι η επεξεργασία ζαμπόν με τεχνολογία ραδιοκυμάτων αυξάνει τη διάρκεια του προϊόντος.

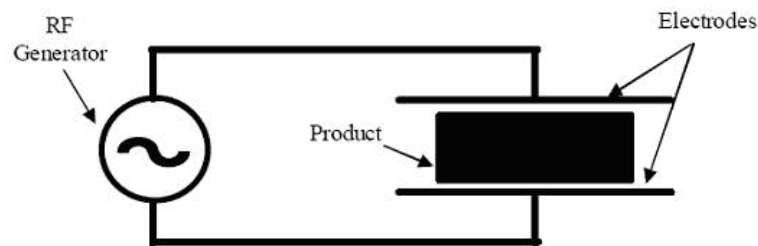
Πέραν όμως του κρέατος τα ραδιοκύματα χρησιμοποιούνται και σε ξηρά τρόφιμα, όπως βότανα, λαχανικά, μπαχαρικά, πατάτες, ζυμαρικά και διάφορα σνακ. (PereiraR. andVicenteA. 2010). Μια άλλη εφαρμογή των ραδιοκυμάτων είναι στη βιομηχανία αρτοποιίας όπου χρησιμοποιούνται μετά το ψήσιμο για την απομάκρυνση της υπερβολικής υγρασίας.

Γενικά η χρήση ραδιοκυμάτων κατά το μαγείρεμα δεν επηρεάζει αρνητικά την ποιότητα των τροφίμων. Μάλιστα οι Tang, Cronin και Brunton (2005) έδειξαν ότι σε φιλέτα στήθους γαλοπούλας μαγειρεμένα σε ραδιοκύματα κι ατμό δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές όσον αφορά στην περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, λίπος, υγρασία, και χλωριούχο νάτριο. Πέραν αυτού διαπιστώθηκε πως η περιεκτικότητα των προϊόντων σε θειαμίνη (B1) και ριβοφλαβίνη (B2) (υδατοδιαλυτές βιταμίνες) ήταν παρόμοια με εκείνη των προϊόντων που δεν είχαν υποστεί κατεργασία με τη βοήθεια των ραδιοκυμάτων.

Αν και τα ραδιοκύματα αποτελούν μια πολλά υποσχόμενη τεχνική επεξεργασίας τροφίμων, εν τούτοις παρουσιάζουν και ορισμένους περιορισμούς στην εφαρμογή τους. Για παράδειγμα η ικανότητα θέρμανσης επηρεάζεται από την περιεκτικότητα σε αλάτι, τη θερμοκρασία, την πυκνότητα, την περιεκτικότητα σε υγρασία, τη συχνότητα του εφαρμοζόμενου εναλλασσόμενου πεδίου αλλά κι από άλλους παράγοντες. Σχετικά πρόσφατα, οι Jeong και Kang

(2014) μελέτησαν την περιεκτικότητα σε υγρασία ενώ παράλληλα προσπάθησαν να κάνουν καταμέτρηση πληθυσμών των *E. coli* O157: H7 και *S. enterica serovar Typhimurium* σε μαύρα και κόκκινα καρυκεύματα με τη χρήση ραδιοκυμάτων. Είναι πιθανό ότι ο συνδυασμός δύο ή περισσότερων καινοτόμων και συντηρητικών τεχνολογιών θα παράγει συνεργιστικά αντιμικροβιακά αποτελέσματα μειώνοντας ταυτόχρονα την απαιτούμενη ένταση ενέργειας και θεραπευτικές εντάσεις.

Μελέτες που έγιναν σε χυμούς μήλου έδειξαν πως μετά την εφαρμογή της τεχνολογίας των ραδιοκυμάτων μειώθηκε ο πληθυσμός των παθογόνων μικροοργανισμών (UkukuD.O.etal. 2008). Σε περαιτέρω μελέτες δείχθηκε πως ο πληθυσμός τραυματισμένων κυττάρων *E. coli* αποτελούσε το 70% έως 80% των επιβιωσάντων κυττάρων. Βέβαια, η δράση του υπεριώδους φωτός σε συνδυασμό με τα ραδιοκύματα αυξάνουν κατά πολύ την αποτελεσματικότερη αναστολή και τραυματισμό των κυττάρων. Επίσης και το πράσινο τσάι φαίνεται να έχει παρόμοια δράση, δηλαδή σε πειράματα που έγιναν με συνδυασμό ραδιοκυμάτων και εκχυλίσματος πράσινου τσαγιού αναστάλη η ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών. Με βάση τα παραπάνω, λοιπόν, διαπιστώνεται πως η συνδυασμένη εφαρμογή των ραδιοκυμάτων με κάποια άλλη τεχνική εμποδίζει την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών, διατηρώντας παράλληλα την ποιότητα των τροφίμων.



Σχήμα 3.1 :Σχηματική αναπαράσταση απλής μονάδας θέρμανσης RF. Η μονάδα RF αποτελείται από δύο κύρια εξαρτήματα, τη γεννήτρια (σύστημα παραγωγής RF) και τον εφαρμοστή (ηλεκτρόδια). Πηγή: <http://www.strayfield.co.uk/biscuit.htm>

Πέραν όμως από τα ραδιοκύματα, χρησιμοποιούνται και τα μικροκύματα ως τρόπος διασφάλισης ποιότητας τροφίμων. Χρησιμοποιείται ευρέως για ξήρανση, αποστείρωση, παστερίωση, ζύμωση, απόψυξη, ψήσιμο τροφίμων κ.λπ. Έχουν τα ίδια πλεονεκτήματα με τα ραδιοκύματα όσον αφορά στο χρόνο μαγειρέματος, τον ασφαλή χειρισμό, τη συνεχή ομοιόμορφη θέρμανση, τη χαμηλή συντήρηση αλλά κι ευκολία λειτουργίας (ChandrasekaranS.etal. 2013). Τόσο τα μικροκύματα όσο και τα ραδιοκύματα στηρίζονται στους ίδιους μηχανισμούς προκειμένου να καταστρέψουν τους μικροοργανισμούς. Συγκεκριμένα τα βήματα περιλαμβάνουν επιλεκτική

θέρμανση, ηλεκτροδιάτρηση, ρήξη κυτταρικής μεμβράνης και σύζευξη μαγνητικού πεδίου (Kozempel M.F. *et al.* 1998). Σε πειράματα που έγιναν φάνηκε πως η χρήση της τεχνολογίας των μικροκυμάτων οδήγησε σε μείωση του μικροβιακού πληθυσμού κατά 22% μέσα σε 15 δευτερόλεπτα, ενώ η υγρή θερμική επεξεργασία σε μείωση 36% μετά από 15 λεπτά (Shenga E. *et al.* 2010). Γενικά η τεχνολογία των μικροκυμάτων (MW) οδηγεί στην εξάλειψη των μικροοργανισμών και την απενεργοποίηση ενζύμων (Ahmed J. and Ramaswamy H.S. 2004).

Αν κι η επεξεργασία τροφίμων με τη χρήση μικροκυμάτων έχει πολλά πλεονεκτήματα, η ευρεία χρήση της περιορίζεται σε τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε υγρασία και λίπος. Αυτό συμβαίνει, διότι μέσα από μελέτες έχει φανεί η αρνητική επίδραση των μικροκυμάτων στα διατροφικά στοιχεία των τροφίμων. (Cinquanta L. *et al.* 2010). Μάλιστα η συγκεκριμένη ερευνητική ομάδα κατέδειξε απώλεια 13% σε περιεκτικότητα σε καροτενοειδή μετά από θέρμανση για 1 λεπτό στους 70 ° C. Από τα αποτελέσματα της έρευνάς του προέκυψε ότι η εφαρμογή των μικροκυμάτων στην επεξεργασία τροφίμων σε μέτριες θερμοκρασίες θα μπορούσε να ελαχιστοποιήσει τις αρνητικές επιπτώσεις. Σε άλλη μελέτη, η ερευνητική ομάδα του Picouet (2007) μελέτησε την επίδραση των μικροκυμάτων σε διάφορα θρεπτικά συστατικά, όπως η βιταμίνη C, οι φαινόλες, η τιτλοδοτημένη οξύτητα και το ιξώδες. Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν ότι η επεξεργασία με MW προκάλεσε απώλεια βιταμίνης C κατά 50%, ενώ το ιξώδες και η τιτλοδοτούμενη οξύτητα δεν επηρεάστηκαν.

Αυτό που θα παρουσίαζε ενδιαφέρον είναι η συνδυαστική μελέτη των μικροκυμάτων με άλλες μεθόδους ξήρανσης όπως η ξήρανση με αέρα, η υπέρυθρη ακτινοβολία, η ξήρανση υπό κενό ή η κατάψυξη. Σε μελέτες που έκαναν οι Maktabi, Watson και Parton (2011), όπου χρησιμοποίησαν συνδυασμό διαφορετικών μεθόδων UV ακτινοβολίας, λέιζερ και μικροκυμάτων ή συμβατικής θέρμανσης σε βακτήρια, προέκυψε ότι η επεξεργασία με υπεριώδη ακτινοβολία, λέιζερ και μικροκυμάτων με συμβατικές θερμότητες αύξησε σημαντικά τη συνολική βακτηριακή μείωση, σε σύγκριση με τα αποτελέσματα των επιμέρους μεθόδων. Βέβαια μένει να μελετηθούν τόσο οι μηχανισμοί δράσης, αλλά και να προταθεί ο κατάλληλος συνδυασμός τεχνικών, προκειμένου να εξασφαλιστεί το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα για την επεξεργασία τροφίμων.

Η χρήση των μικροκυμάτων μαζί με θερμική αποστείρωση αποτελούν μια νέα μέθοδο που ονομάζεται «θερμική αποστείρωση με υποβοήθηση μικροκυμάτων», κι έχει προσελκύσει το ενδιαφέρον της βιομηχανίας τροφίμων. Βρίσκει εφαρμογή σε περιπτώσεις παστερίωσης / αποστείρωσης τροφίμων διατηρώντας τα θρεπτικά

συστατικά των τροφίμων. Αυτή η διαδικασία υπερνικά πολλά από τα προβλήματα που αντιμετώπιζε στο παρελθόν η τεχνολογία τροφίμων όταν χρησιμοποιούσαν μικροκύματα ως προσέγγιση αποστείρωσης (Barbosa-Canovas G.V. *etal.* 2014). Παράδειγμα θέρμανσης με μικροκύματα είναι η προετοιμασία του μπέικον – ουσιαστικά το αποτέλεσμα είναι ένα λιγότερο συρρικνωμένο προϊόν.

3.1.2 ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΗΣΗ

Η ακτινοβολία είναι μια τεχνική επεξεργασίας που συνεπάγεται την έκθεση της τροφής σε ιονίζουσα ακτινοβολία (Ic E. *etal.* 2007) όπως δέσμες ηλεκτρονίων, ακτίνες X ή ακτινοβολία γ. Κύριος σκοπός αυτής της μεθόδου είναι να προκαλέσει την αδρανοποίηση των βακτηρίων που μπορεί να προκαλέσουν τροφική δηλητηρίαση. Επίσης ενδείκνυται για την καταπολέμηση εντόμων, που μπορούν να προσβάλουν τρόφιμα, αλλά και για την επιβράδυνση της ωρίμανσης φρούτων ακόμη και για την παρεμπόδιση της διαδικασίας της ανάπτυξης. Μελέτες έχουν δείξει ότι αυτή η τεχνολογία μπορεί να αποτρέψει τον πολλαπλασιασμό μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοίωση των τροφίμων, όπως τα βακτήρια, αλλάζοντας τη μοριακή τους δομή. Ως τεχνολογία μικροβιακής αδρανοποίησης κατοχυρώθηκε το 1905.

Περιλαμβάνει τη χρήση ραδιενεργών ισοτόπων ή επιταχυνόμενων ηλεκτρονίων, τα οποία παρέχουν την απαραίτητη ενέργεια προκειμένου ν' απομακρυνθεί ένα ηλεκτρόνιο και να σχηματιστεί ένα ιόν.

Η ιονίζουσα ακτινοβολία μπορεί να υπάρξει, αναλόγως την πηγή, σε διαφορετικές μορφές (ακτίνες X, ακτίνες γ και β). Είναι αυτή η ακτινοβολία που προκαλεί θραύσεις στην έλικα DNA (και / ή RNA) και οδηγεί σε υπολειτουργία των κυττάρων, καθώς τα νουκλεϊκά οξέα υπόκεινται σε βλάβες. (Kuan Y-Het *al.* 2013).

Προκειμένου να παραχθούν επιταχυνόμενα ηλεκτρόνια χρησιμοποιούνται γραμμικοί επιταχυντές, οι οποίοι επιταχύνουν τα ηλεκτρόνια περίπου στην ταχύτητα του φωτός κι έπειτα αυτά εφαρμόζονται σε τρόφιμα για την εξάλειψη των παθογόνων με την καταστροφή του γενετικού τους υλικού. Το γενετικό υλικό ενός οργανισμού μπορεί να καταστραφεί και από παρακείμενα μόρια, όπως το νερό κατά τη διαδικασία

ακτινοβόλησης (Singha P.K. *et al.* 2015). Η βλάβη στο γενετικό υλικό που προκαλείται από το νερό αποδίδεται ως απώλεια ηλεκτρονίου. Οι ενώσεις αυτές αντιδρούν με τη σειρά τους με άλλες ενώσεις και έτσι σχηματίζουν ρίζες οξυγόνου, υδρογόνου και υδροξυλίου και υπεροξειδίου του υδρογόνου, οι οποίες αντιδρούν με άλλες ενώσεις, νουκλεϊνικά οξέα και ευαίσθητα κυτταρικά συστατικά κι οδηγούν σε κυτταρικές διαταραχές.

Γενικά, η ακτινοβόληση αποτελεί ως επί το πλείστον μια ασφαλή μέθοδο για τη διατήρηση των προϊόντων διατροφής. Περισσότερες από 50 χώρες σε όλο τον κόσμο έχουν εγκρίνει την ακτινοβόληση πάνω από 60 τροφίμων (Food-Irradiation 2015). Η δόση που χρησιμοποιείται εξαρτάται τόσο από το προϊόν όσο κι από την πηγή ακτινοβολίας.

Παρόλα αυτά μπορεί να αποβεί μοιραία σε τρόφιμα που παρουσιάζουν αυξημένη ευαισθησία σε αυτή. Υπάρχουν, βέβαια, τρόποι να αυξηθεί η ανθεκτικότητα έναντι της ακτινοβολίας. Παραδείγματα: το μονοξειδίο του άνθρακα, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, το οσμωτική πίεση, το θερμικό στρες (Lacroix M. and OuattaraB. 2000).

Η ακτινοβολία όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες τεχνολογίες συντήρησης, όπως η θερμική επεξεργασία, μειώνει την απαιτούμενη δόση ακτινοβολίας χωρίς να επηρεάζει την ποιότητα των τροφίμων. Σε πειράματα που έγιναν σε μάνγκο δείχθηκε πως η ήπια θερμότητα σε συνδυασμό με χαμηλή δόση ακτινοβόλησης αυξάνει τη διάρκεια ζωής των φρούτων. Επίσης ο συνδυασμός της ακτινοβολίας με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες (οργανικά οξέα, ασκορβικό οξύ, μεταβολίτες βακτηρίων γαλακτικού οξέος, εκχυλίσματα εσπεριδοειδών, αιθέρια έλαια από μπαχαρικά) οδηγεί στην αναστολή των παθογόνων σε διάφορα λαχανικά (μπρόκολο, καρότο). Παρόμοια πειράματα έγιναν και σε γαρίδες μαύρος τίγρης και σε γιγαντογαρίδες του γλυκού νερού, όπου κι εκεί φάνηκε πως η ακτινοβολία χαμηλής δόσης, που χρησιμοποιείται για την αποθήκευση των προϊόντων, δεν αλλοιώνει την ποιότητά τους. (Mahto R. *et al.* 2015).

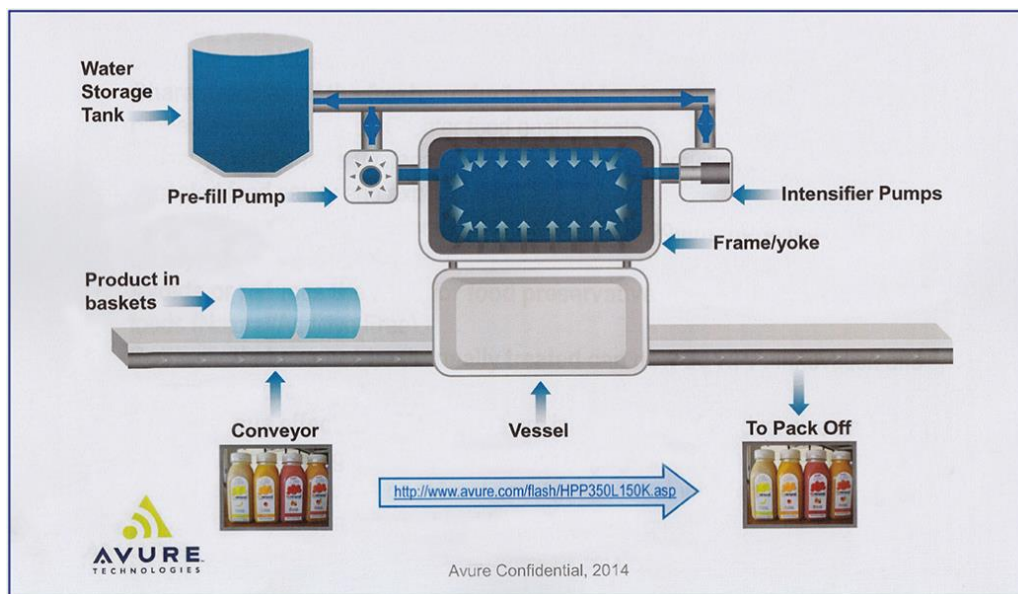
Σε αυτό το σημείο πρέπει να αναφερθεί πως η ακτινοβόληση, σε καμία περίπτωση, δεν μπορεί να αντικαταστήσει τις υπάρχουσες διαδικασίες επεξεργασίας τροφίμων. Αντίθετα αποτελεί ένα επιπρόσθετο βήμα ελέγχου στη διαδικασία της διατήρησης τροφίμων.

3.1.3 ΥΨΗΛΗ ΠΙΕΣΗ (HPP)

Η συγκεκριμένη τεχνική επεξεργασίας τροφίμων αποτελεί μια από τις καλύτερες στη βιομηχανία τροφίμων. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται κι ως επεξεργασία υπερυψηλής πίεσης ή επεξεργασία με υψηλή υδροστατική πίεση. Η πρώτη εφαρμογή της ήταν το 1899 από τον Bert Hite από το Πανεπιστήμιο της Δυτικής Βιρτζίνιας, ο οποίος ανέφερε ότι η επεξεργασία υψηλής πίεσης σε θερμοκρασία περιβάλλοντος θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη διατήρηση του γάλακτος. Σε περαιτέρω μελέτες που έκανε δείχθηκε πως τα βακτηρίδια γαλακτικού οξέος και οι ζύμες που σχετίζονται με τα γλυκά, ήταν πιο ευαίσθητα στην πίεση από ό, τι τα σπόρια που εντοπίζονται στα λαχανικά. Τα τελευταία χρόνια, οι καταναλωτές προτιμούν τρόφιμα που είναι πιο εύγευστα, διαρκούν περισσότερο και δεν περιέχουν πρόσθετα. Κι η επεξεργασία με υψηλή πίεση μπορεί να τα προσφέρει όλα αυτά.

Η υψηλή πίεση είναι μια ημι-συνεχής διαδικασία για υγρά αλλά και για στερεά τρόφιμα. Το εύρος τιμών πίεσης που χρησιμοποιούνται κυμαίνεται από 100 MPa και 1000 MPa, με τις βέλτιστες τιμές να βρίσκονται εντός του εύρους 200-600 MPa.

Ένα τυπικό σύστημα υψηλής πίεσης αποτελείται από ένα δοχείο πίεσης και μια γεννήτρια πίεσης. Τα δοχεία τροφίμων εισάγονται στο σωλήνα ενώ η κορυφή είναι κλειστή. Το υγρό μετάδοσης της πίεσης, συνήθως νερό, αντλείται σε ένα δοχείο που βρίσκεται στο κάτω μέρος του συστήματος. Μόλις επιτευχθεί η επιθυμητή πίεση, η άντληση σταματάει, οι βαλβίδες κλείνουν και η πίεση διατηρείται χωρίς την ανάγκη περαιτέρω ενεργειακής τροφοδότησης.



Σχήμα 3.2: Διάταξη ενός συστήματος υψηλής πίεσης (Πηγή: www.avure.com)

Υπάρχουν δύο βασικές αρχές στις οποίες στηρίζεται η μέθοδος της υψηλής πίεσης: η ισοστατική αρχή και η αρχή Le Chatelier. Σύμφωνα με την πρώτη αρχή, η πίεση μεταδίδεται ομοιόμορφα και στιγμιαία σε όλο το δείγμα. Αυτή η διαδικασία είναι ανεξάρτητη από τον όγκο ή τη γεωμετρία του δείγματος. Διαπιστώνεται, λοιπόν, πως η HHP προσφέρει σημαντικό πλεονέκτημα έναντι της συμβατικής θερμικής επεξεργασίας. Κατά την αρχή του Le Chatelier, η εφαρμογή πίεσης σε ένα σύστημα που βρίσκεται σε ισορροπία ευνοεί τη μείωση του όγκου για ελαχιστοποίηση της επίδρασης της πίεσης.

Έτσι, διεγείρονται αντιδράσεις που έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση του όγκου, ενώ αυτές που προκαλούν αύξηση «αποδυναμώνονται». Οι δεσμοί υδρογόνου ευνοούνται ενώ οι ιονικοί δεσμοί σπάνε. Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις διαταράσσονται κάτω από τα 100 MPa αλλά μπορούν να σταθεροποιηθούν σε υψηλότερες πιέσεις. Οι ομοιοπολικοί δεσμοί, από την άλλη, δεν επηρεάζονται από την υψηλή πίεση. Τα μόρια μικρού μοριακού βάρους, λοιπόν, όπως εκείνα που είναι υπεύθυνα για θρεπτικές ιδιότητες παραμένουν άθικτα. Η δομή, όμως, μορίων μεγάλου μοριακού βάρους μπορεί να οδηγήσει σε αλλοιώσεις της λειτουργικότητας πρωτεϊνών και υδατανθράκων. Αυτές οι τροποποιήσεις οδηγούν στη θανάτωση των μικροοργανισμών και την παραγωγή τροφών με βελτιωμένη αισθητική και θρεπτική ποιότητα.

Πέραν όμως της τροποποίησης των μεγαλομοριακών ενώσεων, φαίνεται πως η τεχνική της HPP μετατοπίζει την ισορροπία του pH του φαγητού προς τις όξινες τιμές με συνέπεια τη μικροβιακή αδρανοποίηση (MathysA.*et al.* 2008). Η επαναφορά στην αρχική τιμή pH συμβαίνει με απελευθέρωση πίεσης. Η έκταση της μετατόπισης του pH μπορεί να προβλεφθεί μέσω της παρακάτω εξίσωσης, εφόσον οι τιμές των σταθερών της εξίσωσης είναι διαθέσιμες (NeumanR.C.*et al.* 1973, El'Yanov and Hamann 1975):

$$(pKa)_p = (pKa)_o + \frac{p(\Delta^\circ)}{\log(RT(1+bp))}$$

Όπου:

$(pKa)_p$:μετατόπιση της πίεσης

$(pKa)_o$: σταθερά διάστασης στην πίεση αναφοράς (0,1 MPa)

p : πίεση (MPa)

ΔV° : μερική μεταβολή του μοριακού όγκου του οξέος διαχωρισμού σε 0,1 MPa (m^3/mol)

R : γενική σταθερά αερίου, $8,31 \times 10^{-6}$ (MPa m^3) / (K mol)

T : απόλυτη θερμοκρασία (K)

B = 9.2×10^{-4} MPa (θεωρείται σταθερή για όλα τα οξέα)

Η HPP έχει κερδίσει δημοτικότητα στη βιομηχανία τροφίμων, επειδή απενεργοποιεί τους παθογόνους μικροοργανισμούς με ήπια επίπεδα θερμότητας ενώ παράλληλα επεκτείνει τη διάρκεια ζωής τους χωρίς να επηρεάζουν ούτε τα θρεπτικά συστατικά των τροφίμων ούτε την εξωτερική τους όψη.

Τα πλεονεκτήματα της HPP έναντι της θερμικής επεξεργασίας περιλαμβάνουν μεταξύ των άλλων μειωμένη θερμική βλάβη, συντομότερους χρόνους επεξεργασίας, διατήρηση της φρέσκιας όψης, της υφής και του χρώματος, διατήρηση της βιταμίνης C, λιγότερες ανεπιθύμητες λειτουργικές μεταβολές (Vega-GálvezA. *et al.* 2011). Η επεξεργασία με υψηλή πίεση σε μέτριες θερμοκρασίες μπορεί να διατηρήσει την περιεκτικότητα σε βιταμίνες των προϊόντων, όχι όμως και σε ακραίες θερμοκρασίες. Η σταθερότητα των βιταμινών μπορεί να βελτιωθεί αυξάνοντας την πίεση και τη θερμοκρασία κατά τη χρήση της HPP- οι ακραίοι συνδυασμοί, όμως, πίεσης και θερμοκρασίας μπορεί να οδηγήσουν στην αποικοδόμησή τους.

Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα της τεχνολογίας HPP επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από διάφορους παράγοντες, όπως ο χρόνος συμπίεσης, την τιμή της πίεσης, το χρόνο συγκράτησης και τη θερμοκρασία (KalchayanandN. *etal.*1998, Ting and Balasubramaniam 2002, Xuand Ahn 2009). Οι αντιμικροβιακοί μηχανισμοί που ενεργοποιούνται είναι σχετικά πολύπλοκοι και η κινητική αδρανοποίησης δε μπορεί να μελετηθεί εύκολα, καθώς δεν ακολουθεί πάντοτε κινητική πρώτης τάξης (ChungH-Jand Yousef A.E. 2010). Μελέτες που έγιναν έδειξαν πως οι μικροοργανισμοί *E. coli* και *L. monocytogenes* παρουσιάζουν μεταβολές στην ικανότητα αντοχής στις υψηλές τιμές πίεσης (AlpasH.*et al.* 1999, BenitoA.*etal.* 1999).

Οι διακυμάνσεις στην ευαισθησία προς τη θερμοκρασία και την πίεση μπορεί είτε να καταστρέψουν είτε να διατηρήσουν τη φυσική ποιότητα των τροφίμων, όπως οι βιταμίνες, οι χρωστικές ουσίες (Oeyl. *etal.* 2008, VanLoeyA.*etal.*1998). Παράδειγμα οι χυμοί ανανά και γκρέιπφρουτ που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία στα 600 MPa στους 75 ° C για 40 λεπτά και παρατηρήθηκαν απώλειες βιταμίνης C της τάξης του 70% (TaoukisP.*et al.* 1998). Σε άλλες μελέτες διαπιστώθηκε πως αυξανόμενης της θερμοκρασίας ο χυμός ανανά έχανε τη βιταμίνη C που περιείχε (απώλεια 20-25% στους 40 °C, 45-50% στους 60 °C και 60-70% στους 75 °C στα 600 MPa για 40 λεπτά). Αντίθετα, οι βιταμίνες A και E διατηρήθηκαν στους χυμούς πορτοκαλιού, οι οποίοι υπέστησαν επεξεργασία με HPP στους 25 °C (Bignon J. 1996), ενώ όταν αυξήθηκε η πίεση αυξήθηκαν τα ποσοστά τους (38,74% μετά από επεξεργασία με HPP 400 MPa στους 40 ° C για 1 λεπτό) (Sanchez –MorenoC.*et al.* 2005). Μέγιστη αύξηση βιταμινών επετεύχθη όταν χρησιμοποιήθηκαν πιέσεις 50 έως 350 MPa συνδυασμένες με θερμοκρασίες μεταξύ 30 ° C και 60 ° C και χρόνους επεξεργασίας 2.5, 5 και 15 λεπτά.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι η αποτελεσματική συντήρηση με τη χρήση HPP μπορεί να επιτευχθεί σε μέτριες πιέσεις σε συνδυασμό με κάποια άλλη τεχνολογία, όπως άλλωστε ορίζει κι η τεχνολογία εμποδίων που βασίζεται στις συνεργιστικές επιδράσεις δύο ή περισσότερων κατάλληλων αντιμικροβιακών παραγόντων σε μέτριες δόσεις (LeistnerL. 1985). Η αποτελεσματικότητα του συστήματος θερμάνσεως HPP είναι εντονότερη, όταν υπάρχουν στο μέσο (τρόφιμο) άλλα αντιμικροβιακά μέσα, όπως λαυρικό, σακχαρόζη και βακτηριοσίνη. Μετά από αυτήν την ανακάλυψη, οι Mallidis και Drizou (1991) μελέτησαν τα συνδυασμένα αποτελέσματα θερμότητας και πίεσης σε σπόρια *Bacillus stearothermophilus* και διαπίστωσαν κι αυτοί πως ο συνδυασμός μεθόδων αποφέρει καλύτερα αποτελέσματα. Λίγα χρόνια αργότερα σε μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκε το *Clostridium*, φάνηκε πως τα σπόρια που σχηματίζει ο εν λόγω μικροοργανισμός μπορούν να απενεργοποιηθούν σε πιέσεις με εύρος τιμών 690-900 MPa και θερμοκρασίες από 50 έως 70 °C (ReddyN.*etal.* 1999, RovereP.*etal.* 1998).

Ως εκ τούτου, η εφαρμογή θερμοκρασιών που κυμαίνονται από 60 °C έως 80 °C και πιέσεων από 350 έως 400 MPa για 5 λεπτά ή λιγότερο προτάθηκε ως η ασφαλέστερη και οικονομικά αποδοτικότερη προσέγγιση για τη βιομηχανία τροφίμων.

Τα μικρόβια διαφέρουν ως προς την ευαισθησία τους σε υψηλές πιέσεις. Το χημικό και φυσικό περιβάλλον μπορεί να επηρεάσει την αποτελεσματικότητα της αδρανοποίησης υψηλής πίεσης. Ιδιαίτερη σημασία έχει η ποσότητα ελεύθερου νερού που υπάρχει σε ένα τρόφιμο: γενικά, απαιτείται τουλάχιστον 40% ελεύθερο νερό για

να επιτευχθεί θανάτωση φυτικών μικροβίων. Συνεπώς, η τεχνική δεν είναι κατάλληλη για την απολύμανση ξηρών υλικών.

Τα βακτηριακά σπόρια, από την άλλη πλευρά, είναι πολύ ανθεκτικά στην πίεση. Εφαρμογή πιέσεων 1000MPa φαίνεται πως δεν επιδρά στον πληθυσμό των σπορίων, που πιθανώς υπάρχουν στα τρόφιμα. Αντίθετα, μπορεί να οδηγήσουν στη βλάστηση των σπορίων – έχει δειχθεί, άλλωστε, ότι η χρήση πίεσης προσδίδει πλεονέκτημα κι οδηγεί στην έναρξη βλάστησης σπορίων. Αν όμως, πέραν της αυξημένης πίεσης αυξηθεί κι η θερμοκρασία (υψηλότερη από 40 °C) φαίνεται πως τα βακτηριακά σπόρια είναι επιρρεπή στο θάνατο.

Οι Shearer κι οι συνεργάτες του (2000) έδειξαν ότι η προσθήκη λαυρικού άλατος στο σύστημα HPP επέφερε μείωση του πληθυσμού *Bacillus coagulans* σε χυμό τομάτας, του *B. subtilis* στο γάλα, *Alicyclobacillus* sp. σε χυμό ντομάτας και *Alicyclobacillus* sp. σε χυμό μήλου. Επιπλέον, έδειξαν ότι η χρήση λαυρικού άλατος δρα ανασταλτικά στη βλάστηση σπορίων. Με βάση τα παραπάνω προκύπτει πως η εφαρμογή ενός επιπλέον εμποδίου κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας τροφίμων μπορεί να μειώσει τις αρνητικές επιπτώσεις στη φρεσκάδα των τροφίμων. Αυτοί οι συνδυασμοί πρέπει να αξιολογηθούν περαιτέρω πριν χρησιμοποιηθούν εμπορικά για τη βελτίωση της ποιότητας και της διάρκειας ζωής των τροφίμων.

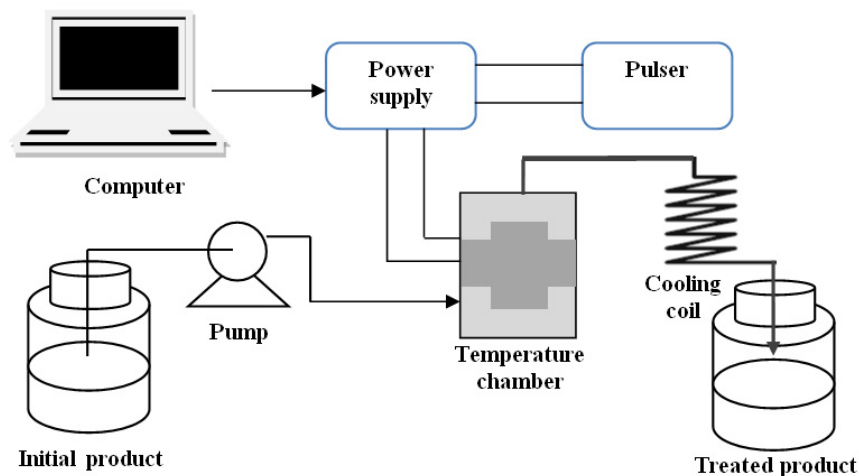
Όπως και κάθε άλλη τεχνολογία επεξεργασίας τροφίμων, η HPP δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε όλα τα προϊόντα διατροφής. Συνήθως χρησιμοποιείται σε υγρά και στερεά τρόφιμα, με την προτίμηση των ειδικών να στρέφεται στα τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε οξύ. Παραδείγματα τέτοιων τροφίμων είναι τα εξής: guacamole, smoothies, παρασκευασμένα γεύματα με κρέας και λαχανικά, στρείδια, ζαμπόν, χυμοί φρούτων, λωρίδες κοτόπουλου. Προς το παρόν πάντως η εφαρμογή της τεχνολογίας αυτής είναι περιορισμένη, πιθανώς λόγω έλλειψης γνώσεων σχετικά με τους μηχανισμούς απενεργοποίησης των ανθεκτικών βακτηριακών σπορίων.

3.1.4 ΠΑΛΜΙΚΑ ΗΛΕΚΤΡΙΚΑ ΠΕΔΙΑ (PEF)

Συχνά οι συμβατικές μέθοδοι συντήρησης, όπως η θερμική επεξεργασία, αποτυγχάνουν να παράγουν μικροβιολογικά σταθερά τρόφιμα που να τηρούν τις απαιτήσεις ποιότητας. Γι' αυτό το λόγο έχει αναπτυχθεί η τεχνολογία παλμικών

ηλεκτρικών πεδίων υψηλής έντασης (PEF), η οποία διασφαλίζει την παραγωγή ασφαλών προϊόντων, όπως χυμοί φρούτων ή γάλα (GrahIT.andMärkIH. 1996).

Βασική αρχή της τεχνολογίας παλμικών ηλεκτρικών κυμάτων είναι η εφαρμογή σύντομων παλμών υψηλών ηλεκτρικών πεδίων με διάρκεια μικρο-δευτερολέπτων κι ένταση της τάξης των 10-80 kV/cm. Ο χρόνος επεξεργασίας με τη συγκεκριμένη μεθοδολογία υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό των παλμών με την πραγματική διάρκεια παλμού. Ο εξοπλισμός αποτελείται από γεννήτρια παλμών υψηλής τάσης και θάλαμο επεξεργασίας με κατάλληλο σύστημα χειρισμού υγρών και τις απαραίτητες συσκευές παρακολούθησης και ελέγχου. Το προϊόν (τρόφιμο) τοποθετείται στο θάλαμο επεξεργασίας, είτε σε στατικό είτε σε συνεχή σχεδιασμό, όπου δύο ηλεκτρόδια συνδέονται μαζί με ένα μη αγώγιμο υλικό για να αποφεύγεται η ηλεκτρική ροή από το ένα στο άλλο. Η εφαρμοζόμενη υψηλή τάση έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ηλεκτρικού πεδίου που προκαλεί μικροβιακή αδρανοποίηση. Το ηλεκτρικό αυτό πεδίο μπορεί να εφαρμοστεί με τη μορφή κυμάτων - το ρεύμα ρέει στην υγρή τροφή και μεταφέρεται σε κάθε σημείο του υγρού λόγω των φορτισμένων μορίων που υπάρχουν (Zhang *et al.* 1995). Ανάλογα με την ένταση της ισχύος του πεδίου, η ηλεκτροδιάτρηση μπορεί να είναι είτε αναστρέψιμη (εκκένωση κυτταρικής μεμβράνης) είτε μη αναστρέψιμη (διάσπαση ή λύση κυτταρικής μεμβράνης), αλλά αυτό μπορεί να ελεγχθεί ανάλογα με την εφαρμογή (Ho and Mittal 1996). Μετά την κατεργασία PEF τα τρόφιμα συσκευάζονται ασηπτικά κι αποθηκεύονται υπό ψύξη.



Σχήμα 3.3 : Σχηματική απεικόνιση των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων (Πηγή: Ortega-Rivas *et al.* 1998)

Ορισμένες εφαρμογές της τεχνολογίας PEF είναι στη βιοτεχνολογία και τη γενετική μηχανική, όπου απαιτείται ηλεκτροδιάτρηση προκειμένου να επιτευχθεί η κυτταρική υβριδίαση (Chang *et al.* 1992).

Από πειραματικά δεδομένα (WoutersP.C. *etal.* 1999, SimpsonR.K. *etal.* 1999) έχει δειχθεί ότι με την εφαρμογή της συγκεκριμένης τεχνολογίας επιτυγχάνεται μείωση του μικροβιακού πληθυσμού. Ωστόσο, ο βαθμός απενεργοποίησης των μικροοργανισμών εξαρτάται από την ένταση της ισχύος του πεδίου, της ενέργειας και του αριθμού των παλμών που εφαρμόζονται στο μικροβιακό πληθυσμό και στις ιδιότητες της υπό εξέταση τροφικής μήτρας. Ως εκ τούτου, για τη βελτιστοποίηση του σχεδιασμού της διαδικασίας είναι απαραίτητο να μελετηθούν οι μηχανισμοί δράσης των παλμικών ηλεκτρικών πεδίων στα μικροβιακά κύτταρα. Σε αυτό το σημείο αξίζει να αναφερθεί πως τα μικροβιακά κύτταρα που εκτίθενται σε εξωτερικό ηλεκτρικό πεδίο για λίγα μικροδευτερόλεπτα ανταποκρίνονται με ηλεκτρική διάσπαση και τοπικές δομικές μεταβολές της κυτταρικής μεμβράνης. Ως συνέπεια της αποκαλούμενης ηλεκτροδιάτρησης παρατηρείται δραστική αύξηση της διαπερατότητας, η οποία μπορεί να οδηγήσει στο βακτηριακό θάνατο. Αυτός ο τύπος μη θερμικής απενεργοποίησης μικροοργανισμών από παλμικά ηλεκτρικά πεδία υψηλής έντασης μπορεί να είναι ευεργετικός για τη διατήρηση ποιότητας στη βιομηχανία τροφίμων. Άλλωστε είναι επιτακτική ανάγκη για τη χρήση τεχνολογιών που ελαχιστοποιούν την καταστροφική επίδραση της θερμότητας σε σημαντικές ενώσεις που εμπεριέχονται στα τρόφιμα (KnorrD.andHeinzV. 2001).

Οι εφαρμογές της τεχνολογίας PEF περιορίζονται σε προϊόντα χωρίς φυσαλίδες αέρα και με χαμηλή αγωγιμότητα. Αυτό συμβαίνει, διότι το μέγιστο επιτρεπτό μέγεθος σωματιδίων στο υγρό πρέπει να είναι μικρότερο από το κενό που υπάρχει στο θάλαμο κατεργασίας, προκειμένου να υπάρξει επιτυχία στην κατεργασία. Το PEF εφαρμόζεται επίσης κατά τη διαδικασία εκχύλισης σακχάρων και άλλων κυτταρικών περιεχομένων από τα φυτά, όπως τα ζαχαρότευτλα. Μελέτες έδειξαν πως η επεξεργασία παλμικών ηλεκτρικών πεδίων εφαρμόζεται με επιτυχία και σε ποικιλία χυμών φρούτων, οι οποίοι έχουν χαμηλό ιξώδες και χαμηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα όπως χυμός πορτοκάλι, μήλο και κράνμπερι. Πέραν της μείωσης των μικροβιακών πληθυσμών (Qin*etal.*1998, Evrendilek*etal.*2000), δεν υπήρξε αλλαγή στο χρώμα των χυμών (σε αντίθεση με τους χυμούς που έχουν υποστεί θερμική επεξεργασία).

Λαμβάνοντας υπόψη την αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας PEF σε υγρά προϊόντα, όπως γάλα, χυμοί φρούτων, υγρό αυγό, και οποιαδήποτε άλλα προϊόντα με δυνατότητα αντλήσεως, έγινε έρευνα προκειμένου η τεχνολογία αυτή να

χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία. Μεταξύ των υγρών προϊόντων, η τεχνολογία PEF εφαρμόστηκε ευρέως σε χυμό μήλου, χυμό πορτοκαλιού, γάλα, υγρό αυγό και διαλύματα άλμης (Qin *et al.* 1994).

Εναλλακτικές εφαρμογές της τεχνολογίας παλμικών ηλεκτρικών πεδίων είναι η ξήρανση, η τροποποίηση ενζυμικής δραστηριότητας, η διατήρηση στερεών και ημιστερεών τροφίμων, η επεξεργασία λυμάτων. Η ικανότητα της PEF να αυξάνει τη διαπερατότητα ενισχύει τη μεταφορά μάζας και θερμότητας υποβοηθώντας την ξήρανση των φυτικών ιστών, όπως έδειξαν πειράματα σε ιστό πατάτας (Angersbach *etal.* 2000), αλλά και σε άλλα φρούτα και λαχανικά. Οι Jemai και Vorobiev (2002) απέδειξαν πως τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία ενισχύουν το δείκτη διάθλασης διαλυτών ουσιών σε φέτες μήλου. Έτσι, λοιπόν, μπορούμε να πούμε πως η συγκεκριμένη τεχνολογία μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις αποσύνθεσης βιολογικών ιστών. Έρευνες που διεξήχθησαν σχετικά με τις επιπτώσεις της PEF σε γαλακτοκομικά προϊόντα όπως αποβουτυρωμένο γάλα, πλήρες γάλα και γιαούρτι κατέδειξαν το εύρος εφαρμογών της τεχνικής.

Αν κι η συγκεκριμένη τεχνολογία φαντάζει πολύ καλή πρόταση, εν τούτοις υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που πρέπει να ληφθούν υπ' όψη πριν από την εφαρμογή της μεθόδου αυτής (ασφάλεια της διαδικασίας, σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας καθώς κι οφέλη για τους καταναλωτές).

Διάφορες τεχνολογίες μη θερμικής επεξεργασίας έχουν προταθεί με βάση την ίδια βασική αρχή της διατήρησης των τροφίμων χωρίς όμως τις θερμοκρασίες που συνήθως χρησιμοποιούνται στη θερμική επεξεργασία. Η διατροφική ποιότητα των τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των βιταμινών και των βασικών αρωμάτων, παραμένει υψηλή, ενώ καταναλώνεται λιγότερη ενέργεια από ότι στη θερμική επεξεργασία. Οι υψηλές υδροστατικές πιέσεις, τα ταλαντευόμενα μαγνητικά πεδία, οι έντονοι παλμοί φωτός, η ακτινοβολία, η χρήση χημικών και βιοχημικών ουσιών, τα παλμικά ηλεκτρικά πεδία υψηλής έντασης αποτελούν σημαντικές, αναδυόμενες μη θερμικές τεχνολογίες τα τελευταία χρόνια.

3.1.5 ΩΜΙΚΗ ΘΕΡΜΑΝΣΗ

Η ωμική θέρμανση, γνωστή επίσης κι ως θέρμανση Joule, είναι μια διαδικασία θέρμανσης τροφίμων με διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος. Τα τρόφιμα που περιέχουν νερό και άλατα, τα οποία ιονίζονται, επιτρέπουν τη διέλευση ηλεκτρικού ρεύματος μέσα από αυτά προβάλλοντας ταυτόχρονα και κάποια αντίσταση στη διέλευση του. Έτσι το τρόφιμο μετατρέπεται σε αγωγός ηλεκτρικού ρεύματος ο οποίος θερμαίνεται από την ενέργεια του ρεύματος που μετατρέπεται σε θερμότητα. Στην περίπτωση της ωμικής θέρμανσης η ενέργεια διασκορπίζεται απευθείας στα τρόφιμα. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα είναι μια βασική παράμετρος στην σχεδιασμό ενός αποτελεσματικού θερμαντήρα.

Υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός πιθανών εφαρμογών ωμικής θέρμανσης. Το ηλεκτρικό πεδίο που εφαρμόζεται από την ωμική θέρμανση προκαλεί ηλεκτροδιάτρηση κυτταρικών μεμβρανών. Η ωμική θέρμανση οδηγεί σε ταχύτερη θέρμανση φαγητού, ενώ παράλληλα βοηθά στη διατήρηση του χρώματος και της θρεπτικής αξίας του. Χρησιμοποιείται κυρίως σε περιπτώσεις θερμοευαίσθητων (πρωτεϊνούχων) τροφών, όπως αυγά, φρούτα.

Πολλοί παράγοντες επηρεάζουν τη διαδικασία της ωμικής θέρμανσης. Η ηλεκτρική αγωγιμότητα, η ισχύς πεδίου, το μέγεθος σωματιδίων, η ιοντική συγκέντρωση και τα ηλεκτρόδια έχουν βρεθεί ότι επηρεάζουν τις τιμές του ρυθμού θέρμανσης των τροφίμων. Η πιο σημαντική παράμετρος, όμως, είναι η ηλεκτρική αγωγιμότητα (FryerP.Jand LiZ. 1993).

Ένα τυπικό σύστημα ωμικής θέρμανσης αποτελείται από μια τροφοδοσία (εναλλασσόμενου) ρεύματος (γεννήτρια) για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, τα ηλεκτρόδια που είναι συνδεδεμένα στην τροφοδοσία, σύστημα καταγραφής δεδομένων, μονάδα ελέγχου τάσης και θερμοζεύγη. Η παροχή πρέπει να βρίσκεται σε φυσική επαφή με την ουσία για να περάσει το ηλεκτρικό ρεύμα μέσω του διάκενου των ηλεκτροδίων στο σύστημα. Το βάθος της διείσδυσης είναι ουσιαστικά απεριόριστο και η έκταση της θέρμανσης καθορίζεται από τη χωρική ομοιομορφία της ηλεκτρικής αγωγιμότητας σε όλο το προϊόν και από τον χρόνο παραμονής του στον θερμαντήρα. Η δυνατότητα εφαρμογής της ωμικής θέρμανσης εξαρτάται από την ηλεκτρική αγωγιμότητα του προϊόντος. Τα περισσότερα παρασκευάσματα τροφίμων περιέχουν ένα μέτριο ποσοστό ελεύθερου ύδατος με διαλυμένα ιοντικά άλατα και επομένως διεξαγάγουν επαρκώς καλά για την ωμική δράση που πρέπει να εφαρμοστεί. Έχουν

χρησιμοποιηθεί πολλά υλικά για την κατασκευή ωμικής θερμάστρας. Υπάρχουν πολλές δυνατότητες για τον σχεδιασμό ενός ωμικού συστήματος θέρμανσης. Υπάρχουν δύο κύριοι τύποι θερμάστρας, οι συνεχείς κι οι συγγραμμικές. Οι δύο τύποι διαφοροποιούνται ως προς τη διάταξη του πεδίου σε σχέση με τη ροή μάζας - με την εγκάρσια λειτουργία το εφαρμοζόμενο ηλεκτρικό πεδίο κι η τρέχουσα ροή είναι σε ορθή γωνία με τη ροή μάζας, ενώ με τη συγγραμμική λειτουργία είναι παράλληλες.

Κατά την επεξεργασία με ωμική θέρμανση, όπως συμβαίνει και στην απλή θέρμανση, αδρανοποιείται ο μικροβιακός πληθυσμός. Η παρουσία ηλεκτρικού πεδίου βέβαια μπορεί να προκαλέσει ήπια κυτταρική καταστροφή (ChoH.Yetal. 1999, PereiraR.etal. 2007, SunH.X.etal. 2008). Η χαμηλή όμως, συχνότητα (συνήθως 50-60 Hz) επιτρέπει στο κύτταρο να δημιουργεί πόρους. Αυτό οδηγεί στη μείωση της τιμής D (χρόνος δεκαδικής ελάττωσης) με αποτέλεσμα ο μικροβιακός πληθυσμός να μειώνεται ταχύτερα. Έτσι, πιθανώς μπορεί η αδρανοποίηση του μικροβιακού πληθυσμού να επηρεάζεται από το ηλεκτρικό πεδίο που εφαρμόζεται στο μέσο κατά τη διάρκεια της διαδικασίας θέρμανσης. Μειώσεις των πληθυσμών έχουν παρατηρηθεί στα είδη *Bacillus licheniformis*, *E.coli*, *Bacillus subtilis* (ChoH.Yetal. 1999), *Streptococcus thermophilus* (SunH.Xetal. 2008) και σε άλλα. Τα παρατηρούμενα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι το ποσοστό θνησιμότητας μικροβίων μπορεί να έχει επηρεαστεί από ηλεκτρικό ρεύμα. Γενικά η ωμική θέρμανση οδηγεί στο θάνατο σχεδόν όλων των μικροοργανισμών.

Ωστόσο, οι Palaniappan και Sastry (1992) δεν διαπίστωσαν καμία διαφορά μεταξύ των επιδράσεων των ωμικών και της συμβατικής θερμικής επεξεργασίας στην κινητική θανάτου της ζύμης (*Zygosaccharomyces bacilli*).

Η μέθοδος της ωμικής θέρμανσης παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα. Επιτρέπει την ταχεία κι ομοιόμορφη επεξεργασία υγρών και στερεών φάσεων με ελάχιστες θερμικές βλάβες και απώλειες θρεπτικών συστατικών, ενώ δεν είναι ρυπογόνος όπως η συμβατική θέρμανση. Επίσης, τα προϊόντα που έχουν υποστεί κατεργασία με αυτή την τεχνολογία διατηρούν το χρώμα και τη θρεπτική αξία των τροφίμων. Άλλωστε παρουσιάζει χαμηλό κίνδυνο βλάβης των τροφίμων. Γενικά η ωμική θέρμανση φαντάζει ιδανική για ευαίσθητα στη διάτμηση προϊόντα λόγω της χαμηλής ταχύτητας ροής. Πέραν όμως των πλεονεκτημάτων της διαδικασίας αυτής καθαυτής, έχει κι οφέλη οικονομικής φύσεως, καθώς έχει χαμηλό σχετικά κόστος αλλά τα προϊόντα είναι ασφαλή.

Σε σύγκριση με τις συμβατικές μεθόδους επεξεργασίας, η ωμική θέρμανση είναι περισσότερο δαπανηρή. Ένα άλλο μειονέκτημα είναι ότι τα τρόφιμα που περιέχουν λιπαρά σφαιρίδια δεν θερμαίνονται αποτελεσματικά κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ωμικής θέρμανσης, καθώς είναι μη αγώγιμα λόγω έλλειψης νερού και αλατιού (Rahman M.S. 1999). Οποιοδήποτε παθογόνο βακτήριο που μπορεί να υπάρχει σε αυτά τα σφαιρίδια μπορεί έτσι να λάβει λιγότερη θερμική επεξεργασία από το υπόλοιπο της ουσίας και τελικά να μην αδρανοποιηθεί (Sastry S.K 1992).

3.1.6 ΨΥΞΗ/ΚΑΤΑΨΥΞΗ

Πέραν όμως των διαφόρων μεθόδων που στηρίζονται στη χρήση θερμότητας, προκειμένου να αδρανοποιηθεί ο μικροβιακός πληθυσμός, και η ψύξη αποτελεί μια αποτελεσματική λύση. Μάλιστα, στην τεχνολογία εμποδίων χρησιμοποιείται κατά κόρον ως μια από τις συνδυαστικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται. Το ψυγείο ίσως αποτελεί τον πλέον διαδεδομένο τρόπο διατήρησης τροφίμων. Η χρήση πάγου, άλλωστε, ενδείκνυται για τη μείωση της θερμοκρασίας των τροφίμων και την αποφυγή αλλοίωσης. Αν και η μείωση της θερμοκρασίας δεν εξαλείφει τους μικροβιακούς πληθυσμούς, μειώνει αρκετά το ρυθμό μικροβιακής ανάπτυξης κι έτσι αποφεύγεται πιθανή αλλοίωση του προϊόντος ενώ παράλληλα παρατείνεται η διάρκεια ζωής των περισσότερων τροφίμων. Τα περισσότερα φρούτα και λαχανικά ψύχονται για να διατηρήσουν τη φρεσκάδα τους. Σε γενικές γραμμές, η διατήρηση ενός τροφίμου σε θερμοκρασία ψύξης ή κατάψυξης δεν επηρεάζει αρνητικά τις ιδιότητες του τροφίμου, αλλά επεκτείνει τη διάρκεια ζωής του.

Η κατάψυξη στηρίζεται στη χρήση ακόμη χαμηλότερων θερμοκρασιών σε σχέση με αυτών της ψύξης με αποτέλεσμα να μετατρέπεται το νερό σε πάγο (αλλαγή φάσης). Σε αυτές τις μειωμένες θερμοκρασίες (-18 έως -26 °C), τα ποσοστά φθοράς του προϊόντος είναι χαμηλότερα κι η μικροβιακή ανάπτυξη μειώνεται σε αμελητέα επίπεδα. Τα κατεψυγμένα φρούτα, λαχανικά ακόμη και το κρέας μπορούν να διατηρούνται σε άριστη κατάσταση για όσο χρόνο είναι κατεψυγμένα. Πολλά επιδόρπια, όπως το παγωτό, έχουν δημιουργηθεί μέσω της διαδικασίας κατάψυξης. Τα περισσότερα θρεπτικά συστατικά δεν επηρεάζονται από την κατάψυξη.

Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί ο σχηματισμός κρυστάλλων να έχει άμεση επίπτωση στη δομή ενός φυτού ή τροφής. Επομένως ο προσεκτικός έλεγχος του χρόνου

ψύξης ενός προϊόντος και η θερμοκρασία του κατεψυγμένου προϊόντος κατά τη διάρκεια της διανομής και της αποθήκευσης είναι σημαντικές παράμετροι, οι οποίες μπορούν να εξασφαλίσουν το καλύτερο πιθανά ποιοτικά χαρακτηριστικά με την πάροδο του χρόνου (Erickson M.C. and Hung Y-C 1997). Το μέγεθος των κρυστάλλων πάγου που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας κατάψυξης μπορεί να ελεγχθεί, αλλά όχι πάντα – εξαρτάται από το προϊόν και το μέσο κατάψυξης. Για παράδειγμα, μικρά κομμάτια φρούτων ή λαχανικών καταψύχονται πολύ γρήγορα και η δομή του προϊόντος διατηρείται με ομοιόμορφη κατανομή των μικρών κρυστάλλων πάγου. Αντίθετα, το βόειο κρέας ή οποιοδήποτε προϊόν μεγαλύτερου μεγέθους θα απαιτήσει μεγαλύτερο χρονικό διάστημα για να παγώσει και θα οδηγήσει σε λιγότερο ομοιόμορφη κατανομή των μεγαλύτερων κρυστάλλων πάγου. Για πολλά τρόφιμα, τα χαρακτηριστικά ποιότητας των ψυγμένων/κατεψυγμένων συγκρίνονται με εκείνα των νωπών (Mallet C.P. 1993).

Τα φρέσκα φρούτα και τα λαχανικά, όταν συλλέγονται, υφίστανται χημικές αλλαγές που μπορούν να προκαλέσουν αλλοίωση του προϊόντος. Γι' αυτό πρέπει να καταψυχθούν όσο το δυνατόν πιο σύντομα μετά τη συγκομιδή. Συγκεκριμένα τα ένζυμα που συμμετέχουν σε αυτές τις αντιδράσεις πρέπει να αδρανοποιηθούν. Στα λαχανικά αδρανοποιούνται με τη διαδικασία του ξεφλουδίσματος, δηλαδή με την έκθεση των λαχανικών σε βραστό νερό ή ατμό για ένα σύντομο χρονικό διάστημα. Κατόπιν ακολουθεί η ψύξη, η οποία πρέπει να γίνει άμεσα.

Το ξεφλούδισμα, αν και σύμφωνα με κάποιες ερευνητικές ομάδες ίσως να μην είναι ιδανικό ως τρόπος κατεργασίας, συμβάλλει στην καταστροφή των μικροοργανισμών στην επιφάνεια του λαχανικού και στη δημιουργία πιο συμπαγών λαχανικών, όπως το μπρόκολο και το σπανάκι.

Το μείζον πρόβλημα που συνδέεται με τα ένζυμα στα φρούτα είναι η ανάπτυξη καφέ χρώματος και η απώλεια βιταμίνης C. Τα ένζυμα στα κατεψυγμένα φρούτα ελέγχονται με τη χρήση χημικών ενώσεων. Το πιο κοινό χημικό ελέγχου είναι το ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C). Το ασκορβικό οξύ μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην καθαρή του μορφή ή σε εμπορικά μίγματα με σάκχαρα. Μία άλλη ομάδα χημικών μεταβολών που μπορεί να λάβει χώρα σε κατεψυγμένα προϊόντα είναι η οξειδωση μέσω επαφής του κατεψυγμένου προϊόντος με τον αέρα. Αυτό το πρόβλημα μπορεί να λυθεί χρησιμοποιώντας ένα υλικό περιτύλιξης που δεν επιτρέπει την είσοδο αέρα μέσα στο προϊόν.

Το νερό αποτελεί πάνω από το 90% του βάρους των περισσότερων φρούτων και λαχανικών. Το νερό και άλλες χημικές ουσίες κρατούνται μέσα στα αρκετά άκαμπτα κυτταρικά τοιχώματα που παρέχουν δομή στήριξης και υφή στα φρούτα ή τα λαχανικά. Η κατάψυξη των φρούτων και των λαχανικών στην πραγματικότητα συνίσταται στην κατάψυξη του νερού που περιέχεται στα φυτικά κύτταρα. Όταν το νερό παγώσει, επεκτείνεται και οι κρύσταλλοι πάγου προκαλούν ρήξη των κυτταρικών τοιχωμάτων. Κατά συνέπεια, η υφή του προϊόντος, όταν αποψυχθεί, θα είναι πολύ πιο μαλακή. Αυτό εξηγεί γιατί το σέλινο και το μαρούλι δεν είναι συνήθως κατεψυγμένα και είναι ο λόγος για την πρόταση ότι τα κατεψυγμένα φρούτα, πρέπει να καταναλώνονται συνήθως ωμά, πριν ψυχθούν. Ωστόσο σε τρόφιμα που μαγειρεύονται, δεν εμφανίζουν έντονες αλλαγές στην υφή, αφού το μαγείρεμα μαλακώνει τα τοιχώματα των κυττάρων, απομακρύνοντας ουσιαστικά τον πάγο. Οι αλλαγές που προκαλούνται μετά την ψύξη είναι λιγότερο αισθητές στα λαχανικά με υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο, όπως τα μπιζέλια, το καλαμπόκι και τα φασόλια τύπου λίμα.

Η έκταση της ρήξης κυτταρικού τοιχώματος μπορεί να ελεγχθεί με την άμεση κατάψυξη των προϊόντων. Σε αυτή την περίπτωση σχηματίζεται μεγάλος αριθμός μικρών κρυστάλλων πάγου. Αυτοί οι κρύσταλλοι οδηγούν σε μικρότερη ρήξη κυτταρικού τοιχώματος σε αντίθεση με την αργή κατάψυξη που παράγει μόνο μεγάλους κρυστάλλους πάγου. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο ορισμένα εγχειρίδια καταψύκτη στο σπίτι συνιστούν τη ρύθμιση της θερμοκρασίας της κατάψυξης στη χαμηλότερη θερμοκρασία αρκετές ώρες πριν από την τοποθέτηση των τροφίμων στην κατάψυξη.

Για τη διατήρηση της ποιότητας, τα κατεψυγμένα φρούτα και τα λαχανικά πρέπει να φυλάσσονται σε -18°C ή χαμηλότερα. Η αποθήκευση των κατεψυγμένων τροφών σε θερμοκρασίες υψηλότερες από -18°C αυξάνει τον ρυθμό με τον οποίο μπορούν να λάβουν χώρα οι αντιδράσεις και μπορεί να μειώσει τη διάρκεια ζωής των κατεψυγμένων τροφίμων.

Η ψύξη λοιπόν, αποτελεί έναν τρόπο αδρανοποίησης του μικροβιακού πληθυσμού. Καθώς το νερό παγώνει, οι διαλυμένες ουσίες συγκεντρώνονται στο μη καταψυγμένο κλάσμα του νερού στο οποίο απαντώνται και τα βακτηρίδια. Το νερό διαχέεται από το μικροβιακό κύτταρο στο περιβάλλον και μπορούν να συμβούν τα εξής: σχηματισμός εξωκυτταρικού πάγου, σχηματισμός ενδοκυτταρικού πάγου, συγκέντρωση εξωκυτταρικού διαλύματος, συγκέντρωση ενδοκυτταρικών διαλυμένων ουσιών ((El-Kest S.E. and Marth E.H. 1992, Lund B.M.2000).

Με βάση τα παραπάνω ίσως να μπορούν κι οι επιδράσεις διαφόρων παραγόντων που σχετίζονται με τη βιωσιμότητα των μικροοργανισμών κατά τη διάρκεια της

κατάψυξης και της απόψυξης, όπως η ταχύτητα της ψύξης, η θερμοκρασία αποθήκευσης, η σύνθεση της μήτρας κατάψυξης η διατροφική κατάσταση του μικροοργανισμού. Τα φυσικά ή τεχνητά κρυοπροστατευτικά δρουν για να μετριάσουν έναν ή περισσότερους από τους παραπάνω πέντε παράγοντες. Η βλάβη συσσωρεύεται με την πάροδο του χρόνου και σε κάποιο σημείο- κατώφλι θα γίνει ανεπανόρθωτη με αποτέλεσμα όταν το κύτταρο αποψυχθεί να έχει καταστραφεί. Η βλάβη χειροτερεύει καθώς οι κρύσταλλοι αυξάνονται (El-Kest S.E. and Marth E.H. 1992). Αυτό συμβαίνει, επειδή η απόψυξη διαρκεί περισσότερο από το πάγωμα και τα τρόφιμα παραμένουν μακρύτερα στη θερμοκρασία υπο-ψύξης, όπου ευνοείται η ανακρυστάλλωση.

Επιπλέον κατά τη διαδικασία της ψύξης μπορεί να συμβεί οξειδωτική βλάβη όπως στο *Saccharomyces cerevisiae* (Park J. *et al.* 1998). Η αντίσταση σε τέτοιου είδους βλάβη παρέχεται από το ένζυμο υπεροξειδική δισμουτάση (SOD). Το εν λόγω ένζυμο προστατεύει τους μικροοργανισμούς που το φέρουν από τις πιθανές ζημιές που μπορεί να προκαλέσει το πάγωμα-απόψυξη. Σε πειράματα που έγιναν στο γένος *Campylobacters* και συγκεκριμένα στα *C. coli* και *C. jejuni* φάνηκε πως αυτό το ένζυμο διαδραματίζει καίριο ρόλο στην προστασία των βακτηρίων έναντι οξειδωτικού στρες. Εκτός από την προστασία απέναντι στην ψύξη η δισμουτάση προστατεύει κι από οξειδωτικές βλάβες των κυττάρων στα τρόφιμα, στην περίπτωση των εντερικών οδών στο κοτόπουλο (Purdy *et al.* 1999). Αυτό που αξίζει να μελετηθεί είναι πώς μπορεί να επιτευχθεί η απενεργοποίηση βακτηριακών δισμουτασών προκειμένου να ενισχυθεί η καταστροφική επίδραση της κατάψυξης έναντι των μικροοργανισμών.

3.1.7 ΧΡΗΣΗ ΟΖΟΝΤΟΣ

Το όζον (O₃) είναι μια αλλοτροπική μορφή οξυγόνου που παράγεται φυσικά στη στρατόσφαιρα από οξυγόνο μέσω ηλεκτρικών εκκενώσεων (π.χ. κεραυνός) (Cesari *et al.* 2012). Σε θερμοκρασία δωματίου απαντάται ως ένα άχρωμο αέριο, αλλά σε υψηλές θερμοκρασίες γίνεται μπλε. Γίνεται αντιληπτό λόγω της χαρακτηριστικής του οσμής. Στο εργαστήριο, όζον μπορεί να παραχθεί με τη χρήση γεννητριών εκκένωσης υπεριώδους ακτινοβολίας. Κατά το σχηματισμό όζοντος, το O₂ διαχωρίζεται σε ενεργές ελεύθερες ρίζες, οι οποίες με τη σειρά τους αντιδρούν με άλλα μόρια οξυγόνου που σχηματίζονται όζον. Ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1839 από τον Ευρωπαϊό ερευνητή C.F. Schonbein, ο οποίος παρατήρησε ότι η ηλεκτρόλυση του νερού παρήγαγε ένα οσμηρό αέριο. Χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά το 1907 για την κάλυψη της ύδρευσης στη Νίκαια και το 1910 στην Αγία Πετρούπολη (Kogelschatz U. 1988).

Το όζον είναι ένα αποτελεσματικό αντιμικροβιακό και ισχυρό αντιοξειδωτικό (Naito S. and Takahara H. 2006). Δρα με δύο διαφορετικούς τρόπους για την καταστροφή παθογόνων μικροοργανισμών. Ο πρώτος μηχανισμός στηρίζεται στην οξείδωση ενζύμων, αμινοξέων, ομάδων σουλφυδρυλίου, πρωτεϊνών και πεπτιδίων. Στο δεύτερο μηχανισμό έχουμε πάλι οξείδωση – αυτή τη φορά όμως οξειδώνονται πολυακόρεστα λιπαρά οξέα σε οξέα και υπεροξειδία (Sarron *etal.* 2013). Μετά την αποικοδόμηση των ακόρεστων λιπαρών οξέων, το κυτταρικό περιεχόμενο εμφανίζει διαρροή, ο κυτταρικός φάκελος καταστρέφεται και έχουμε κυτταρικό θάνατο. Τα βακτηριοκτόνα αποτελέσματα του όζοντος έχουν μελετηθεί σε μια ευρεία ποικιλία οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων Gram θετικών και Gram αρνητικών βακτηριδίων καθώς και σε σπόρια και βλαστικά κύτταρα (Ishizaki K. *etal.* 1986, Restaino *etal.* 1995). Η καταστροφή των βακτηρίων επιτυγχάνεται με επίθεση κατά των γλυκοπρωτεϊνών της βακτηριακής μεμβράνης και / ή των γλυκολιπιδίων. Ο Khadre με την ομάδα του (2001) συνέκριναν τα αποτελέσματα κατεργασίας με όζον κι υπεροξείδιο του υδρογόνου έναντι του γένους *Bacillus* και διαπίστωσε πως το όζον ήταν αποτελεσματικότερο. Αυτό που το καθιστά τόσο αποτελεσματικό είναι η ισχυρή ικανότητα οξείδωσης. Το όζον, πέραν βακτηρίων, μπορεί να καταστρέψει κι ένα ευρύ φάσμα ιών, όπως τον ιό εγκεφαλομυελίτιδας ιπποειδών της Βενεζουέλας, της ηπατίτιδας Α, τον ιό της γρίπης Α, τον ιό της φυσαλιδώδους οστίτιδας, και τον ιό της λοιμώδους ρινοτραχειίτιδας των βοοειδών καθώς και πολλά στελέχη βακτηριοφάγων (Kim *etal.* 1980, Akey & Walton 1985).

Το όζον έχει το πλεονέκτημα ότι αποσυντίθεται σε οξυγόνο χωρίς να αφήνει οποιαδήποτε «υπολείμματα» στα τρόφιμα. Ωστόσο, η επιτρεπόμενη συγκέντρωση όζοντος που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε συσκευασίες υγρών είναι 0,4 mg/l μόλις εμφιαλωθούν (Williams R. C. *etal.* 2005). Ως μέθοδος παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα. Αρχικά αποσυντίθεται αυτόματα από το αλλότροπο των τριών ατόμων στο οξυγόνο χωρίς όμως να επηρεάζει το τρόφιμο. Επίσης, λόγω του υψηλού δυναμικού οξειδώσεως (2,07 V) σε αλκαλικό διάλυμα είναι ένας αποτελεσματικός αντιμικροβιακός παράγοντας (Fisher *et al.* 2000, Graham 1997). Τέλος καταστρέφει πολλούς διαφορετικούς μικροοργανισμούς σε χαμηλές σχετικά συγκεντρώσεις επηρεάζοντας αρκετά από τα κυτταρικά συστατικά, όπως το κυτταρικό περίβλημα (οξείδωση των ακόρεστων λιπαρών οξέων), νουκλεϊκά οξέα και ένζυμα στο κυτταρόπλασμα (Das *etal.* 2006). Αξίζει να αναφερθεί ένα παράδειγμα όπου καταδεικνύεται η αποτελεσματικότητα της μεθόδου. Ένα σοβαρό ζήτημα για τη βιομηχανία τροφίμων υπήρξε για πολλά χρόνια η μόλυνση του κρόκου αυγού ή του

λευκώματος από παθογόνα, όπως το *S. enterica*, παρά την κατεργασία των αυγών με θερμική παστερίωση. Αντίθετα, η εφαρμογή όζοντος για την αντιμετώπιση των παθογόνων είχε τα επιθυμητά αποτελέσματα (Perry and Yousef 2013). Ένα ακόμη παράδειγμα για τη δράση του όζοντος είναι το εξής: Το όζον χρησιμοποιείται για την αποικοδόμηση των αφλατοξινών στους σπόρους βαμβακιού, τα φιστίκια, και σε υδατικά διαλύματα (Akbas M.Y. and Ozdemir M. 2006).

Ωστόσο, η χρήση όζοντος είναι περιορισμένη, λόγω του υψηλού κόστους και της χαμηλής αποτελεσματικότητάς του έναντι ορισμένων μικροοργανισμών, όπως σπόρια, ιοί και κύστες. Η χαμηλή αποτελεσματικότητα μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι η άμεσα διαθέσιμη οργανική ύλη στα τρόφιμα ανταγωνίζεται με μικροοργανισμούς παρουσία όζοντος. Επιπλέον, οι υψηλές συγκεντρώσεις όζοντος καθίστανται διαβρωτικές αλλοιώνοντας την εικόνα του τροφίμου, με αποτέλεσμα το τρόφιμο που έχει υποστεί κατεργασία με όζον να μην προτιμάται από τον καταναλωτή (Akbas M.Y. and Ozdemir M. 2006). Τέλος πρέπει να αναφερθεί κι η πιθανή τοξικότητά του. Αν και σε χαμηλές συγκεντρώσεις το όζον δεν είναι τοξικό, εν τούτοις σε αυξημένες συγκεντρώσεις μπορεί να αποβεί μοιραίο για τον άνθρωπο. Έκθεση στο αέριο αυτό προκαλεί αύξηση της ταχύτητας αναπνοής σε σκύλους, ενώ μακροχρόνια έκθεση οδηγεί σε διάταση των πνευμόνων σε νεαρά ποντίκια (Barlett *et al.* 1974).

Όζον χρησιμοποιείται και στα φρούτα και τα λαχανικά, προκειμένου να επεκταθεί η διάρκεια ζωής τους στο ράφι (Norton *et al.* 1968, Rice *et al.* 1982). Συγκεκριμένα, σε πειράματα που έγιναν σε μήλα, το όζον φάνηκε να μειώνει τις πιθανότητες προσβολής από μικροοργανισμό, αλλά κι απώλειας μάζας. Επίσης κρεμμύδια που υπέστησαν κατεργασία με όζον πριν αποθηκευτούν παρουσίασαν λιγότερες αποικίες, χωρίς να έχει αλλοιωθεί η σύστασή τους (Song *et al.* 2000).

Έχει βρεθεί ότι το όζον ήταν το ίδιο αποτελεσματικό με τη χλωρίωση στα γαλακτοκομικά προϊόντα, όπου παρατηρήθηκε μείωση των βακτηριακών πληθυσμών κατά 99%. Σε πειράματα που έγιναν έγινε σύγκριση τριών τεχνολογιών: όζον, χλώριο και θερμότητα. Και στις τρεις περιπτώσεις μελετήθηκε ο βακτηριακός θάνατος σε συνθετικό ζωμό (Dosti 1998). Τα βακτήρια που μελετήθηκαν ήταν τα κάτωθι: *P. fluorescens* (ATCC 948), *Pseudomonas fragi* (ATCC 4973), *Pseudomonas putida* (ATCC 795), *Enterobacter aerogenes* (ATCC 35028), *Enterobacter cloacae* (ATCC 35030) και *Bacillus licheniformis* (ATCC 14580). Οι πειραματικές συνθήκες, δηλαδή οι χρόνοι έκθεσης κι η συγκέντρωση (ή θερμοκρασία) ήταν για το όζον 0,6 ppm για 1 λεπτό και 10 λεπτά, για το χλώριο 100 ppm για 2 λεπτά και για τη θερμότητα 7771 ° C για 5

λεπτά. Όπως έδειξαν τα αποτελέσματα η χρήση όζοντος για 10 λεπτά είχε την καλύτερη επίδραση, δηλαδή οδήγησε στο θάνατο πολλών βακτηρίων. Αντίθετα η χρήση όζοντος για ένα λεπτό είχε ελάχιστη επίδραση κατά των βακτηρίων.

Δεδομένου ότι τα απορρίμματα φυτικών τροφίμων συχνά περιέχουν μεγάλες ποσότητες υδατανθράκων, λιπών, πρωτεϊνών και ανόργανων αλάτων, η πλήρης αποικοδόμηση αυτών είναι πολύπλοκη. Συνήθως τα απόβλητα υπόκεινται σε βιολογικές μεθόδους επεξεργασίας. Όμως υπάρχει κάτι που είναι ανησυχητικό: τα απόβλητα επεξεργασίας τροφίμων αποτελούν πηγή τροφής για τα μικρόβια. Οι μικροοργανισμοί μπορούν επομένως να πολλαπλασιάζονται γρήγορα και στη συνέχεια να προκαλούν μείωση της ποσότητας του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό.

Το βιοχημικά απαιτούμενο οξυγόνο (BOD) και το χημικά απαιτούμενο οξυγόνο (COD) αποτελούν μεθόδους ελέγχου της ποσότητας της οργανικής ύλης στον υδροφόρο ορίζοντα. Σε μελέτες που έγιναν δείγματα τεχνητών γαλακτοκομικών αποβλήτων υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με όζον. Αποτέλεσμα ήταν η μείωση του βιοχημικά απαιτούμενου οξυγόνου κατά 15% (Guzel-Seydim 1996). Το όζον, λοιπόν, είναι ένας πολλά υποσχόμενος τρόπος καθαρισμού κι επεξεργασίας αποβλήτων για τη γαλακτοκομική βιομηχανία και τη βιομηχανία τροφίμων.

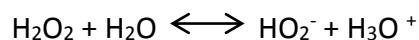
Ο συνδυασμός διαφόρων μεθόδων διατήρησης τροφίμων φαίνεται να ενισχύει την αντιμικροβιακή δράση της καθεμιάς ξεχωριστά. Η συνδυαστική αυτή δράση ή αλλιώς τεχνολογία εμποδίων έχει αρχίσει ήδη να εφαρμόζεται. Άλλωστε εξασφαλίζει ακόμη πιο έντονο βακτηριακό θάνατο καθώς επίσης μειώνει και τη δυνατότητα πολλαπλασιασμού των επιβιώσαντων κυττάρων, ενώ μειώνει τη δριμύτητα της κάθε τεχνολογίας (άρα και τις παρενέργειες). Το όζον σε συνδυασμό με τη θέρμανση μπορούν να ξεπεράσουν τα προβλήματα που εμφανίζονται όταν οι δύο τεχνολογίες εφαρμοστούν ανεξάρτητα (Kim *etal.* 2003). Πρόσφατα, ο Sung κι οι συνεργάτες του (2014) διερεύνησαν τα αποτελέσματα του συνδυασμού αυτού σε χυμό μήλου και διαπίστωσαν ότι η συνεργιστική δράση των δύο μεθόδων οδηγεί σε μείωση του αριθμού των μικροοργανισμών, χωρίς όμως να επιφέρει αλλοιώσεις στο προϊόν.

Όπως ήδη έχει αναφερθεί η συνεργιστική δράση τεχνολογιών αυξάνει την αποτελεσματικότητα των μεθόδων. Ποιοι όμως συνδυασμοί είναι οι καταλληλότεροι για την αυξημένη απόκριση έναντι των μικροοργανισμών; Στην παρούσα εργασία θα αναφέρουμε τρία γνωστά παραδείγματα.

Προηγμένες οξειδωτικές διαδικασίες. (AOPs) Είναι διαδικασίες που έχουν σχεδιαστεί

AOPs περιλαμβάνονται οζονισμός σε υψηλό pH, διαδικασίες H₂O₂ / O₃ και UV φωτόλυση του H₂O₂ (Arselan *etal.* 1999).

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου σε υδατικά διαλύματα διασπάται σε ανιόν υδροϋπεροξειδίου (HO₂⁻) που είναι ιδιαίτερα αντιδραστικό με το όζον (Taube και Bray 1940). Η αντίδραση που συμβαίνει είναι η κάτωθι:



Τα ιόντα υδροϋπεροξειδίου που καταναλώνονται αντικαθίστανται γρήγορα με μετατόπιση της ισορροπίας της αντίδρασης προς τα δεξιά. Ως εκ τούτου, πολύ μικρές συγκεντρώσεις H₂O₂ αρκούν προκειμένου να αρχίσει η αποσύνθεση του όζοντος.

Παρακάτω θα αναφερθούν ορισμένα παραδείγματα για το πώς διάφορες τεχνικές οξείδωσης μπορούν να συνδυαστούν. Ο Cortes κι οι συνεργάτες του (2000) διαπίστωσαν ότι το όζον εφόσον χρησιμοποιηθεί μαζί με καταλύτες (Fe²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺) ήταν πιο αποτελεσματικό από το όζον σε συνδυασμό με υψηλό pH για την εξάλειψη των χλωροβενζολών, οι οποίες εντοπίζονται στα βιομηχανικά απόβλητα. Άλλοι ερευνητές, βέβαια, αμφισβήτησαν την αποτελεσματικότητα των AOP. Οι Rajala-Mustonen και Heinoen-Tanski (1995) ανέφεραν ότι το όζον από το νερό της βρύσης ήταν πολύ πιο αποτελεσματικό στην αδρανοποίηση βακτηρίων από ό,τι οι οξειδωτικές μέθοδοι που χρησιμοποίησαν - υπεριώδες φως με υπεροξείδιο υδρογόνου. Η ομάδα των εν λόγω μεθόδων, λοιπόν, μπορεί να φαίνονται θεωρητικά εφικτές, αλλά εξακολουθούν να μην επαρκούν για πρακτική εφαρμογή στα τρόφιμα.

2) Όζον - Χλώριο. Το όζον είναι δραστικό και χωρίς το χλώριο - αλλάζει τη διαπερατότητα της μεμβράνης. Σε πειράματα που έγιναν (Gyurek *etal.* 1996), διαπιστώθηκε πως η χρήση χλωρίου ήταν αναποτελεσματική στην αντιμετώπιση των ωοκυστών του *Cryptosporidium parvum*. Το αποτέλεσμα φάνηκε να αλλάζει, όταν είχε προηγηθεί κατεργασία με μικρή δόση όζοντος. Μάλλον άλλαζε η διαπερατότητα της μεμβράνης της ωοκύστης οπότε το χλώριο μπορούσε να εισδύσει και να προκαλέσει απενεργοποίησή τους.

3) Παλμικό ηλεκτρικό πεδίο κι όζον. Η ερευνητική ομάδα Unal (2001) μελέτησε την απενεργοποίηση του *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* και *Lactobacillus leichmannii* συνδυάζοντας κατεργασία με όζον και παλμικό ηλεκτρικό πεδίο (PEF). Τα κύτταρα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία και φάνηκε πως οι δύο μέθοδοι δεν έχουν συνεργατική δράση, απλώς η μία επιδρά θετικά στην κύρια δράση της άλλης.

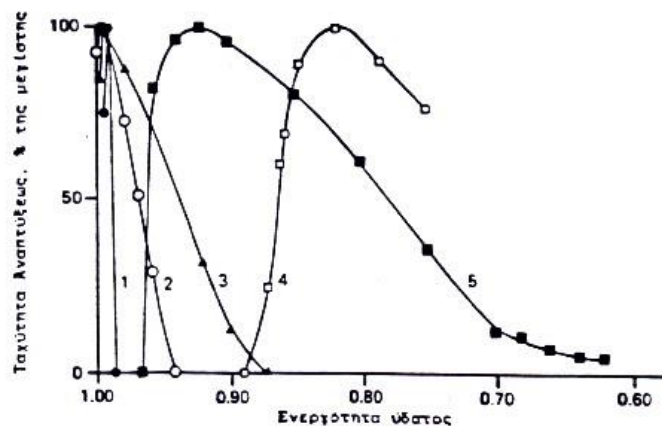
3.1.8 ΗΛΕΚΤΡΟΛΥΣΗ ΝΕΡΟΥ

Ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο στον έλεγχο των χαρακτηριστικών ποιότητας των τροφίμων και της ασφάλειας των τροφίμων είναι η ενεργότητα υγρασίας (a_w). Η ιδιότητα αυτή εκφράζει την υδατική κατάσταση ενός τροφίμου. Προτάθηκε για πρώτη φορά στη δεκαετία του 1950, όταν κατέστη προφανές πως η περιεκτικότητα σε νερό δεν θα μπορούσε να αντιπροσωπεύει επαρκώς την ανάπτυξη μικροβίων. Η ενεργότητα υγρασίας είναι ένα αδιάστατο μέγεθος που αποτελεί μέτρο της διαθεσιμότητας του νερού του τροφίμου. Γενικά, η φύση και η έκταση της αλλοίωσης ενός τροφίμου σχετίζονται όχι μόνον με την απόλυτη ποσότητα του νερού, αλλά και την κατάσταση και ποσότητα του διαθέσιμου νερού.

Η έννοια της ενεργότητας υγρασίας είναι πολύ σημαντική για τα τρόφιμα χαμηλής υγρασίας, ξηρά και ημιστερεά προϊόντα. Ποσοτικοποιεί την τάση του νερού του τροφίμου να μεταβεί στην αέρια φάση αλλά και την τάση του νερού του τροφίμου να συμμετέχει σε διάφορες αντιδράσεις ή να ευνοεί τον μετασχηματισμό της φυσικής καταστάσεως του τροφίμου. Η ενεργότητα υγρασίας είναι σημαντική για το σχεδιασμό των διεργασιών, επειδή επηρεάζει την ευκολία ή δυσκολία απομάκρυνσης του νερού, η οποία εξαρτάται από τη μερική τάση των υδρατμών υπεράνω του τροφίμου και από την ενέργεια δέσμευσης του νερού στο τρόφιμο. Η ενεργότητα ύδατος επηρεάζει τη σταθερότητα του τροφίμου και έτσι θα πρέπει τα αποξηραμένα τρόφιμα να έχουν μία a_w μικρότερη από κάποιο επίπεδο στο τέλος της αφυδατώσεως ώστε να διατηρούνται κατά την αποθήκευσή τους. Σημαντική, όμως, φαίνεται να είναι κι η επίδρασή της στην ανάπτυξη μικροβιολογικού φορτίου. Γενικά, η δράση των μικροοργανισμών σταματά όταν $a_w < 0.65$. Η περιοχή αυτή θεωρείται κατώφλι μικροβιακής σταθερότητας ενός τροφίμου. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων και των παθογόνων βακτηρίων, αναπτύσσονται ταχύτατα σε a_w της περιοχής 0.995-0.86. Ανάλογα με τον τύπο του μικροβίου διακρίνουμε τις εξής περιπτώσεις:

- Περιοχή σταθερότητας για όλους τους μικροοργανισμούς: $a_w < 0,65$

- Αν $a_w > 0,65$ υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης ζυμών
- Αν $a_w > 0,75$ υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης μυκήτων
- Αν $a_w > 0,84$ υπάρχει κίνδυνος ανάπτυξης κάποιων μικροβίων ως εξής:
- Για τα μικρόβια γενικά ισχύει:
 - Ο *Staphylococcus aureus* είναι ικανός να αναπτυχθεί σε χαμηλή $a_w > 0,86$
 - Η *Salmonella* είναι ικανή να αναπτυχθεί σε $a_w > 0,91$
 - Η *Listeria monocytogenes* είναι ικανό να αναπτυχθεί σε $a_w > 0,93$
 - Ο *Bacillus cereus* είναι ικανός να αναπτυχθεί σε χαμηλή $a_w > 0,93$
 - Το *Clostridium botulinum* είναι ικανό να αναπτυχθεί σε $a_w > 0,94$
 - Το *Clostridium perfringens* είναι ικανό να αναπτυχθεί σε $a_w > 0,95$



Σχήμα 3.4 :Επίδραση της a_w επί της ανάπτυξεως 5 μικροοργανισμών. (1)*Mycoplasma gallisepticum*, (2)*Salmonella oranienburg*, (3)*Staphylococcus aureus*, (4)*Halobacterium halobium* και (5)*Xeromyces bisporus*

Το νερό και η a_w επηρεάζουν την ενζυμική δραστηριότητα αυξάνοντας το συντελεστή διάχυσης των μορίων, δηλαδή αυξάνοντας την κινητικότητά τους. Ο συντελεστής διάχυσης επηρεάζεται σημαντικά από την υγρασία και τη θερμοκρασία. Συντελεί στη σταθεροποίηση της δομής και διαμόρφωσης των ενζύμων. Επίσης διασπά τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ πολικών ομάδων. Στην περιοχή a_w 0,65-0,70 πολλά ένζυμα δείχνουν ελάχιστη δράση, αυξάνοντας τη δραστηριότητά τους καθώς αυξάνεται το επίπεδο της a_w . Οι λιπάσες μπορούν να δράσουν σε μικρότερα επίπεδα a_w σε σχέση με τα υπόλοιπα ένζυμα. Σε χαμηλά επίπεδα a_w τα λιπίδια μπορούν να αυτοξειδωθούν.

Στην περιοχή τιμών 0.3-0.5 ο ρυθμός οξείδωσης λιπιδίων μειώνεται για να αυξηθεί ξανά. Η μείωση του ρυθμού οξείδωσης επιτυγχάνεται μέσω ενός μηχανισμού προστατευτικής δράσης του νερού. Επί της επιφανείας του τροφίμου, οι δεσμοί υδρογόνου του νερού προστατεύουν τα υδροϋπεροξειδία από την αποσύνθεση και έτσι επιβραδύνουν το ρυθμό έναρξης μέσω αποσύνθεσης των υπεροξειδίων. Τα μέταλλα καταλύουν τα αρχικά στάδια της οξείδωσης, όταν, όμως ενυδατωθούν μειώνεται η καταλυτική τους δράση και η έκταση της μείωσης εξαρτάται από το είδος του μετάλλου. Το νερό μπορεί να αντιδράσει με μέταλλα παράγοντας αδιάλυτα μεταλλικά υδροξείδια. Η παρουσία νερού μπορεί να επηρεάσει ευθέως τις παραγόμενες ελεύθερες ρίζες. Η εξήγηση του φαινομένου μπορεί να οφείλεται στους παρακάτω λόγους:

- Στην παραγωγή αντιοξειδωτικών κατά τη μη-ενζυμική αμαύρωση, τα οποία καταστέλλουν την οξείδωση
- Στην ενυδάτωση των μεταλλικών ιόντων , που παρεμποδίζει την συμμετοχή τους ως καταλυτών
- Στο σχηματισμό συνδέσεων μεταξύ των πρωτεϊνών μέσω των οξειδωμένων λιπιδίων, τα οποία δρουν ως μέσα συνδέσεως

Αδιαμφισβήτητα το όξινα ιονισμένο νερό έχει ισχυρή αντιμικροβιακή δράση,ωστόσο δεν είναι σαφές εάν το αντιμικροβιακό δυναμικό οφείλεται σε μείωση του δυναμικού οξείδωσης (ORP), ενώσεις χλωρίου, pH ή συνδυασμό των παραγόντων αυτών (Al-Haq *etal.* 2005). Οι ερευνητές θεωρούσαν ότι το χαμηλό pH ήταν υπεύθυνο για τη βακτηριακή μείωση και για την ευαισθησία του κυττάρου στο υποχλωριώδες οξύ (HOCl), διασπώντας τη μεμβράνη και διακόπτοντας τον φυσιολογικό μεταβολισμό (Mahmoud 2007, Parketal.2004). Ο Len κι η ομάδα του (2000) διαπίστωσαν όμως κάτι διαφορετικό - το HOCl ήταν αυτό που προκαλούσε τη θανάτωση των βακτηρίων. Ωστόσο, ορισμένοι πιστεύουν ότι είναι το δυναμικό οξείδωσης αυτό που ευθύνεται για τη μικροβιακή αναστολή, επειδή το ORP ενός διαλύματος υποδεικνύει την ικανότητά του να οξειδώνεται ή να μειώνεται.

Το σίγουρο είναι πως το ιονισμένο νερό έχει αντιμικροβιακές ιδιότητες, όπως έχει φανεί μετά από χρήση του σε φρούτα και λαχανικά. Παραδείγματα για τις ευεργετικές δράσεις του ιονισμένου νερού υπάρχουν πολλά. Οι Rahman, Wang, και Oh (2013) μελέτησαν χοιρινό κρέας, το οποίο κατεργάστηκε με συνδυασμό ηλεκτρολυμένου νερού (χαμηλής συγκέντρωσης) και γαλακτικού ασβεστίου σε χαμηλή θερμοκρασία (4°C). Παρατήρησαν πως η διάρκεια ζωής αυξήθηκε κατά 6 ημέρες. Σε άλλη μελέτη, η

a_w συνδυάστηκε με κιτρικό οξύ για την επεξεργασία των κόκκων δημητριακών και τα αποτελέσματα αποκάλυψαν συνεργιστική αντιμικροβιακή δράση των τεχνικών και μείωση των παθογόνων και γενικά της μικροχλωρίδας του προϊόντος (Rahman *et al.* 2010, 2011). Ένα ακόμη ενδιαφέρον εύρημα ήταν η μείωση των πληθυσμών αερόβιων βακτηρίων, μυκήτων και κολοβακτηριδίων σε μη ανιχνεύσιμα επίπεδα σε φράουλες κι αγγούρια μετά από επεξεργασία AEW για 10 λεπτά (Mahmoud 2007, Rahman *et al.* 2011).

Όπως κάθε τεχνολογία, το ιονισμένο νερό έχει ορισμένους περιορισμούς, συμπεριλαμβανομένης της μικρής διάρκειας ζωής (72 ώρες). Επίσης μπορεί να περιέχει ποσότητες επιβλαβών μετάλλων ή και υπολείμματα αλάτων, τα οποία μεταβιβάζονται στο προϊόν μετά από κατεργασία.

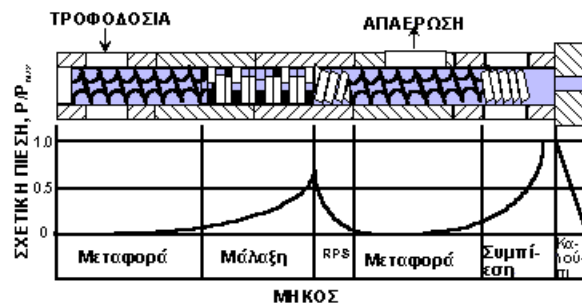
3.1.9 ΕΞΩΘΗΣΗ

Η εκβολή ή εξώθηση είναι μία διεργασία μέσω της οποίας ένα υλικό, συνήθως κοκκώδες, μετατρέπεται σε συνεχές στερεό ή ημιστερεό προϊόν. Συνδυάζει μια σειρά από φυσικές διεργασίες, όπως ανάμιξη, θέρμανση, μάλαξη, σχηματοποίηση, παστερίωση, βιοχημικές διεργασίες, μορφοποίηση και αφύγρανση. Εμφανίστηκε το 1950 στην Ευρώπη, ενώ από τη δεκαετία του 1980 και μετά χρησιμοποιήθηκε ευρέως στον σχεδιασμό και την παραγωγή νέων προϊόντων. Ο εξωθητήρας αποτελείται από μία αντλία τύπου κοχλία που κινείται εντός δοχείου, όπου το τρόφιμο υπόκειται επεξεργασία υπό πίεση και υψηλή θερμοκρασία κι έτσι μετατρέπεται σε ημιστερεά μάζα. Η μάζα αυτή εξαναγκάζεται να διέλθει μέσω ενός στενού ανοίγματος, το οποίο βρίσκεται στην έξοδο του κοχλία. Αν το τρόφιμο θερμαίνεται, η επεξεργασία χαρακτηρίζεται ως θερμή εκβολή ή εξώθηση. Ο κύριος σκοπός της εξώθησης είναι η αύξηση της ποικιλίας των τροφίμων με την παραγωγή ενός τελικού προϊόντος διαφορετικού σχήματος, υφής, χρώματος και γεύσεως-οσμής. Η θερμή εξώθηση είναι η επεξεργασία υψηλής θερμοκρασίας- βραχέος χρόνου, η οποία μειώνει το μικροβιακό φορτίο και αδρανοποιεί τα ένζυμα, διατηρώντας όμως σχετικά ανεπηρέαστες τις βιταμίνες του προϊόντος. Όμως, η κύρια μέθοδος συντήρησης τόσο των θερμώς όσο και

των ψυχρώς εξωθημένων τροφίμων επιτυγχάνεται με τη μείωση της περιεκτικότητας σε υγρασία, επομένως και της ενεργότητας νερού του προϊόντος.

Τι ακριβώς όμως περιλαμβάνει η τεχνολογία αυτή; Αρχικά ένας τροφοδότης, συνήθως κωνικού σχήματος, τροφοδοτεί με κοκκώδες υλικό το χιτώνιο του εκβολέα. Ο κοχλίας μεταφέρει το υλικό αυτό, το συμπιέζει

και το μετατρέπει από κοκκώδες σε μια ημι-στερεή πλαστικοποιημένη μάζα. Η μάζα εκβάλλεται μέσω ενός στενού ανοίγματος, της μήτρας. Κατά την έξοδο κόβεται. Σε ορισμένες περιπτώσεις απαιτείται επικάλυψη.



Σχήμα 3.5 : Σχηματική απεικόνιση των βημάτων που λαμβάνουν χώρα κατά την κατεργασία μέσω εξώθησης.

Οι ιδιότητες του υλικού τροφοδοσίας επηρεάζουν σημαντικά την υφή και το χρώμα του εξωθημένου προϊόντος. Οι σπουδαιότεροι παράγοντες είναι :

- η περιεκτικότητα υγρασίας του προϊόντος
- η φυσική κατάσταση των υλικών
- η χημική σύνθεση, ιδιαιτέρως δε το ποσό και ο τύπος του αμύλου, των πρωτεϊνών, των λιπών και των σακχάρων
- οι ρεολογικές ιδιότητες (χρησιμοποιούνται για την περιγραφή της ροής των ρευστών τόσο για τα τρόφιμα όσο και για βιολογικά υγρά, π.χ. το αίμα.)
- οι πιθανές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται (υδρόλυση-hydrolysis, δεξτρίνοποίηση-dextrinization, ζελατινοποίηση-gelatinization)

Μέσω της εξώθησης παράγεται μεγάλος αριθμός προϊόντων μεταξύ των οποίων:

- Προϊόντα δημητριακών
- Snacks αμέσου διογκώσεως (π.χ. γαριδάκια)

- Snacks τρίτης γενεάς (με προσθήκη πολλών τύπων πρωτεϊνών και πρωτεϊνικών παρασκευασμάτων π.χ. κρεάτων (γαρίδες, ψάρια, κοτόπουλο, βοδινό, κ.α), γαλακτοκομικών προϊόντων (τυρί, γιαούρτι, στερεά γάλακτος), πρωτεϊνών οσπρίων (σόγια, αρακάς, φασόλια))`
- Γλυκά Snacks (όπως rice crispies, fruit flavoring rings, chocolate flavored cereal flakes. Μίγμα πολλών υλικών (σκόνη γάλακτος, ζάχαρη, βύνη και κακάο)
- Προϊόντα ζαχαροπλαστικής
- Προϊόντα πάστας και μακαρονοποιίας
- Υφοποιημένες πρωτεΐνες
- Τροφές για κατοικίδια ζώα, ιχθυοτροφές

Ως μέθοδος η εξώθηση παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα. Μέσω αυτής μπορούν να παραχθούν σταθερά προϊόντα. Λόγω της χαμηλής ενεργότητας υγρασίας ($0,1 < a_w < 0,4$) παράγονται προϊόντα με εκτεταμένο χρόνο ζωής και σταθερότητα έναντι παθογόνων μικροοργανισμών αλλά και μη-ενζυμικής καστανώσης και οξείδωσης των λιπών. Όπως ήδη έχει αναφερθεί παράγεται ποικιλία προϊόντων μόνο με αλλαγή των συστατικών και κάποιων λειτουργικών παραμέτρων της συσκευής (πίεσης, θερμοκρασίας, ταχύτητας περιστροφής, παροχής, στοιχείων κοιλία του εκβολέα). Η εξώθηση, εκτός των άλλων, οδηγεί σε μικρή μόνο υποβάθμιση των θρεπτικών συστατικών, δηλαδή των βιταμινών, των απαραίτητων αμινοξέων και άλλων λειτουργικών χαρακτηριστικών ενός τροφίμου. Παράλληλα μέσω της εξώθησης ένα τρόφιμο μπορεί να εμπλουτιστεί με διάφορα θρεπτικά συστατικά, χωρίς όμως να επηρεαστεί το τελικό προϊόν. Τέλος, προσφέρει τη δυνατότητα παραγωγής νέων προϊόντων, όπως για παράδειγμα ο εγκλεισμός (encapsulation) βιοδραστικών ουσιών σε δομές βιοπολυμερών. Μπορεί, επίσης, να γίνει προσθήκη νέων γεύσεων και χρώματος. Πέρα από τα οφέλη στην ποιότητα των τροφίμων, η τεχνολογία εξώθησης συμβάλλει τα μέγιστα και στα κέρδη για τις επιχειρήσεις που τη χρησιμοποιούν. Το κόστος είναι σχετικά μειωμένο, π.χ. για την εξώθηση δημητριακών: οικονομία 19% στις πρώτες ύλες, 60% στην ενέργεια, 14% στα εργατικά και 44% στο κόστος επένδυσης. Πέραν αυτού, όμως, πρέπει να αναφέρουμε πως με την τεχνολογία αυτή μπορούν να παραχθούν μεγάλες ποσότητες τροφίμων., χωρίς να παράγονται απόβλητα, είτε υγρά είτε στερεά.

Η τεχνολογία της εξωθήσεως εμφανίζει όμως και κάποιους περιορισμούς. Για αυτό, το εργατικό προσωπικό που θα πρέπει να είναι πολύ καλά εκπαιδευμένο. Επίσης, λόγω της καινοτομικότητας των προϊόντων, η τεχνολογία αυτή θα πρέπει να υποστηρίζεται

πολύ καλά από Τμήμα Έρευνας και Ανάπτυξης (R&D) για την ανάπτυξη νέων προϊόντων. Μπορεί να οδηγήσει στο ξεθώριασμα του χρώματος λόγω διογκώσεως.

3.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Πέραν των φυσικών εμποδίων που χρησιμοποιούνται για την ασφάλεια των τροφίμων και που αναλύθηκαν παραπάνω, χρησιμοποιούνται και χημικές ενώσεις, οι οποίες λειτουργούν κατασταλτικά για την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών στα τρόφιμα που υφίστανται κατεργασία με αυτές. Οι χημικές αυτές ενώσεις, ανάλογα με τη σύστασή τους, διακρίνονται σε δύο μεγάλες ομάδες: τις οργανικές και τις ανόργανες. Και οι δύο ομάδες περιλαμβάνουν εξίσου σημαντικές για τη διατήρηση της ασφάλειας ενώσεις. Εκτός από τη δράση των χημικών εμποδίων, θα δοθούν και παραδείγματα συνδυασμού δράσης, είτε μεταξύ χημικών παραγόντων είτε μεταξύ φυσικών και χημικών.

3.2.1 ΟΡΓΑΝΙΚΑ ΟΞΕΑ

Αρχικά θα αναλυθεί η δράση των οργανικών οξέων. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει πλειάδα ενώσεων. Για τους σκοπούς όμως αυτής της εργασίας θα αναφερθούμε στις σημαντικότερες και καλύτερα μελετημένες για τη δράση τους ενώσεις. Μεταξύ αυτών ανήκουν το γαλακτικό οξύ, το οξικό, το προπιονικό, το φουμαρικό και το βενζοϊκό οξύ, αλλά κι η ομάδα των μονοακυλογλυκερολών.

3.2.1.1 Γαλακτικό οξύ

Το γαλακτικό οξύ είναι ένα οργανικό οξύ που χρησιμοποιείται ευρέως ως φυσικό συντηρητικό τροφίμων αλλά κι ως απολυμαντικό κρέατος (Yuan 2014). Σε κομμάτια χοιρινού κρέατος, τα οποία κατεργάστηκαν με γαλακτικό οξύ μειώνουν τον αριθμό των

κολοβακτηριδίων (Tan *et al.* 2015). Σε περιπτώσεις επεξεργασίας των προϊόντων με συνδυασμό ατμού και γαλακτικού οξέος επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής του χοιρινού κρέατος, ενώ παράλληλα μειώνεται ο αριθμός των μικροβιακών αποικιών. Αυτή η συγκεκριμένη θεραπεία συνδυασμού μειώθηκε απότομα. Η διάρκεια ζωής και η ασφάλεια των τροφίμων μπορούν να βελτιωθούν με την κατεργασία με χαλκό και γαλακτικό οξύ. Και το ασκορβικό όμως οξύ σε συνδυασμό με το γαλακτικό φαίνεται να έχει αντιμικροβιακή δράση ενάντια στο βακτήριο *E. coli* O157:H7 (GyawaliR.*et al.* 2011).

3.2.1.2 Οξικό οξύ

Ένα άλλο οργανικό οξύ που χρησιμοποιείται ως συντηρητικό τροφίμων είναι το οξικό οξύ. Η χρήση οξικού οξέος έναντι της *Salmonella* και *E. coli* έχει διερευνηθεί εκτενώς. Έχει χρησιμοποιηθεί, επίσης, κι ως αντιμικροβιακός παράγοντας στο κρέας πουλερικών για παράταση της διάρκειας ζωής κι αναστολή ανάπτυξης παθογόνων (JimenezS. *et al.* 2007). Σε πειράματα ενάντια του *L. monocytogenes* που ανιχνεύθηκε σε αρνίσιο και βόειο κρέας χρησιμοποιήθηκε οξικό οξύ και τα αποτελέσματα ήταν ικανοποιητικά (CunninghamE.*et al.* 2009). Και στα πουλερικά όμως τα ίδια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν δύο συγκεντρώσεις οξικού οξέος (1 και 2%), με τις οποίες έγινε κατεργασία τμημάτων κοτόπουλου. Όπως φάνηκε, ο *L. monocytogenes* αναστέλλεται σημαντικά ($P < 0,05$) παρουσία οξικού οξέος. Βέβαια η συγκέντρωση φαίνεται να επηρεάζει τη δράση της συγκεκριμένης ένωσης – σε συγκέντρωση 2% τα αποτελέσματα ήταν σημαντικότερα, καθώς μειώθηκαν αισθητά οι πληθυσμοί του μικροοργανισμού (Gonzalez-Fandos and Herrera 2014). Ο συνδυασμός οξικού οξέος με άλλες μεθόδους έχει, επίσης, μελετηθεί. Συνδυασμός ήπιας θερμότητας με οξικό οξύ έναντι *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes* και *S. Typhimurium* σε σπαράγγια μειώνει συνεργιστικά το μικροβιακό πληθυσμό.

3.2.1.3 Προπιονικό οξύ

Το προπιονικό οξύ είναι ένα ασθενές οργανικό οξύ που χρησιμοποιείται και αυτό για τη διατήρηση της τροφής. Σε pH=4.5 το προπιονικό οξύ (pK_a 4,87) είναι ένα ισχυρό βακτηριοκτόνο και μυκητοκτόνο, ενώ σε pH=5 αναστέλλει την ανάπτυξη των σπορίων βακτηρίων (Mani-Lopez *et al.* 2012). Διαφορετικές συγκεντρώσεις προπιονικού οξέος έχουν ποικίλες επιπτώσεις στην αλλοίωση των τροφίμων. Έχει αναφερθεί πως συγκεντρώσεις του προπιονικού οξέος της τάξης του 0,20% ή λιγότερο μειώνουν κατά 50% τους ρυθμούς ανάπτυξης των *Aspergillus spp.*, *Geotrichum spp.*, *Mucor spp.*,

Fusarium spp., *Penicillium* spp. και *Scopulariopsis* spp. (HigginsandBrinkhaus, 1999). Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις (0,15%) μειώνεται ο ρυθμός ανάπτυξης του *Penicillium* σε ένα ποσοστό μεγαλύτερο του 70%. Άλλες μελέτες σε μάνγκο έδειξαν πως το προπιονικό οξύ σε συγκέντρωση 0.12% αναστέλλει την αύξηση των σπορίων του *Coldosporium gloeosporioides*.

Η απολύμανση με καπνό και προπιονικό οξύ μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αναστολή αύξησης των *Rhizopus stolonifer*, *P. expansum* και *Monilinia fructicola* σε διάφορα φρούτα, όπως τα ροδάκινα, τα μήλα και τα κεράσια (LiuT.et al. 2014). Ένας ακόμη συνδυασμός μεθόδων (προπιονικό με μυρμηκικό οξύ) έδειξε πως η διάρκεια ζωής του τροφίμου. Παρόμοια αποτελέσματα είχε κι ο συνδυασμός προπιονικού με ασκορβικό οξύ (OgdenS.K.et al. 1996).

3.2.1.4 Φουμαρικό οξύ

Το φουμαρικό οξύ αποτελεί έναν ακόμη παράγοντα με ισχυρή αντιμικροβιακή δράση ενάντια σε παθογόνα αλλοίωσης συμπεριλαμβανομένων των *C. jejuni*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *L. monocytogenes* και *S. aureus* (KimK.Yetal.2001, MolatovaZ.etal. 2010). Σε πειράματα που έγιναν σε βόειο κρέας το οποίο υπέστη κατεργασία με διάφορες τεχνολογίες φάνηκε πως το φουμαρικό οξύ ήταν αποτελεσματικότερο έναντι του γαλακτικού ή του οξικού κι οδήγησε σε αναστολή του πολλαπλασιασμού των *L. monocytogenes* και *E. coli* O157: H7 (HeC.L.et al. 2013). Επίδραση φουμαρικού οξέος κι άλλων ασθενών οργανικών οξέων στη μικροχλωρίδα του γαστρικού συστήματος (κολοβακτηρίδια και γαλακτικά βακτήρια) σε διαφορετικό pH προκάλεσε μείωση των πληθυσμών τους (MrozZ. 2005). Όπως και στα άλλα οργανικά οξέα που αναλύθηκαν παραπάνω, ο συνδυασμός της δράσης του φουμαρικού οξέος με άλλες μεθόδους καταστροφής των βακτηρίων (χλώριο, διοξείδιο ή ακτινοβολία UV) μείωσε τον συνολικό πληθυσμό των *E. coli* O157: H7, *S. typhimurium* και *L. monocytogenes* (KimY.etal. 2009).

3.2.1.5 Βενζοϊκό οξύ

Το βενζοϊκό οξύ και το άλας του (βενζοϊκό νάτριο) έχουν χρησιμοποιηθεί ως συντηρητικό τροφίμων λόγω της αντιμικροβιακής δραστηριότητας και της ασφάλειας που προσφέρει η χρήση του στα τρόφιμα που υπόκεινται σε αυτού του είδους την επεξεργασία (Al-Juhni A. A. and Newby B. M. Z. 2006). Πρόσφατα ανακαλύφθηκε η δράση των δύο ενώσεων έναντι των μικροοργανισμών *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* και *Micrococcus* sp. . Τόσο το βενζοϊκό οξύ όσο και το παράγωγό του (βενζοϊκό νάτριο) χρησιμοποιούνται ευρέως σε τρόφιμα που είναι όξινα, όπως φρούτα, μαρμελάδες, πίτες, ποτά, σαλάτες και λάχανο. Είναι σημαντική η δράση του, καθώς ενισχύει την αντιβακτηριακή δράση εμποδίζοντας την αύξηση των κολοβακτηριδίων στο έντερο των χοίρων. Αυτή η αντιμικροβιακή δράση μπορεί να μειώσει τη συχνότητα εμφάνισης διάρροιας στα ζώα μετά τον απογαλακτισμό. Ωστόσο, μίγμα οργανικών οξέων δείχνει να έχει καλύτερη απόδοση από τα οξέα μεμονωμένων, λόγω της ιδιότητας διάσπασης αυτών των οξέων σε διάφορες τοποθεσίες στις πεπτικές οδούς χοίρων (Franco L. *etal.* 2005).

3.2.1.6 Μονοακυλογλυκερόλες

Οι μονοακυλογλυκερόλες (MAG) (επίσης γνωστές ως μονογλυκερίδια) είναι μονοεστέρες λιπαρών οξέων γλυκερίνης. Χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιομηχανία τροφίμων ως γαλακτωματοποιητές και αντιμικροβιακά. Συνήθως εντοπίζονται στο γάλα. Έχουν χρησιμοποιηθεί, επίσης, και στην παραγωγή παγωτών, μαργαρίνης, γιαουρτιών και κατεψυγμένων επιδόρπιων ακόμη και στην αρτοποιία (Dolezal Koval. *etal.* 2013). Ο Thorngate και η ομάδα του (2006) μελέτησαν τη δράση της μονοκαπρίνης στους μικροοργανισμούς *C. jejuni*, *Salmonella* spp. και *E. coli*. Και φάνηκε ότι τα γαλακτώματα μονοκαπρίνης (200 mM) μείωσαν το μικροβιακό πληθυσμό των *Campylobacter* στον άνθρωπο και τα πουλερικά.

Οι Wang, Yang, Parkin και Johnson (1993) έδειξαν ότι οι MAG που συντίθενται από έλαια καρύδας παρουσιάζουν αντιβακτηριακή δράση κατά του *L. monocytogenes*. Οι μονοακυλογλυκερόλες έχουν μελετηθεί και στο γάλα όπου φάνηκε πως διαφορετικές συγκεντρώσεις των ενώσεων αυτών σε διαφορετικούς τύπους γάλακτος οδηγούν σε αναστολή πολλαπλασιασμού του *L. monocytogenes*.

Μια σημαντική παρατήρηση που έγινε είναι πως συνδυασμοί των MAG, ειδικότερα μονοκαπρίνης και μονολαουρίνης, παρουσιάζουν συνεργιστική δραστικότητα εναντίον του *L. monocytogenes*, όπως συνέβη και στην περίπτωση της συνεργιστικής δράσης μονολαουρίνης /λαυρικού οξέος, αλκαλικού διαλύματος (pH=10.5) και ώσμωσης (10% NaCl) (VasseurC.etal. 2001). Μια άλλη μελέτη που διενεργήθηκε από τους Tangwatcharin και Khoraibool (2012) έδειξε πως χρήση μονολαουρίνης, λαυρικού και γαλακτικού οξέος έχει συνεργιστική δράση κατά του *S. aureus* σε χοιρινό φιλέτο. Με άλλα λόγια οδηγεί στη θανάτωση των βακτηριακών αποικιών, χωρίς όμως να επηρεάζει το προϊόν, όπως αλλοιώσεις στο χρώμα ή την οσμή, όπως συνέβη κατά την επεξεργασία του κρέατος με την κάθε τεχνολογία ανεξάρτητα.

3.2.2 ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΟΞΕΑ

Άλλη μία ομάδα ενώσεων, που χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων ως συντηρητικά, είναι τα ανόργανα οξέα κι άλατα, όπου περιλαμβάνονται τα θειώδη, τα νιτρικά και τα φωσφορικά άλατα.

3.2.2.1 Θειώδη άλατα

Τα θειώδη άλατα χρησιμοποιούνται αρκετά χρόνια ως πρόσθετα τροφίμων, επειδή αποτρέπουν την οξείδωση τροφίμων και την ανάπτυξη βακτηριδίων καθώς και ενζυματικές και μη ενζυματικές αντιδράσεις. Ουσιαστικά είναι ανόργανα θειώδη άλατα που απελευθερώνουν SO μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται διθειφιδικά άλατα νατρίου και καλίου, διθειφίδια νατρίου και καλίου και θειώδες νάτριο και κάλιο. Η εισαγωγή θειωδών στα τρόφιμα παράγει τα επιθυμητά αποτελέσματα, όπως η αναστολή του ενζυμικού «μαυρίσματος» σε φρέσκα φρούτα, λαχανικά, γαρίδες και ακατέργαστες πατάτες, και μη ενζυμικό «μαύρισμα» στα αποξηραμένα φρούτα και τα αφυδατωμένα λαχανικά (MetcalfD.D.etal. 2011). Η απολύμανση με διοξείδιο του θείου εξακολουθεί να χρησιμοποιείται ενάντια στους μύκητες που προκαλούν ζημιές στο λίτσι, το σταφύλι και το ακτινίδιο (SivakumarD. etal.2008). Η αναστολή του *L. monocytogenes* με θειώδη άλατα χρησιμοποιείται ευρέως.

Σε πειράματα που έγιναν στην επιφάνεια νωπών αποφλοιωμένων πατατών μελετήθηκαν οι επιπτώσεις των θειωδών σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Μετά από 12 μέρες κατεργασίας παρατηρήθηκε αναστολή ανάπτυξης των μικροοργανισμών (Juneja

V.K. *etal.* 1998). Ο Brandt κι οι συνεργάτες του (2011) εξέτασαν τις επιδράσεις του συνδυασμού του όξινου θειικού ασβεστίου και του οκτανοϊκού οξέος. Αυτό που φάνηκε ήταν σημαντική αναστολή του παθογόνου *L. monocytogenes*. Κατεργασία έως 24 ημέρες με συνδυασμό χαμηλών επιπέδων θειώδους (170 ppm) και χιτοζάνης (0,6%) μείωσε σημαντικά το συνολικό αριθμό των *L. monocytogenes* σε σύγκριση με την κατεργασία με υψηλές συγκεντρώσεις θειώδους (340 ppm) (Blackburn R.S. *etal.* 2006).

3.2.2.2 Νιτρικά άλατα

Τα ανόργανα νιτρικά χρησιμοποιούνται εδώ και πάρα πολλά χρόνια ως συντηρητικά τροφίμων. Για να είναι αποτελεσματικά πρέπει να μετατραπούν σε νιτρώδη (NO_2^-), είτε ενζυμικώς είτε χημικώς. Χρησιμοποιούνται ως επί το πλείστον για την ωρίμανση και τη συντήρηση του κρέατος, αφού περιορίζει την ανάπτυξη διαφόρων μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένου του *Clostridium botulinum* (Kurcubic *etal.* 2014). Είναι σαφές ότι η προσθήκη της μέγιστης επιτρεπόμενης συγκέντρωσης νιτρικών αλάτων (150 mg/kg) με χρήση νιτρώδους νατρίου και λυσοζύμης αποτρέπει την ανάπτυξη του *Clostridium* κατά τη διάρκεια παραγωγής τυριού. Καθώς το τυρί ωριμάζει, η μετατροπή του νιτρικού σε νιτρώδες λαμβάνει χώρα μέσω του ενζύμου ξανθικής οξειδάσης, η οποία υπάρχει στο τυρί (Stadhouders 1990). Οι Hernandez και Garde (2014) μελέτησαν τις επιδράσεις του νιτρώδους νατρίου στους μικροοργανισμούς *C. tyrobutyricum*, *C. butyricum*, *C. beijerinckii* και *C. sporogenes* και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υψηλές τιμές MIC (300 mg/ml) απαιτούνται για την αναστολή της ανάπτυξης αυτών των στελεχών. Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει σημαντικές μειώσεις των πληθυσμών του *C. botulinum* μέσω της συνδυασμένης χρήσης νιτρωδών με χλωριούχο νάτριο, αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ, σορβικό οξύ, ασκορβικό κι ισοασκορβικό σε κονσέρβες κρεάτων (Duranton *etal.* 2012).

Πρόσφατα, ο συνδυασμός των νιτρωδών με κατεχίνες τσαγιού χρησιμοποιήθηκε σε λουκάνικα και μελετήθηκαν οι επιδράσεις του, όπου φάνηκε ότι ο συνδυασμός τεχνικών οδηγεί σε βελτιστοποίηση του αποτελέσματος συγκριτικά με το αποτέλεσμα που δίνουν οι τεχνικές αυτές ξεχωριστά (Moawad, Abozeid and Nadir 2012). Ένας ακόμη συνδυασμών τεχνολογιών που έχει χρησιμοποιηθεί για τις βακτηριοκτόνες επιπτώσεις του είναι αυτός του νιτρώδους νατρίου με υψηλή υδροστατική πίεση (HHP)

έναντι των *E. coli* BW25113 και *L. monocytogenes* NCTC 11994 (Moawadeetal. 2012). Οι Jofre, Aymerich, Bover-Cid και Garriga (2010) εξέτασαν τα βακτηριοκτόνα αποτελέσματα των νιτρωδών και της HPP έναντι του *S. aureus*. Αυτό που σίγουρα θα ήταν χρήσιμο είναι η περαιτέρω μελέτη του εν λόγω συνδυασμού τεχνολογιών.

3.2.2.3 Φωσφορικά άλατα

Το φωσφορικό οξύ έχει χρησιμοποιηθεί στη βιομηχανία τροφίμων ως μέσο οξυνισμού, ως ρυθμιστικός παράγοντας, ως παράγοντας ελέγχου pH, παράγοντας γεύσης, ως ενισχυτικό, ως σταθεροποιητής. Η δράση του είναι να μειώνει το pH των διαφόρων προϊόντων που επιτρέπουν την αντιμικροβιακή δράση (Burdock G.A. 1997). Τα φωσφορικά έχουν χρησιμοποιηθεί ως αντιμικροβιακά για τη μείωση πληθυσμών παθογόνων τροφίμων, καθώς αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των μικροοργανισμών αλλοίωσης και παρατείνουν τη διάρκεια ζωής φρέσκων πουλερικών (Sallam K.I. and SamejimaK. 2004, SarjitA.and Dykes G.A. 2016). Ειδικά, κατεργασία με φωσφορικό τρινάτριο (TSP) απέδειξε τις αντιμικροβιακές του ιδιότητες σε σύγκριση με άλλα φωσφορικά άλατα (YoonK.andOscarT.2002). Διάλυμα TSP με υψηλό pH (pH=12) βοηθά στην απομάκρυνση λιπών έχοντας επιφανειοδραστικές ή απορρυπαντικές επιδράσεις. Διαλύματα TSP σε ένα pH από 10 έως 11 μειώνουν τη βιωσιμότητα των κυττάρων και διακόπτουν την ακεραιότητα της μεμβράνης σε στελέχη *S. enteritidis*. Έχει δειχθεί, όμως, ότι το φωσφορικό τρινάτριο έχει κατασταλτική επίδραση και σε άλλους μικροοργανισμούς, όπως *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* O157: H7, *Listeria*, *S.aureus*, *Pseudomonas* και του *Lactobacillus*.

Μίγμα πυροφωσφορικού οξέος νατρίου και ορθοφωσφορικού οξέος μείωσε σημαντικά τον αριθμό των αερόβιων πλακών κι αύξησε τη διάρκεια ζωής σε κοτόπουλα (RathgeberB.M.andWaldroupA.L. 1995). Άρα διαφαίνεται η αποτελεσματική δράση συνδυασμού φωσφορικών αλάτων.

4. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η ζύμωση μπορεί να περιγραφεί ως μια διαδικασία στην οποία οι μικροοργανισμοί αλλάζουν τις αισθητικές (γεύση, οσμή κ.λπ.) και λειτουργικές ιδιότητες ενός τροφίμου για την παραγωγή ενός τελικού προϊόντος που είναι επιθυμητό για τον καταναλωτή. Καθώς έχουν αναπτυχθεί νέες τεχνικές διατήρησης, η σημασία της ζύμωσης για τα τρόφιμα έχει φθίνει. Ωστόσο, παραμένει αποτελεσματική στην παράταση της διάρκειας ζωής των τροφίμων και πραγματοποιείται με σχετικά φθινό, βασικό εξοπλισμό. Ως εκ τούτου, παραμένει μια πολύ κατάλληλη μέθοδος σε αναπτυσσόμενες χώρες και αγροτικές κοινότητες με περιορισμένες εγκαταστάσεις. Για να μειωθεί ή να αποτραπεί η μικροβιακή αλλοίωση των τροφίμων, μπορούν να εφαρμοστούν τέσσερις βασικές αρχές:

1. Ελαχιστοποίηση της μικροβιακής μόλυνσης στο τρόφιμο, ιδιαίτερα από το "υψηλού κινδύνου"
2. Αναστολή της ανάπτυξης της μολυσματικής μικροχλωρίδας
3. Θανάτωση μολυσματικών μικροοργανισμών
4. Αφαίρεση μολυσματικών μικροοργανισμών

Η ζύμωση βασίζεται σε συνδυασμό των τριών πρώτων αρχών. Οι μικροοργανισμοί μπορούν να βελτιώσουν την ανταγωνιστικότητά τους τροποποιώντας το περιβάλλον ώστε να έχουν ανασταλτική ή θανατηφόρο δράση. Η ζύμωση βελτιώνει την ασφάλεια των τροφίμων μειώνοντας τους κινδύνους των παθογόνων και των παραγώγων (τοξίνες) κι επομένως εμποδίζοντας την ανάπτυξη αλλοίωσης.

4.1 ΦΥΣΙΚΑ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΑ

Οι αντιμικροβιακοί παράγοντες τροφίμων μπορούν να καταταγούν σε δύο κατηγορίες στους παραδοσιακούς ή στους φυσικά δημιουργούμενους. Νισίνη, ναταμυκίνη, λακτοφερρίνη και λυσοζύμη είναι μεταξύ των φυσικών ουσιών που έχουν εγκριθεί από κατάλληλους φορείς σε ορισμένες χώρες.

Η βιοδιατήρηση τροφίμων στηρίζεται στη φυσική ή ελεγχόμενη μικροχλωρίδα και/ή τα αντιβακτηριακά μεταβολικά προϊόντα τους, τα οποία παρεμβαίνουν με ανεπιθύμητους μικροοργανισμούς. Γαλακτικά βακτήρια (LAB), για παράδειγμα, προκύπτουν είτε ως προϊόντα ζύμωσης ή προστίθενται ως αρχικές καλλιέργειες, όπου η ανάπτυξή τους κυριαρχεί σε σχέση με εκείνη άλλων μικροβίων κατά τη ζύμωση. Η ανάπτυξη των βακτηρίων αυτών παρεμβαίνει στην αναστολή ανάπτυξης των παθογόνων βακτηρίων μέσω της εξάντλησης θρεπτικών ουσιών και οξυγόνου και της παραγωγής ανασταλτικών μεταβολικών ουσιών όπως γαλακτικό, οξικό, ακετοΐνη,

διακετύλιο, υπεροξειδίο του υδρογόνου, ροϊτερίνη (reuterin) και βακτηριοσίνες (Koutsoumanis and Sofos 2004a, Koutsoumanis *et al.* 2006).

Επιπλέον, πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα έχουν ληφθεί με απομόνωση αιθέριων ελαίων από βότανα και αρωματικά φυτά. Αυτά τα αιθέρια έλαια αποτελούνται από μίγματα εστέρων, αλδευδών, κετονών και τερπενίων με ευρέος φάσματος αντιμικροβιακή δράση. Όσον αφορά τη φυσική αντιμικροβιακή δράση που προέρχεται από μικροοργανισμούς (που αναφέρονται ως βιοσυντηρητικά), η πιο ελπιδοφόρα είναι η χρήση των γαλακτικών βακτηρίων. Τα LAB είναι οργανισμοί αναγνωρισμένοι ως ασφαλείς. Η χρήση αυτών των οργανισμών ή των αντιμικροβιακών ενώσεων που αυτοί παράγουν επιτυχώς εφαρμόζεται σε πολλά διαφορετικά είδη τροφίμων. Πιο συγκεκριμένα, βακτηριοσίνες που παράγονται από τα βακτήρια αυτά έχουν μελετηθεί παγκοσμίως για τη χρήση τους στη διατήρηση τροφίμων. Οι βακτηριοσίνες είναι πρωτεΐνες με μάλλον στενό αντιμικροβιακό φάσμα σε σύγκριση με τα παραδοσιακά συντηρητικά. Αυτό το μειονέκτημα όμως αντισταθμίζεται από το γεγονός ότι δεν είναι ανθεκτικές στο περιβάλλον και καταστρέφονται στο ανθρώπινο στομάχι.

Στη συνέχεια θα παρουσιαστούν πληροφορίες σχετικές με την εμφάνιση και τις αντιμικροβιακές ιδιότητες των φυσικών αντιμικροβιακών φυτικής και μικροβιολογικής προέλευσης, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην υπηρεσία της τεχνολογίας τροφίμων.

4.1.1 Φυσικά αντιμικροβιακά φυτικής προέλευσης

Ήδη από την αρχαιότητα είχε διαπιστωθεί η αντιμικροβιακή δράση ορισμένων φυτών, οπότε εφαρμοζόταν κι η χρήση τους για ιατρικούς σκοπούς. Σε πολλές περιπτώσεις, τα αντιμικροβιακά φυτά (πράσινα χημικά) λειτουργούν στα ανθεκτικά ή αμυντικά συστήματα έναντι των μικροβιακών ασθενειών ή παρασίτων. Συχνά, έχουν ιδιαίτερη γεύση ή οσμή, η οποία έχει οδηγήσει στη χρήση τους στη βιομηχανία αρωμάτων και αρωμάτων. Βότανα και μπαχαρικά έχουν χρησιμοποιηθεί από την αρχαιότητα όχι μόνο για να προσδώσουν γεύση στη μαγειρική, αλλά και ως συντηρητικά ή αντιοξειδωτικά (Beuchat L.R. 1994, Cutler H.G. 1995, Nakatani N. 1994).

Σήμερα είναι γνωστές πολλές από τις ιδιότητες των ενεργών συστατικών των φυτών. Συνήθως οι ενώσεις ταυτοποιούνται ως δευτερογενείς μεταβολίτες, κυρίως από τερπενοειδή ή από φαινολική βιοσυνθετική προέλευση. Οι υπόλοιπες ενώσεις μπορεί να είναι υδρολυτικά ένζυμα (γλυκανάσες και χιτινάσες) και πρωτεΐνες που δρουν στις μεμβράνες των εισβάλλοντων μικροοργανισμών με αντιμικροβιακή δράση. (Bowles D.J

1990, Vigers A.J. *et al.* 1991). Πλέον οι φυτικές ενώσεις που εμπλέκονται στην ανθεκτικότητα σε ασθένειες, ταξινομούνται σε παράγοντες που ενεργοποιούνται πριν και μετά τη μόλυνση. Οι παράγοντες που ενεργοποιούνται πριν τη μόλυνση είναι ενεργά αντιβιοτικά, που ονομάζονται επίσης απαγορευτικά. Συντίθενται και αποθηκεύονται σε εξειδικευμένους ιστούς όπου επιβραδύνουν ή αναστέλλουν τη μικροβιακή ανάπτυξη αμέσως μετά τη μόλυνση. Παραδείγματα τέτοιων ενώσεων είναι τα συστατικά των αιθέριων ελαίων με αντιμικροβιακή δράση. Οι παράγοντες προ-μόλυνσης που απαιτούν αύξηση συγκέντρωσης μετά την μόλυνση για επαρκή δράση ονομάζονται αναστολείς. Οι παράγοντες που ενεργοποιούνται μετά τη μόλυνση ανήκουν σε δύο βασικές κατηγορίες, τις μεταϊνχιβιτινικές και τις φυτοαλεξίνες. Οι ενώσεις που ανήκουν στην πρώτη κατηγορία είναι τοξικοί μεταβολίτες που σχηματίζονται μετά από μόλυνση με υδρόλυση ή οξείδωση των προσχηματισμένων ενώσεων. Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει αντιμικροβιακές ενώσεις που συντίθενται κατά την εισβολή στο φυτό ξενιστή (Walker J.R.L. 1994).

Στην παρούσα εργασία θα αναφερθούν ορισμένα βασικά χαρακτηριστικά φυσικών αντιμικροβιακών ενώσεων σε φυτά που ανήκουν σε μία από τις τέσσερις κατηγορίες: φυτοαλεξίνες, φαινόλες, οργανικά οξέα ή συστατικά αιθέριων ελαίων. Το δυναμικό των φυτών ως πηγής αντιμικροβιακών ενώσεων είναι τεράστιο - πάνω από 1389 φυτά μπορούν να δράσουν ως πιθανές πράσινες χημικές πηγές. Προφανώς, δεν είναι όλες οι δυνητικές φυτικές πηγές κατάλληλες να χρησιμοποιηθούν. Για να χρησιμοποιηθεί πρέπει να γίνει διεξοδική αξιολόγηση της αξίας της σε σχέση με την πραγματική παραγωγή της πράσινης χημικής ουσίας (είτε πρόκειται για ολόκληρη καλλιέργεια, είτε για ένα εκχύλισμα είτε για μια καθαρή ένωση), την αγοραία αξία αυτού του αντιμικροβιακού παρασκευάσματος αλλά και το κόστος επεξεργασίας της.

4.1.1.1 Φυτοαλεξίνες

Οι φυτοαλεξίνες είναι αντιμικροβιακές ενώσεις ή εντομοκτόνα μικρού μοριακού βάρους που παράγονται και συσσωρεύονται ταχύτατα στα φυτά στις περιοχές εκείνες που έχουν μολυνθεί από παθογόνους μικροοργανισμούς. Η παραγωγή των τοξινών αυτών αποτελεί τον κυριότερο αμυντικό μηχανισμό των φυτών. Μέχρι τώρα, έχουν εντοπιστεί περισσότερες από 200 διαφορετικές φυτοαλεξίνες σε περισσότερες από 20 οικογένειες φυτών. Οι φυτοαλεξίνες είναι αντιβιοτικά ευρέος φάσματος, γενικά δραστικά έναντι φυτοπαθογόνων μυκήτων. Η ανθεκτικότητα σε ασθένειες που

οφείλεται στις φυτοαλεξίνες είναι μια δυναμική διαδικασία που απαιτεί de novo σύνθεση δευτερογενών μεταβολιτών. Επίσης, τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση των φυτοαλεξινών συντίθενται ως απόκριση σε μικρόβια ή άλλα ερεθίσματα (Darvill A.G. and Albersheim P. 1984). Οι ενώσεις που πυροδοτούν τη σύνθεση των φυτοαλεξινών, ποικίλουν - από βακτηριακές πρωτεΐνες (Baker C.J. *etal.* 1993) σε μυκητιακά λιπαρά οξέα (Ricker K.E. and Bostock R.M. 1992). Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα των φυτοαλεξινών συνήθως είναι εναντίων μυκήτων (Van Etten H.D. 1976), αν και έχει αναφερθεί επίσης ανασταλτική δράση κι ενάντια σε βακτήρια (Lund B.M. and Lyon G.D. 1975). Μάλιστα τα θετικά κατά Gram βακτήρια είναι πιο ευαίσθητα από τα Gram-αρνητικά βακτήρια στη δράση των φυτοαλεξινών.

Τα ισοφλαβονοειδή συγκαταλέγονται στις σημαντικότερες χημικές κατηγορίες φυτοαλεξινών (Williams C.A. and Harborne J.B. 1989). Ο βασικός τους σκελετός είναι της μορφής C₆ - C₃ - C₆. Παράγονται από ψυχανθή, τα οποία γενικά παράγουν φυτοαλεξίνες, για παράδειγμα πασατίνη από το μπιζέλι (*Pisum sativum*), φασεολίνη από το *Phaseolus vulgaris*. Δομικά συγγενείς, με την ομάδα των ισοφλαβονοειδών, ενώσεις ευθύνονται για την αύξηση της λιποφιλίας και την αυξημένη αντιμικροβιακή δραστηριότητα (Arnoldi A. and Merlini L. 1990).

Μια άλλη σημαντική ομάδα των φυτοαλεξινών, που στη βιβλιογραφία αναφέρεται κι ως πρωτεΐνες που σχετίζονται με παθογένεση ή ασθένειες, περιλαμβάνει χιτινάσες, θειονίνες, zeamatin (αντιμυκητιακές πρωτεΐνες που παράγονται από το *Zeamays*), και θαυματίνες (Bohlmann H. and Apel K. 1991, Bowles D.J. 1990, Stintzi A. *etal.* 1993). Μερικές από αυτές τις πρωτεΐνες εμπλέκονται στην σύνθεση των φυτοαλεξινών ή άλλων φαινολικών ενώσεων. Λόγω της πρωτεϊνικής τους σύστασης πρέπει να υποβάλλονται σε πλήρη πέψη στο στομάχο ώστε να μην υπάρχει καμία επίπτωση στην ποιότητα των προϊόντων. Οι χιτινάσες είναι ένζυμα που διασπούν χιτίνη, το κύριο συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των περισσότερων μυκήτων και φυτοπαθογόνων μικροοργανισμών, αλλά και το σκελετό των περισσότερων ασπονδύλων (π.χ.: έντομα, ακάρεα). Η χιτινάση εντοπίζεται σε χαμηλά επίπεδα σε φυσιολογικές συνθήκες, ενώ η συγκέντρωσή της αυξάνεται μετά από προσβολή από κάποιο παθογόνο. Μετά την παραγωγή της εντοπίζεται είτε ενδοκυτταρικά είτε συσσωρεύεται στο διακυτταρικό χώρο, όπου, δηλαδή, απαιτείται. Οι θειονίνες είναι μια ομάδα μικρών πολυπεπτιδίων με αντιμυκητιακή και αντιβακτηριακή δράση που παράγονται στο ενδοσπέρμιο δημητριακών, π.χ.: στο κριθάρι, βρώμη κι αραβόσιτο (Bohlmann H. and Apel K. 1991). Κι η ένωση viscotoxin από γκι μοιάζει με τις θειονίνες. Μάλιστα έχει χρησιμοποιηθεί ενάντια σε ποικιλία ασθενειών.

Αν κι η χρήση των φυτοαλεξινών στη συντήρηση των τροφίμων έχει προταθεί ως μια αποτελεσματική μέθοδος, εν τούτοις υπάρχουν πολύ λίγες εφαρμογές, όπου χρησιμοποιήθηκε η συγκεκριμένη ομάδα ενώσεων για συντήρηση των τροφίμων. Πιθανόν αυτό να οφείλεται στο γεγονός ότι οι φυτοαλεξίνες προκειμένου να είναι δραστικές πρέπει να βρίσκονται σε σχετικά υψηλές συγκεντρώσεις. Στα φυτά, αυτό μπορεί να μην είναι ένα πρόβλημα δεδομένου ότι αυτές οι ενώσεις συσσωρεύονται τοπικά σε υψηλές συγκεντρώσεις. Ο μόνος τρόπος για να εξασφαλιστούν υψηλές συγκεντρώσεις είναι η εξωγενής χορήγησή τους, η οποία όμως μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση κυτταροτοξικότητας (Banks J.G. *etal.* 1986). Αυτό, όμως, εμποδίζει την χρήση των παραγόντων αυτών ως συντηρητικά τροφίμων. Η ανάπτυξη αναλόγων με υψηλότερη ειδική δραστικότητα και μειωμένη τοξικότητα θα μπορούσε να αποτελέσει τρόπο αντιμετώπισης του προβλήματος αυτού.

4.1.1.2 Οργανικά οξέα

Πολλά οργανικά οξέα, όπως το κιτρικό, το ηλεκτρικό, το μηλικό και το τρυγικό οξύ βρίσκονται συνήθως σε φρούτα (π.χ., εσπεριδοειδή, ραβέντι, σταφύλια, ανανάδες) και λαχανικά (π.χ., μπρόκολο, καρότα). Συνήθως χρησιμοποιούνται ως μέσα οξίνισης ή αντιοξειδωτικά, προσδίδοντας antimicrobιακές ιδιότητες στα τρόφιμα. Το προπιονικό και το γαλακτικό οξύ δεν απαντώνται φυσικά σε τρόφιμα εκτός από απειροελάχιστες ποσότητες, αν και σχηματίζονται μέσω ζυμώσεως. Γενικά τα οργανικά οξέα στοχεύουν κυτταρικά τοιχώματα, μεμβράνες, μεταβολικά ένζυμα, συστήματα πρωτεϊνοσύνθεσης, και γενετικό υλικό. Είναι, λοιπόν, δραστικές έναντι ενός ευρέος φάσματος μικροοργανισμών. Χρησιμοποιούνται ευρέως ως συντηρητικά τροφίμων.

4.1.1.3 Φαινολικές ενώσεις

Στις αρχές του εικοστού αιώνα, υπήρχε η πεποίθηση ότι τα φυτά περιέχουν τοξικές ενώσεις οι οποίες προς την εισβολή μυκήτων (Ward H.M. 1905). Η άφθονη παρουσία φαινολικών ενώσεων εξηγήθηκε, αρχικά, με την παραδοχή πως οι ενώσεις αυτές παίζουν πρωταρχικό ρόλο στην ενεργοποίηση του φυτικού αμυντικού συστήματος. Ωστόσο, ο ρόλος των φυτικών φαινολών κατά της εισβολής των μικροοργανισμών είναι ακόμα ασαφής. Παρ' όλα αυτά, έχει εκτιμηθεί ότι η μεγάλη ποικιλία των φαινολικών ενώσεων συμβάλλει στην άμυνα του φυτού, καθώς και στα εξωτερικά

γνωρίσματα(γεύση, οσμή, και την εμφάνιση) και τις θρεπτικές ιδιότητες τους. Χημικά οι φαινόλες χαρακτηρίζονται από την παρουσία ενός αρωματικού δακτυλίου που φέρει έναν ή, συχνότερα, αρκετούς υδροξυ-υποκαταστάτες. Οι φαινολικές ενώσεις συνήθως εμφανίζονται συζευγμένες, π.χ., με τα σάκχαρα ως β-D-γλυκοπυρανοσίδες. Ταξινομούνται σε τρεις ομάδες: απλές φαινόλες και φαινολικά οξέα (π.χ., ρ-κρεζόλη, 3-αιθυλοφαινόλη, υδροκινόνη, , βανιλικό, γαλλικό και ελλαγικό οξύ), παράγωγα υδροξυκινναμωμικού οξέος (π.χ., ρ-κουμαρικό, καφεϊκό, φερουλικό, και σιναπικό οξύ) και φλαβονοειδή (NychasG.J.E. 1995). Η τελευταία ομάδα είναι η πιο σημαντική ομάδα στα τρόφιμα, καθώς περιλαμβάνει κατεχίνες, ανθοκυανιδίνες, φλαβονόλες και τους γλυκοζίτες τους. Τέλος, οι τανίνες, η πολυμερής μορφή του φαινολών, αποτελούν μια σημαντική ομάδα φυτικών φαινολών. Προκαλούν καθίζηση πρωτεϊνών σε υδατικό διάλυμα. Φαινόλες από μπαχαρικά, όπως τζιντζερώνη και καψαϊκίνη, έχει βρεθεί ότι αναστέλλουν τη βλάστηση των σπόρων βακτηρίων.

4.1.1.4 Αιθέρια έλαια

Τα αιθέρια έλαια προέρχονται ως επί το πλείστον από μπαχαρικά και βότανα, αλλά μπορούν επίσης να απομονωθούν από καρπούς, ρίζες, και μίσχους των φυτών. Ορισμένα από αυτά χρησιμοποιούνται ως αρωματικοί παράγοντες τροφίμων. Οι ενώσεις αυτές έχουν ένα ευρύ φάσμα βιολογικών λειτουργιών – ορισμένες προσελκύουν τις μύγες για γονιμοποίηση, ενώ άλλες λειτουργούν ως απωθητικά κατά των εντόμων. Άλλα πάλι έλαια προσελκύουν φυτοφάγα ζώα προκειμένου να γίνει εφικτή η διανομή σπόρων ή εμφανίζουν μυκητοκτόνο ή βακτηριοκτόνο δράση και καταστέλλουν μόλυνση από φυτοπαθογόνους μικροοργανισμούς. Λόγω της αποδεδειγμένα χαμηλής τους τοξικότητας σε θηλαστικά, οι ενώσεις αυτές χρησιμοποιούνται ευρέως τόσο για την αντιμικροβιακή τους δράση, αλλά κι ως συντηρητικά τροφίμων. Τα αιθέρια έλαια λαμβάνονται από μπαχαρικά, βότανα, και άλλα αρωματικά φυτά ή τμήματα αυτών με τη μορφή εκχυλίσματος με χρήση οργανικών διαλυτών ή απόσταξη ατμού. Φυτικά εκχυλίσματα, άλλωστε, χρησιμοποιούνται από την αρχαιότητα στην ιατρική και την συντήρηση τροφίμων (DeansS.G. andSvobodaK.P. 1990). Συνηθέστερα, οι αντιμικροβιακές δραστικές ενώσεις εντοπίζονται στο κλάσμα αιθέριου ελαίου. Ως επί το πλείστον είναι διαλυτά σε αλκοόλη και λιγότερο σε νερό. Αποτελούνται από μίγματα εστέρων, αλδεϋδών, κετονών και τερπενίων.

Η επίδραση των αιθέριων ελαίων σε βακτήρια, ειδικά σε παθογόνα, έχει μελετηθεί εκτενώς στο εργαστήριο με σημαντικά ευρήματα. Για παράδειγμα, ο μικροοργανισμός *E. coli* βρέθηκε να είναι πιο ευάλωτος από ότι σε *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens* στα αιθέρια έλαια από φασκόμηλο, δεντρολίβανο, κύμινο, γαρύφαλλο και θυμάρι (Farag R.S. *et al.* 1989), ενώ το *S. typhimurium* ήταν περισσότερο ευαίσθητο στα έλαια του θυμαριού και ρίγανης σε σύγκριση με το *P. aeruginosa* (Paster N. *et al.* 1988). Ομάδα Ελλήνων ερευνητών έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο της *Pistacia lentiscus var. chia* (μαστίχα) αναστέλλει την ανάπτυξη των *Salmonella enteritidis* στο αποβουτυρωμένο γάλα (Tassou C. and Nychas G.J.E. 1995).

Το αιθέριο έλαιο *Echinophora sibthorpiana* κι η μεθυλοευγενόλη φαίνεται να αναστέλλουν στην ανάπτυξη μούχλας σε μαύρες επιτραπέζιες ελιές (Kivanç M. and Akguç A. 1990). Η χρήση του ελαίου μουστάρδας σε κονσέρβες βόειου κρέατος, όπως δείχθηκε μέσω έρευνας (Drdak *et al.* 1993), εφόσον η συγκέντρωση είναι 0,1% ισοθειοκυανικός αλληλεστέρας, εξασφαλίζει θερμοσταθερότητα και οδηγεί σε ένα μικροβιολογικά ασφαλές προϊόν. Οι μικροοργανισμοί *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *A. hydrophila*, *S. typhimurium* και *Clostridium botulinum* έδειξαν σε κάποιο βαθμό ευαισθησία σε αποσπάσματα από πορτοκάλι, λεμόνι, γκρέιπφρουτ, μανταρίνι, φασκόμηλο, δεντρολίβανο, ρίγανη, θυμάρι, κανέλα, κύμινο, γαρίφαλο, θυμάρι, μπαχάρι, μαστίχα, και κρεμμύδι. Ωστόσο, τα αποτελέσματα *in vivo* δεν είναι το ίδιο έντονα, γεγονός που υποδηλώνει μειωμένη δράση των αιθέριων ελαίων. Πιθανώς αυτό να οφείλεται σε συγκεκριμένα συστατικά της μήτρας τροφίμων, όπως πρωτεΐνες και λίπη, τα οποία αδρανοποιούν συστατικά των αιθέριων ελαίων.

Οι αντιμυκητιακές επιδράσεις αιθέριων ελαίων από διάφορα βότανα, μπαχαρικά, και άλλα φυτά έχουν μελετηθεί για διάφορα είδη, όπως *Penicillium* και *Aspergillus*, αλλά υπάρχει πεδίο αντικρουόμενων απόψεων (Aktug S.E. and Karapinar M. 1987, Azzouz M.A. and Bullerman L.B. 1982, Salmeron J. *et al.* 1990, Paster N. *et al.* 1988). Ενώ μερικοί ανακάλυψαν ανασταλτική δράση, άλλοι έκαναν λόγο για ενίσχυση της δράσης των μικροοργανισμών. Βέβαια μπορεί να παίζει ρόλο η μήτρα (τροφή) για αυτό συνιστάται να τυποποιηθεί η πειραματική διάταξη.

Επειδή τα αιθέρια έλαια περιέχουν μια ποικιλία ενώσεων διαφορετικής χημικής σύστασης, δεν είναι δυνατόν να προταθεί ενιαίος μηχανισμός δράσης κατά των μικροοργανισμών. Ένα σημαντικό κοινό χαρακτηριστικό των συστατικών αιθέριων ελαίων είναι ο υψηλός βαθμός υδροφοβικότητας. Ως εκ τούτου, οι ενώσεις αυτές απαντώνται κατά προτίμηση εντός λιπιδικής διπλοστιβάδας λόγω της λιποφιλικότητας τους, αλλά και για τη διατήρηση της μεμβρανικής ρευστότητας (Oosterhaven K. *et al.* 1995). Η συσώρευση λιπόφιλων ενώσεων σε βιολογικές μεμβράνες ενισχύει τη

διαθεσιμότητά τους στο κύτταρο, και ως εκ τούτου μπορούν με τη σειρά τους εκείνες να παρεμποδίζουν την κυτταρική επιβίωση. Η παρουσία ειδικών δραστικών ομάδων, η μεταβλητότητα στη σύνθεση της μεμβράνης κι οι μεταβολικές δυνατότητες των οργανισμών-στόχων δε μπορούν να δώσουν εικόνα για την τοξικότητα των ενώσεων, στηριζόμενες αποκλειστικά στην υδροφοβικότητα. Για παράδειγμα η καρβόνη κι η κινναμαλδεΐδη, δύο ενώσεις με διαφορετική υδροφοβικότητα διέπονται από παρόμοιους μηχανισμούς αντιμυκητιακής δράσης. Αμφότερες οι ενώσεις αναστέλλουν την ανάπτυξη του *Penicillium hirsutum* όταν χορηγούνται σε αέρια μορφή (Smid E.J. *et al.* 1995). Πλήρης καταστολή της ανάπτυξης μέσω καρβόνης παρατηρήθηκε μόνο όταν η ένωση ήταν παρούσα στην ατμόσφαιρα. Από την άλλη πλευρά, η αναστολή της ανάπτυξης μυκήτων από transκινναμαλδεΐδη βρέθηκε να είναι αυστηρά μη αναστρέψιμη. Εν κατακλείδι, η καρβόνη λειτουργεί ως μυκητοστατικός παράγοντας, ενώ η trans-κινναμαλδεΐδης ως μυκητοκτόνος. Ο μηχανισμός που εξηγεί αυτή την διαφορά στην αντιμυκητιακή δράση μελετήθηκε χρησιμοποιώντας *Saccharomyces cerevisiae* (Smid E.J. *etal.* 1996). Συγκεκριμένα η κινναμωμική αλδεΐδη προκαλεί (μερική) κατάρρευση της ακεραιότητας της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, η οποία οδηγεί σε υπερβολική διαρροή μεταβολιτών κινεζύμων κι εν τέλει οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο.

Λαμβάνοντας υπόψη οποιαδήποτε εκμετάλλευση των αιθέριων ελαίων, θα πρέπει να τονιστεί πως μπορεί να προκύψουν μεγάλες διακυμάνσεις ως προς την απόδοση του ελαίου ανάλογα με τη μεθοδολογία εκχύλισης που θα εφαρμοστεί. Επίσης το εκάστοτε αιθέριο έλαιο μπορεί να εμφανίζει παραλλαγές στη σύστασή του, ανάλογα με τη γεωγραφική θέση και τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Αλλαγές όμως μπορούν να παρατηρηθούν στην περιεκτικότητα του ελαίου ακόμη και σε ημερήσια βάση.

Είναι σαφές, λοιπόν, ότι τα αιθέρια έλαια και τα ενεργά συστατικά τους δεν αποτελούν ένα έτοιμο προς χρήση προϊόν.

4.1.1.5 Παραδείγματα αντιμικροβιακών παραγόντων φυτικής προέλευσης

Μεταξύ των συστατικών αιθέριων ελαίων, τα πτητικά μονοτερπένια κι οι αλδεΐδες έχουν προσελκύσει το ενδιαφέρον της βιομηχανίας τροφίμων, επειδή μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως συντηρητικά. Όσον αφορά την εφαρμογή στην πράξη, τα πράγματα δεν είναι τόσο απλά. Η πτητική φύση των ενώσεων αυτών απαιτεί την

ανάπτυξη κατάλληλων συνθέσεων βραδείας απελευθέρωσης ή προσαρμοσμένων συστημάτων συσκευασίας. Για παράδειγμα, με την καρβόνη, το κύριο μονοτερπένιο του αιθέριου ελαίου του αγριοκύμινου (*Carum carvi* L.) έχει ισχυρή αντιμυκητιακή δράση κι έτσι έχει, ήδη, χρησιμοποιηθεί για την προστασία των κονδύλων πατάτας κατά την αποθήκευσή της (Hartmans K.J. *etal.* 1995). Ωστόσο, η καρβόνη χάνεται σταδιακά από το περιβάλλον αποθήκευσης κι ως εκ τούτου πρέπει να χορηγείται τακτικά.

Παρόμοια με την καρβόνη δράση έχει κι η κινναμαλδεΐδη, η κύρια ένωση του ελαίου της κιέζικης κανέλλας, κατά διαφόρων μυκήτων όπως *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. και *Aspergillus* sp. (Pauli A. and Knobloch K. 1987). Η κινναμαλδεΐδη έχει επίσης αποδειχθεί ότι δρα κι ενάντια στις αφλατοξίνες (Mahmoud A.L.E. 1994). Όταν εκτίθεται στον αέρα, οξειδώνεται εύκολα σε κινναμικό οξύ. Συνεπώς, η εφαρμογή αυτής της ένωσης σε αέρια φάση είναι λιγότερο αποτελεσματική. Ωστόσο, η πολύ ισχυρή μυκητοκτόνος δράση και η χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά την καθιστούν μια πολύ καλή πρόταση ως απολυμαντικό επιφάνειας. Ένα παράδειγμα χρήσης της κινναμαλδεΐδης στη διατήρηση των τροφίμων είναι η πιθανή χρήση της ως απολυμαντικό επιφάνειας για τις τομάτες (Sikkema J. *etal.* 1992). Οι ντομάτες είναι ιδιαίτερος ευάλωτες σε μικροβιακές αλλιώσεις στην περιοχή των καλύκων και των τραυμάτων στην επιφάνεια των καρπών. Τα συνήθη παθογόνα που προσβάλλουν τους καρπούς ντομάτας είναι τα *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea* και *Rhizopus stolonifer*.

Οι κάλυκες είναι συνήθως το πρώτο μέρος της τομάτας στην οποία εμφανίζονται οι μύκητες. Έχει αποδειχθεί ότι η απολύμανση των τοματών με υποχλωριώδες νάτριο πριν από τη συσκευασία μειώνει σημαντικά τις πιθανότητες αλλοίωσης. Σε πειράματα που έγιναν μελετήθηκαν οι πληθυσμοί μυκήτων και βακτηρίων σε ολόκληρες ντομάτες συσκευασμένες. Οι τομάτες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία για 30 λεπτά με ένα διάλυμα που περιείχε 13mM κινναμωμικής αλδεΐδης και φυλάχθηκαν στους 18°C σε σφραγισμένους πλαστικούς σάκους. Την τέταρτη ημέρα παρατηρήθηκε μυκητιακή ανάπτυξη (*Penicillium* sp.) σε κάλους μη επεξεργασμένων φρούτων. Οι κάλυκες των τοματών, που είχαν υποστεί κατεργασία με κινναμαλδεΐδη, δεν ανέπτυξαν μύκητες για τουλάχιστον 9 ημέρες. Όσον αφορά στην ανάπτυξη βακτηρίων, παρατηρήθηκαν βακτηριακές αποικίες μετά από 2 ημέρες αποθήκευσης στις τομάτες - μάρτυρες, ενώ στις 4 ημέρες αποθήκευσης, ανιχνεύθηκε σημαντική αύξηση του μεγέθους τους. Αντίθετα, σε ντομάτες που έχουν υποστεί κατεργασία με κινναμαλδεΐδη δεν αναπτύχθηκαν βακτήρια.

Μυκητοκτόνες και βακτηριοκτόνες ενώσεις φυτικής προέλευσης, όπως η κινναμαλδεΐδη, μπορεί να προσφέρουν δυνατότητα απολύμανσης φρέσκων και

ελάχιστα κατεργασμένων φρούτων και λαχανικών. Το μόνο πρόβλημα που μπορεί να προκύψει κατά την εφαρμογή τέτοιων ενώσεων είναι η εμφάνιση οσμών σε υψηλότερες όμως δοσολογίες. Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα, οι αντιμυκητιακοί μεταβολίτες των φυτών θα πρέπει να επιλέγονται τόσο για την αποτελεσματικότητα όσο και για την ελάχιστη παρέμβαση στη φυσική οσμή του προϊόντος.

Στο σημείο αυτό κρίνεται απαραίτητο να αναφερθούν οι μηχανισμοί μέσω των οποίων οι μικροοργανισμοί μπορούν κι επιδεικνύουν αντοχή στα εμπόδια προστασίας του κυττάρου και κατ' επέκταση του οργανισμού.

4.1.2 ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΚΑΙ ΤΗ ΔΙΑΔΟΣΗ ΤΗΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Όπως επισημαίνεται από τον Courvalin (2005), η ανθεκτικότητα στα αντιμικροβιακά φάρμακα είναι μια αναπόφευκτη συνέπεια της εξέλιξης των βακτηρίων, που συμβαίνει τυχαία. Οι μηχανισμοί βακτηριακής αντοχής είναι αρκετά διαφορετικοί όπως είναι κι οι τρόποι δράσης των αντιμικροβιακών, οι οποίοι μπορεί να περιλαμβάνουν αναστολή διαφόρων σταδίων αντιγραφής του DNA, μεταγραφής και μετάφρασης ή δράση στο επίπεδο του κυτταρικού τοιχώματος ή της κυτταρικής μεμβράνης.

Η ανθεκτικότητα των μικροοργανισμών έναντι των αντιβιοτικών περιλαμβάνει την εξασθενημένη πρόσληψη, τροποποίηση ή υπερπαραγωγή των θέσεων στόχων αντιμικροβιακών φαρμάκων, παράκαμψη ευαίσθητων σταδίων, απουσία ενζύμων ή μεταβολικών οδών και εκροή των αντιμικροβιακών παραγόντων (Russell A.D. 1997). Περαιτέρω, τα βακτήρια μπορούν να αντισταθούν στις επιδράσεις των αντιμικροβιακών παραγόντων με ενζυμική αποικοδόμηση του φαρμάκου, προτού αυτό φθάσει στη θέση – στόχο. Ειδικότερα μεταβάλλουν τις πρωτεΐνες που χρησιμεύουν ως υποδοχείς των αντιβιοτικών και τη μεμβρανική διαπερατότητα σε αυτά (Cloete 2003, Dever and Dermody 1991).

Παρακάτω θα αναλυθούν ορισμένοι μηχανισμοί που χρησιμοποιούν οι μικροοργανισμοί προκειμένου να ξεγελάσουν το κύτταρο, παρεμποδίζοντας τη δράση των αντιβιοτικών.

4.1.2.1 Αντλίες εκροής

Οι ονομαζόμενες «αντλίες εκροής πολλαπλών φαρμάκων» είναι συστήματα για τη μεταφορά ουσιών από τα κύτταρα και παρέχουν ανθεκτικότητα σε μια ποικιλία διαφορετικών αντιμικροβιακών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των αντιβιοτικών, βαφών και επιφανειοδραστικών ουσιών. Αποτελούν κύρια στρατηγική των βακτηρίων προς αντιμετώπιση της δράσης των απολυμαντικών (Russell A.D. 1997). Οι μηχανισμοί εκροής δεν σχετίζονται με τις βακτηριοκίνες, οι οποίες δεν συσσωρεύονται ενδοκυτταρικά. Η ανοχή του οξέος μπορεί να εξεταστεί από την άποψη της ικανότητας εκροής. Ο μηχανισμός με τον οποίο τα οργανικά οξέα αναστέλλουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών συνεπάγεται τη διέλευση της μη διασπασμένης μορφής του οξέος διαμέσου της λιπιδικής διπλοστιβάδας της κυτταρικής μεμβράνης. Μόλις εισέλθει στο κύτταρο, το οξύ αποσυντίθεται λόγω του υψηλότερου ενδοκυττάρου pH. Τα πρωτόνια πρέπει να εξωθούνται στο εξωτερικό, καθώς οξινίζουν το κυτταρόπλασμα.

Οι ζυμομύκητες χρησιμοποιούν διαφορετικούς μηχανισμούς για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι του σορβικού κι άλλων οργανικών οξέων. Το ένζυμο H⁺-ATPάση μαζί με την ενέργεια ATP (τριφωσφορική αδενοσίνη) απομακρύνει το πλεόνασμα πρωτονίων από το κύτταρο. Η αναστολή και/ή η απενεργοποίηση των ζυμών μπορεί να οφείλεται σε ενδεχόμενη απώλεια της κυτταρικής ενέργειας ή την απενεργοποίηση των κρίσιμων κυτταρικών λειτουργιών, εξαιτίας του χαμηλού ενδοκυτταρικού pH. Για να αποφευχθεί η έλλειψη ενέργειας επάγεται η έκφραση πρωτεϊνών, οι οποίες μπορούν να μειώσουν τη δραστηριότητα της ATPάσης και επομένως το ισοζύγιο ενέργειας παραμένει σταθερό (Brul and Coote 1999). Έκθεση του *Saccharomyces cerevisiae* σε σορβικό οξύ επάγει την παραγωγή μιας αντλία πολλαπλής αντίστασης, η οποία έχει το επιθυμητό αποτέλεσμα με την ενεργειακά εξαρτώμενη εξώθηση ανιόντων (Piper *et al.* 1998). Για να παρακαμφθεί το πρόβλημα της εξώθησης, επιλέγονται ζύμες προσαρμοσμένες, οι οποίες προφανώς μειώνουν τη διάχυση ασθενών οξέων, μεταβάλλοντας τις δομές των κυτταρικών μεμβρανών μειώνοντας παράλληλα τη διέλευση οξέων στο κύτταρο (Brul and Coote 1999). Παρόμοιοι μηχανισμοί πιθανώς να υπάρχουν και στα βακτήρια, οι οποίοι θα επιτρέψουν την ανάπτυξή τους παρουσία σορβικού ή άλλων οργανικών οξέων.

4.1.2.2 Ενζυμική αποικοδόμηση

Η ενζυμική αποικοδόμηση είναι ο μηχανισμός ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά τύπου β-λακτάμης μέσω υδρόλυσης του δακτυλίου β-λακτάμης (Bush and Sykes 1984). Πέραν αυτής της λειτουργίας του μηχανισμού, ενζυμική αποικοδόμηση απαιτείται και για την απόκτηση ανθεκτικότητας έναντι της χλωραμφενικόλης και των αμινογλυκοσιδών. Η ανθεκτικότητα στην χλωραμφενικόλη, ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο αντιμικροβιακό, συμβαίνει μέσω ακετυλίωσης, η οποία καταλύεται από το ένζυμο ακετυλοτρανσφεράση χλωραμφαινικόλης. Ως διαδικασία μπορεί να είναι εξειδικευμένη ή γενική, αλλά σίγουρα διαφοροποιείται ανάλογα με το ένζυμο που αναστέλλει τη δράση των αντιβιοτικών. Για παράδειγμα, μερικά βακτήρια μεταβολίζουν το κιτρικό οξύ, καθιστώντας έτσι τα ένζυμα του κύκλου του κιτρικού αναποτελεσματικά εναντίον τους. Αντίθετα, πολλές πρωτεάσες απενεργοποιούν βακτηριοκίνες με μη ειδικό τρόπο.

4.1.2.3 Τροποποίηση υποδοχέα

Η μεταβολή συγκεκριμένων θέσεων υποδοχέα αποτρέπει τη σωστή αναγνώριση στόχου. Παράδειγμα είναι η ανθεκτικότητα στο ναλιδιξικό οξύ, η οποία συχνά οφείλεται σε μεταλλάξεις στα γονίδια *gyrA* και *gyrB*, τα γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες στόχους του αντιβιοτικού. Η αντίσταση στην ciprofloxacin σχετίζεται επίσης με μεταλλάξεις στα *gyrA* και *gyrB* (Heddle and Maxwell 2002, Hooper 1995, Tankovic *etal.* 1996).

4.1.2.4 Αλλαγή της μεμβρανικής διαπερατότητας

Η συνηθέστερη μορφή εγγενούς ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά οφείλεται στη δομή και τη σύνθεση της μεμβράνης, η οποία λειτουργεί ως φραγμός διαπερατότητας. Η μεμβράνη, όμως, μπορεί να υποστεί κι αλλαγές μέσω μηχανισμών αντίστασης, όπως και στην περίπτωση Gram-αρνητικών βακτηρίων. Η ανθεκτικότητα της *E.coli* σε αντιβιοτικά β-λακτάμης, για παράδειγμα, συμβαίνει με την αντικατάσταση μιας πορίνης της εξωτερικής μεμβράνης (OmpF) από την OmpC (Nikaido *etal.* 1983) ενώ του *Staphylococcus epidermidis* μπορεί να συμβεί μέσω της παραγωγής θέσεων δέσμευσης γλυκοπεπτιδίου εντός της πεπτιδογλυκάνης κυτταρικού τοιχώματος (Sanyal and Greenwood 1993).

Ανθεκτικότητα στη νισίνη μπορεί να προκύψει από αυθόρμητη γενετική μετάλλαξη (ονομαζόμενη Nis^m) που περιλαμβάνει προσρόφηση βακτηριοσίνης ή εισαγωγή μεμβράνης. Απότοκο αυτών είναι η απώλεια κυτταρικής μεμβράνης και παρεμπόδιση εισαγωγής νισίνης (οι κυτταρικές μεμβράνες Nis^m είναι πιο στερεές από αυτές του στελέχους άγριου τύπου). Η ρευστότητα της μεμβράνης μπορεί να παίξει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας του *L.monocytogenes* σε αντιμικροβιακούς παράγοντες (Juneja and Davidson 1993). Ο *L.monocytogenes* όταν αναπτύσσεται παρουσία C14: 0 ή C18: 0 λιπαρών οξέων έχει υψηλότερη μετάπτωση φάσης (Tc) κι αυξημένη αντοχή σε τέσσερα κοινά αντιμικροβιακά, συγκριτικά με τα στελέχη του μικροοργανισμού που αναπτύσσονται παρουσία C18: 1, τα οποία έχουν χαμηλότερη Tc και είναι περισσότερο ευαίσθητα. Η υψηλότερη θερμοκρασία μετάπτωσης φάσης ουσιαστικά παρεμποδίζει την αποτελεσματική διείσδυση βακτηριοκινών. Ανθεκτικά στη νισίνη στελέχη του *C. botulinum* έχουν επίσης τροποποιημένη σύσταση λιπαρών οξέων στη μεμβράνη, γεγονός που αυξάνει την ακαμψία της μεμβράνης (Mazzotta and Montville 1999).

4.1.3 ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Οι μικροοργανισμοί παράγουν ένα ευρύ φάσμα ενώσεων, οι οποίες επηρεάζουν την ανάπτυξη άλλων μικροοργανισμών στο ίδιο περιβάλλον. Συχνά οι ενώσεις αυτές προσδίδουν ανταγωνιστικό πλεονέκτημα στον οργανισμό που τις παράγει και ως εκ τούτου αποτελούν σημαντικό χαρακτηριστικό επιβίωσης κι εξάπλωσης. Όσον αφορά στη διατήρηση τροφίμων, η πιο σημαντική ομάδα μικροοργανισμών που παράγει αντιμικροβιακές ενώσεις είναι τα οξυγαλακτικά βακτήρια. Η δράση των προαναφερθέντων μικροοργανισμών είναι γνωστή εδώ κι αιώνες, καθώς έχουν χρησιμοποιηθεί στη ζύμωση τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων γαλακτοκομικών προϊόντων (τυρί), κρέατος (λουκάνικα) και λαχανικών. Τα προϊόντα που έχουν προκύψει με ζύμωση περιέχουν εκ φυσικού τους αυτούς τους μικροοργανισμούς και προφανώς και τους αντίστοιχους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια μπορούν να παράγουν αντιμικροβιακές ενώσεις είτε με σχετικά ευρύ φάσμα αναστολής (π.χ.: οργανικό οξύ και υπεροξειδιο του υδρογόνου) είτε ενώσεις με μάλλον στενό αντιμικροβιακό φάσμα (π.χ.: βακτηριοσίνες). Η χρήση των βακτηρίων αυτών ως βιο-συντηρητικών είναι δυνατή μέσω της εφαρμογής τους ως «προστατευτική» καλλιέργεια στο προϊόν διατροφής. Ενώ η χρήση «προστατευτικών»

καλλιιεργειών στις περισσότερες χώρες απαιτεί προσοχή μόνο ως προς το τρόφιμο όπου θα εφαρμοστεί, η χρήση μεταβολιτών με αντιμικροβιακή δράση όπως οι βακτηριοσίνες υπόκειται σε ειδικούς κανόνες και κανονισμούς.

4.1.3.1 Οξυγαλακτικά βακτήρια ως προστατευτικές καλλιέργειες

Η χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων ως «προστατευτικών» καλλιιεργειών είναι μία από τις παλαιότερες πρακτικές επεξεργασίας τροφίμων που χρησιμοποιήθηκαν και προορίζονταν να σταθεροποιούν τα προϊόντα διατροφής, ενώ παράλληλα επιτυγχάνουν συγκεκριμένες, επιθυμητές αισθητικές και οργανοληπτικές ιδιότητες. Η επιτυχία της διαδικασίας ζύμωσης εξαρτάται από την ανταγωνιστικότητα των αρχικών καλλιιεργειών και γι' αυτό τα βακτήρια αυτά έχουν χρησιμοποιηθεί τόσο ευρέως. Οι πολλές διαφορετικές αντιμικροβιακές ενώσεις που παράγουν μπορούν να εξουδετερώσουν ένα ευρύ φάσμα ανταγωνιστών που θα προκαλούσαν προβλήματα στη διαδικασία ζύμωσης. Τελευταία τα οξυγαλακτικά βακτήρια προτείνονται για την επεξεργασία τροφίμων. Πρέπει, λοιπόν, να επιδρούν στους παθογόνους μικροοργανισμούς χωρίς καμία αρνητική επίπτωση στα αισθητήρια ή οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος διατροφής. Η παραγωγή οξέων ως κύριων αντιμικροβιακών παραγόντων είναι συχνά επιβλαβής για την ποιότητα των τροφίμων και δεν αποτελεί κατάλληλο μηχανισμό δράσης για προστατευτικές καλλιέργειες. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια, ευτυχώς, παράγουν μια ελάχιστη ποσότητα οξέων αλλά αποβάλλουν βακτηριοσίνες στο περιβάλλον τους προσφέροντας έτσι μια καλή εναλλακτική. Πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε τεμαχισμένο χοιρινό κρέας (γερμανικό τύπου Mettwurst) με pH=5.7 είχαν ως στόχο τον έλεγχο της αύξησης του *L. monocytogenes* κι έδειξαν ότι ένα στέλεχος του *Lactobacillus sake* ήταν σε θέση να μειώσει το δυναμικό ανάπτυξης του παθογόνου παράγοντα, επειδή παρήγαγε μια κατάλληλη αντι-φυτική βακτηριοσίνη (Schillinger *U. et al.* 1991).

Χρησιμοποιώντας στελέχη *Pediococcus acidilactici* που παράγουν βακτηριοσίνες και στελέχη που δεν παράγουν για την προστασία των λουκάνικων γαλοπούλας κατά του *L. monocytogenes*, ο Luchansky διαπίστωσε ότι ο παθογόνος παράγοντας μπορούσε να μειωθεί από την παραγωγή βακτηριοσινών περισσότερο σε σχέση με τα στελέχη που δεν παράγουν τις εν λόγω ενώσεις. Μελέτες ενός στελέχους *P. acidilactici* που παράγει μια άλλη ομάδα ενώσεων, τις πεδιοσίνες στο μπέικον έδειξαν πως σε συνδυασμό με

μειωμένα επίπεδα νιτρωδών μπορούν οι ενώσεις αυτές να λειτουργήσουν προληπτικά, παρεμποδίζοντας τη σύνθεση τοξινών.

Οι Kotzekidou και Bloukas(1996) μελέτησαν την επίδραση των προστατευτικών καλλιέργειών στη διάρκεια ζωής του τεμαχισμένου σε κενό ζαμπόν μαγειρεμένου ζαμπόν σε φέτες. Βρήκαν, λοιπόν, ότι το μαγειρεμένο ζαμπόν που παράγεται με τη βοήθεια των *Lactobacillus alimentarius* και *Staphylococcus xylosus* ως προστατευτικές καλλιέργειες είχε διάρκεια ζωής έως 28 ημέρες, ενώ το ζαμπόν ελέγχου 21 ημέρες. Ο κίνδυνος αύξησης των παθογόνων παραγόντων σε σαλάτες κρέατος είναι πιο εμφανής υπό συνθήκες αυξημένης θερμοκρασίας. Έρευνες έδειξαν ότι οι διαφορετικές καλλιέργειες LAB είναι πράγματι σε θέση να μειώσουν τους μικροβιακούς κινδύνους που οφείλονται σε παθογόνους μικροοργανισμούς σε υψηλή θερμοκρασία. Αν και δεν μειώνουν την αλλοίωση, θα μπορούσαν να μειώσουν την ανάπτυξη των παθογόνων πριν αυτά να φτάσουν σε επικίνδυνα επίπεδα.

Η έρευνα σε προστατευτικές καλλιέργειες δεν βρήκε πάντοτε πιθανές θετικές εφαρμογές για LAB που παράγει βακτηριοσίνες. Φάνηκε να είναι αναποτελεσματικές όταν εφαρμόστηκαν σε λουκάνικα τύπου γαλακτώματος (pH=6.4) συσκευασμένα σε κενό, εμβολιασμένα με *L. monocytogenes* και αποθηκευμένα στους 4°C για 23 ημέρες. Προφανώς, οι ποσότητες βακτηριοσίνης που παράγονται από τις μικρές αρχικού αριθμού προστατευτικές καλλιέργειες δεν ήταν επαρκείς για να αναστείλουν ή να μειώσουν τα επίπεδα του *L. monocytogenes* σε ψυχθέντα κρέατα.

Μια άλλη εφαρμογή των προστατευτικών καλλιέργειών είναι στα ψάρια και τα θαλασσινά. Οι Wessels και Huss (1996) μελέτησαν τη χρήση προστατευτικών καλλιέργειών ως αναστολέων του *L. monocytogenes* σε ελαφρά διατηρημένα αλιευτικά προϊόντα. Η καλλιέργεια του παθογόνου με ένα στέλεχος *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* στους 30°C κατέληξε σε μείωση του πληθυσμού του παθογόνου. Εντούτοις, όταν η προστατευτική καλλιέργεια εμβολιάστηκε σε φέτες εμπορικού ψυχρού καπνιστού σολομού δεν ανιχνεύθηκε καθαρή ανάπτυξη – αρχικά ο πληθυσμός μειώθηκε για να αυξηθεί στη συνέχεια. Η χρήση βακτηριοσινών δοκιμάστηκε για τη διατήρηση των γαρίδων - τρεις διαφορετικές βακτηριοσίνες αξιολογήθηκαν (νισίνη Z, καρκινοκίνη U149 και βαβαρικίνη A) για τη βιοδιατηρητική δραστηριότητά τους. Με την νισίνη Z, την πιο αποτελεσματική βακτηριοσίνη, παρατηρήθηκε καθυστέρηση στην βακτηριακή ανάπτυξη που είχε ως αποτέλεσμα την επέκταση της διάρκειας ζωής κατά 21 ημέρες (από 10 έως 31 ημέρες). Την ισχυρότερη βέβαια δράση επέδειξαν δύο άλλες ενώσεις, το βενζοϊκό νάτριο και το σορβικό κάλιο.

Η βιοδιατήρηση των ψαριών και θαλασσινών μπορεί να είναι πλήρης ή μερική και μπορεί να επιτευχθεί με αλάτι ή χημικά πρόσθετα. Βεβαίως κι η χρήση προστατευτικών βακτηριακών καλλιιεργειών αποτελεί λύση· απαιτεί, όμως, περαιτέρω μελέτη.

Οι προστατευτικές καλλιιεργειες βρίσκουν εφαρμογή και στη διατήρηση γαλακτοκομικών προϊόντων αλλά και λαχανικών. Όσον αφορά στα γαλακτοκομικά, πειράματα που έγιναν για τον έλεγχο της ανάπτυξης των κλωστριδίων στα τυριά (Zottola E.A. *etal.* 1994) έδειξαν πως η προσθήκη φυσικών αντιμικροβιακών παραγόντων (κυρίως νισίνη) οδήγησε σε παράταση της διάρκειας ζωής του προϊόντος, αφού τα κλωστρίδια είναι ευαίσθητα στη νισίνη. Η μόλυνση από *L. monocytogenes* μπορεί επίσης να προκαλέσει προβλήματα στην παραγωγή τυριών, ειδικά σε προϊόντα όπως τα ιταλικά τυριά. Η προσθήκη του στελέχους *Enterococcus faecium* κατά τη διάρκεια της παρασκευής του τυριού απελευθερώνει μια αντι-φυτική βακτηριοσίνη. Άλλα πειράματα που έγιναν για τον έλεγχο της μόλυνσης της μοτσαρέλα (Stecchini M.L. *etal.* 1995) έδειξαν ότι οι θερμικά επεξεργασμένες καλλιιεργειες στελεχών *Lactococcus lactis* οδήγησαν σε μείωση των αρχικών πληθυσμών της *Listeria*.

Σε αυτό το σημείο κρίνεται σκόπιμο να τονιστεί πως η διατήρηση ενός τροφίμου δεν μπορεί να αντικαταστήσει την ορθή παρασκευαστική πρακτική, αλλά προσφέρει ένα πρόσθετο εργαλείο για τη βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων.

Καλλιιεργειες εκκίνησης που παράγουν βακτηριοσίνη μπορούν να είναι χρήσιμες στη ζύμωση ζυμαρικών (Harris L.J. 1992) ή ελιών για την πρόληψη της ανάπτυξης οργανισμών αλλοίωσης. Άλλο παράδειγμα για τη χρήση προστατευτικών καλλιιεργειών στα λαχανικά είναι η χρήση αυτών με τα στελέχη *Lactobacillus casei* ILV 110 και *Lactobacillus plantarum* ILV 3 σε σαλάτες (Hennlich W. 1996). Αποτέλεσμα είναι η παρεμπόδιση καταστροφής των «καλών» μικροοργανισμών κι η αναστολή της αύξησης των *E.coli* και *C.sporogenes*.

4.2 ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ

4.2.1 ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΕΣ

Οι βακτηριοσίνες είναι μικρές πρωτεΐνες που παράγονται από διάφορα βακτηριακά γένη, συμπεριλαμβανομένου και των οξυγαλακτικών βακτηρίων. Οι περισσότερες από

αυτές που παράγονται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια (Gram-θετικά) αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων οξυγαλακτικών βακτηρίων, αλλά ορισμένες έχουν βακτηριοκτόνο δράση έναντι παθογόνων τροφίμων. Δηλαδή οι βακτηριοσίνες ή οι παραγωγοί τους δεν θα χρησιμοποιηθούν ως ένα γενικό εμπόδιο ασφαλείας, αλλά θα μπορούσαν να δράσουν στοχευμένα ενάντια στην ανάπτυξη των Gram-θετικών παθογόνων όπως *L. monocytogenes*, *C. botulinum* και *B.cereus*.

Παρόλο που έχουν εντοπιστεί πολλές διαφορετικές και είναι πιθανή η χρήση τους ως συντηρητικά τροφίμων, η εκμετάλλευση των βακτηριοσινών είναι περιορισμένη. Μόνο δύο από αυτές είναι διαδεδομένες: η νισίνη κι οι πεδιοκίνες. Η περιορισμένη εκμετάλλευσή τους οφείλεται κυρίως στο μάλλον μικρό εύρος δράσης των περισσοτέρων, στη χαμηλή αποτελεσματικότητα της παραγωγής τους, αλλά και στην περιορισμένη σταθερότητά τους. Στην πραγματικότητα, λαμβάνοντας υπόψη τους περιορισμούς στην πρακτική εφαρμογή, μόνο μερικές από τις νέες βακτηριοσίνες διαθέτουν επαρκή ευνοϊκά χαρακτηριστικά σε σύγκριση με τη νισίνη και την πεδιοκίνη που θα επέτρεπαν πιθανή μελλοντική εφαρμογή τους. Ωστόσο, η αυξανόμενη αμφιβολία σχετικά με την ασφάλεια παραδοσιακών χημικών συντηρητικών, όπως τα νιτρώδη και προπιονικά οξέα, οδηγεί τη βιομηχανία τροφίμων να καταφύγει σε άλλες εναλλακτικές, όπως την εισαγωγή φυσικών συντηρητικών παραγόντων (βακτηριοσίνες).

Από την στιγμή που εντοπίστηκε η ανασταλτική δραστηριότητα ενός στελέχους *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* το 1928, τα οξυγαλακτικά βακτήρια μελετήθηκαν ενδελεχέστερα. Η πρώτη βακτηριοσίνη που ανακαλύφθηκε ήταν η νισίνη, η οποία για προφανείς λόγους μελετήθηκε κι εκτενέστερα. Σήμερα έχουν εντοπιστεί περισσότερες από 30 διαφορετικές βακτηριοσίνες που παράγονται από περίπου 17 είδη οξυγαλακτικών βακτηρίων και έχουν ληφθεί πολλές πληροφορίες σχετικά με τη βιοχημεία και το εύρος της βακτηριοκτόνου δραστηριότητάς τους. Στα πλεονεκτήματα των συγκεκριμένων ενώσεων συγκαταλέγονται η σχετικά υψηλή αντοχή τους στη θερμότητα και η αναστολή Gram-θετικών παθογόνων μικροοργανισμών. Ένας μικροοργανισμός που απασχολεί έντονα τη βιομηχανία τροφίμων, λόγω τόσο της ευρείας παρουσίας του όσο και των βλαβών που προκαλεί είναι ο *L. monocytogenes*. Αυτό το βακτήριο εμφανίζει υψηλή αντοχή, που μπορεί να οδηγήσει σε υψηλό ποσοστό θνησιμότητας. Έχει εντοπιστεί σε πολλά διαφορετικά τρόφιμα, με κύριους αποδέκτες των επιβλαβών του συνεπειών τα γαλακτοκομικά (μαλακά τυριά) και τα κρέατα (πατέ, λουκάνικα). Επίσης, η βακτηριοκτόνος επίδραση αρκετών βακτηριοσινών στα βακτηρίδια που σχηματίζουν σπόρια, όπως το είδος *Bacillus* και *Clostridium*, έχει αποτελέσει αντικείμενο έρευνας για πολλές δεκαετίες και υποδεικνύει τη μεγαλύτερη

δυνατότητα που θα μπορούσαν να έχουν αυτές οι βακτηριοσίνες στη διατήρηση των τροφίμων.

4.2.2 ΝΙΣΙΝΗ

Η νισίνη είναι μια πρωτεΐνη αποτελούμενη από 34 αμινοξικά κατάλοιπα, η οποία είναι θερμοσταθερή. Ο ρόλος της είναι να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των Gram-θετικών παθογόνων που αναπτύσσονται στα τρόφιμα, μεταξύ των οποίων τα στελέχη *L. Monocytogenes* και *S. aureus*, και να παρεμποδίζει τη βλάστηση σπορίων ορισμένων ειδών όπως τα *Clostridium* και *Bacillus*. Γενικά είναι ενεργή σε όξινα τρόφιμα. Η βακτηριοσίνη που παράγεται από ορισμένα στελέχη του *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, παράγει δομικές παραλλαγές που διαφέρουν ελάχιστα στην αμινοξική τους αλληλουχία. Η πρωταρχική χρήση της νισίνης ήταν ως αντιβιοτικό. Λόγω, όμως, της περιορισμένης περιοχής αναστολής, εν τέλει δεν χρησιμοποιήθηκε για θεραπευτική χρήση. Η νισίνη αποικοδομείται πλήρως στο πεπτικό σύστημα και κατά συνέπεια μπορεί να χρησιμοποιηθεί με ασφάλεια ως πρόσθετο τροφίμων. Η δυνητική χρήση του ως συντηρητικού τροφίμων αποδείχθηκε για πρώτη φορά με την επιτυχή χρησιμοποίηση καλλιεργειών που παράγουν νισίνη στην παρασκευή τυριών ελβετικού τύπου. Μπορεί, επίσης, να χρησιμοποιηθεί ως φυσικό πρόσθετο για την αναστολή της ανάπτυξης των σπορίων ή για τη μείωση της θερμικής τους αντοχής.

Η νισίνη έχει χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με άλλα συντηρητικά μέσα για τη βελτίωση της ασφάλειας του προϊόντος ή της ποιότητάς του. Στα κονσερβοποιημένα τρόφιμα όπως σούπες και πουτίγκες, η νισίνη έχει εφαρμοστεί σε συνδυασμό με θέρμανση για να αντιμετωπιστούν τα ανθεκτικά στη θερμότητα σπόρια θερμοφίλων βακτηρίων. Θέρμανση και νισίνη μπορούν να συνδυαστούν και για τη διατήρηση του γάλακτος σε χώρες όπου η παστερίωση, η ψύξη κι οι εγκαταστάσεις μεταφοράς δεν είναι επαρκείς και όπου είναι δύσκολο να εξασφαλιστεί η ποιότητα του προϊόντος. Όταν η νισίνη συνδυάζεται με οξικό, γαλακτικό ή κιτρικό οξύ, η αποτελεσματικότητα του ξεφλουδίσματος και της παστερίωσης μπορεί να είναι καλύτερες από ό, τι με κατεργασία με νισίνη ή μόνο με οργανικά οξέα. Επίσης η νισίνη μπορεί να χρησιμοποιηθεί συνδυαστικά με νιτρώδη άλατα στο κρέας ώστε να εξασφαλιστεί η διατήρησή του και να αποφευχθεί η ανάπτυξη μικροοργανισμών, που θα μπορούσαν να αλλοιώσουν την ποιότητά του.

4.2.3 ΠΕΔΙΟΣΙΝΕΣ

Οι πεδιοσίνες είναι βακτηριοσίνες που παράγονται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια του γένους *Pediococcus*. Η πρώτη αναφορά στις πεδιοσίνες χρονολογείται το 1975, όταν ανιχνεύθηκε πως ο μικροοργανισμός *Pediococcus pentosaceus* αναστέλλει την αύξηση του *Lactobacillus plantarum*, ενός ανεπιθύμητου ανταγωνιστή της ζύμωσης σε μείγμα αγγουριών τουρσί. Το ενεργό μόριο, γνωστό ως πεδιοσίνη Α, αναστέλλει τη δράση πολλών οξυγαλακτικών βακτηρίων και κλωστριδίων (*S.aureus*, *B.cereus*). Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι η παραγωγή πεδιοσινών είναι ευνοϊκή για τις καλλιέργειες εκκίνησης στη ζύμωση λουκάνικων και λαχανικών.

Πολλές εφαρμογές πεδιοσίνης έχουν αξιολογηθεί σε σχέση με την ασφάλεια των τροφίμων. Η πεδιοσίνη PA-1, που παράγεται από ένα στέλεχος *Pediococcus acidilactici*, έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλει την ανάπτυξη του *L. monocytogenes* σε τυρί cottage, ενώ τα στελέχη μάρτυρες εμφάνισαν ταχεία ανάπτυξη παθογόνων. Η δράση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης δεν επηρεάστηκε από το λίπος ή τις πρωτεΐνες που υπάρχουν στα τρόφιμα, ενώ παρατηρήθηκε συνεργική δράση μεταξύ της επίδρασης βακτηριοσίνης και γαλακτικού οξέος. Εκτεταμένες δοκιμές έδειξαν ότι αυτή η πεδιοσίνη είναι μη τοξική, και υδρολύεται από γαστρικά ένζυμα.

4.2.4 ΣΑΚΑΣΙΝΕΣ

Οι σακασίνες, μια ομάδα βακτηριοκινών που παράγονται από το *Lactobacillus sakei*, οφείλουν την ανακάλυψη τους στην εντατική αναζήτηση φυσικών αντιμικροβιακών ενώσεων ικανών να αυξήσουν τη διάρκεια ζωής του ακατέργαστου κρέατος εμποδίζοντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών αλλοίωσης του κρέατος και τον έλεγχο του *L. monocytogenes*. Αρκετά διαφορετικά αντιμικροβιακά φάρμακα είναι γνωστό ότι παράγονται από αλυσίδες *Lactobacillus sakei*, οι οποίες βρίσκονται σε προϊόντα κρέατος. Το Lactocin S, που παράγεται από το στέλεχος *Lactobacillus sakei* 45 κι απομονώνεται από λουκάνικο με φυσική ζύμωση, έχει ανασταλτική δράση έναντι μιας σειράς οξυγαλακτικών βακτηρίων. Μια παρόμοια βακτηριοσίνη παράγεται από ένα στέλεχος *Lactobacillus sakei* που απομονώνονται από τα ισπανικά λουκάνικα. Εν τούτοις, η βακτηριοκτόνος περιοχή αυτής της ένωσης είναι πολύ ευρύτερη,

συμπεριλαμβανομένων των οξυγαλακτικών βακτηρίων και αρκετών Gram-θετικών παθογόνων βακτηρίων.

4.2.5 ΑΛΛΕΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΕΣ

Οι περισσότερες βακτηριοσίνες, πέραν αυτών που αναφέρθηκαν, παρουσιάζουν ενδιαφέρον κυρίως από την άποψη της ποιότητας των τροφίμων. Στελέχη που παράγουν βακτηριοσίνες όπως το *Lactobacillus helveticus* (παράγει helveticins και γαλακτοσίνες), *Lactobacillus acidophilus* (λακτασίνες, οξοφιλουκίνη) και *Lactobacillus plantarum* (Φυσαρικίνες, πλατακτίνη) έχουν μελετηθεί εκτενέστερα.

Αρκετά μέλη του γένους *Carnobacterium*, μια ομάδα LAB σε προϊόντα κρέατος, έχουν βρεθεί ότι παράγουν βακτηριοκίνες (καρκοκίνες) ή παρόμοιες με βακτηριοσίνες ενώσεις σε σχετικά υψηλές ποσότητες σε θερμοκρασίες ψύχους, πράγμα που θα τους προσέδιδε ευνοϊκό πλεονέκτημα έναντι των παθογόνων. Αν και τα Gram-αρνητικά βακτήρια, οι ζυμομύκητες και η μούχλα δεν είναι ευαίσθητα στη δράση των βακτηριοκινών, η παρουσία χηλικών παραγόντων, επιφανειοδραστικών ουσιών ή ωσμωτικού σοκ (υψηλού άλατος) μπορεί να τα καταστήσει ευαίσθητα.

Συνδυασμός τεχνολογιών διατήρησης τροφίμων θα ήταν επωφελής, όπως φαίνεται από πειράματα που έγιναν από την ομάδα του Stevens (1991). Συγκεκριμένα ο συνδυασμός έγινε με νισίνη που αδρανοποιεί τη σαλμονέλα και άλλα Gram-αρνητικά είδη. Άλλες μελέτες έδειξαν οφέλη του συνδυασμού νισίνης με EDTA (Blackburn P. *etal.* 1990), κιτρικού (Blackburn P. *etal.* 1989), λυσοζύμης και κιτρικού οξέος (Anderson W. *etal.* 1992), πεδιοσίνης (Hanlin MB. *etal.* 1993) για τη βελτίωση της ανασταλτικής δράσης της νισίνης έναντι Gram- αρνητικών βακτηρίων.

4.2.6 ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΩΝ

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια (LAB) εντοπίζονται φυσικά σε πολλά διαφορετικά τρόφιμα (π.χ. φρούτα και λαχανικά) ή χρησιμοποιούνται συχνά στην παραγωγή τους.

Πολλές έρευνες έχουν γίνει προκειμένου να εντοπιστούν τα LAB που παράγουν βακτηριοσίνες. Παρόλο που οι χρησιμοποιούμενες μέθοδοι δεν ήταν πάντοτε τυποποιημένες, είναι γενικώς αποδεκτό ότι μόνο ένας πολύ μικρός αριθμός προϊόντων είναι σε θέση να παράγουν βακτηριοσίνες και ότι το φάσμα αναστολής είναι πολύ μεταβλητό. Ο Vaughan κι οι συνεργάτες του, για παράδειγμα, μελέτησαν τα οξυγαλακτικά βακτήρια που απομόνωσαν από τυρί, γάλα, κρέας, φρούτα και λαχανικά προκειμένου να διαπιστωθεί το εύρος μέσα στο οποίο δρουν οι βακτηριοσίνες που παράγονται. Περίπου 1000 απομονωμένα στελέχη από καθεμία από τις κατηγορίες τροφίμων δοκιμάστηκαν για να αναστείλουν την αύξηση των μικροοργανισμών *Staphylococcus aureus*, *Listeria innocua* και *Pseudomonas fragi*. Τα οξυγαλακτικά βακτήρια που απομονώθηκαν από δείγματα τυριού, γάλακτος και κρέατος ανέστειλαν μόνο το *L.*, ενώ αυτά που απομονώθηκαν από φυτά ανέστειλαν τον *S. aureus*.

Η πλειοψηφία των ενεργών στελεχών ήταν αποτελεσματική μόνο σε έναν από τους μικροοργανισμούς, αλλά μερικοί ήταν ανασταλτικοί σε δύο ή τρεις από τους μικροοργανισμούς-στόχους. Αυτό δείχνει ότι μόνο ένα μικρό μέρος του συνολικού πληθυσμού των οξυγαλακτικών βακτηρίων μπορεί να δράσει εναντίον περισσότερων του ενός παθογόνων.

4.2.7 ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΒΑΚΤΗΡΙΟΣΙΝΩΝ

Οι βακτηριοσίνες μπορούν να βρουν εφαρμογή στη βιομηχανία τροφίμων με τρεις βασικές μεθόδους (GorrisL.G.M.*etal.* 1994). Πρώτον, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια καθαρή καλλιέργεια βιώσιμων οξυγαλακτικών βακτηρίων που παράγει βακτηριοσίνη προσφέροντας έτσι έναν έμμεσο τρόπο ενσωμάτωσης βακτηριοκινών στο τρόφιμο. Η επιτυχία αυτού του τύπου εφαρμογής εξαρτάται από την ικανότητα των βακτηρίων να αναπτυχθούν και να παράγουν βακτηριοσίνη στην απαιτούμενη έκταση υπό τις κρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία και pH). Δεύτερον, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ένα (ημι) καθαρισμένο παρασκεύασμα βακτηριοσίνης. Με αυτόν τον τρόπο, η δοσολογία της βακτηριοσίνης μπορεί να είναι πιο ακριβής και συνεπώς το αποτέλεσμα της πιο προβλέψιμο. Τέλος, μπορεί να ληφθεί ένα ακατέργαστο παρασκεύασμα βακτηριοσίνης αυξάνοντας τον πληθυσμό των βακτηρίων-παραγωγών σε ένα πολύπλοκο φυσικό υπόστρωμα (π.χ. γάλα). Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται για την παραγωγή σε βιομηχανική κλίμακα παρασκευασμάτων νισίνης. Μια καλλιέργεια βακτηρίων που παράγουν νισίνη αναπτύσσεται σε ορό γάλακτος σε βέλτιστη θερμοκρασία. Κατά τη διάρκεια της επώασης, η νισίνη αποβάλλεται στο υπόστρωμα.

Το υπόστρωμα είναι παστεριωμένο, το οποίο σκοτώνει τα βακτήρια αλλά δεν επηρεάζει τη θερμικά σταθερή νισίνη.

Ένα κατάλληλο σύστημα εφαρμογής για φυσικά αντιμικροβιακά μικροβιακής προέλευσης αναπτύχθηκε πρόσφατα για τον έλεγχο του *L. monocytogenes* σε ελάχιστα επεξεργασμένα λαχανικά [9,10]. Επομένως η κατάλληλη προστατευτική καλλιέργεια για να αναπτυχθεί και να παράγει επαρκείς ποσότητες βακτηριοσίνης, θα πρέπει να είναι καλά προσαρμοσμένη στο οικοσύστημα που χρησιμοποιείται. Οξυγαλακτικά βακτήρια εντοπίζονται στα περισσότερα, αν όχι όλα, ελάχιστα επεξεργασμένα λαχανικά. Συνήθως αντιπροσωπεύουν περίπου το 1% της φυσικής μικροχλωρίδας. Προκειμένου να ταυτοποιηθούν τα βακτηριακά στελέχη που παράγουν βακτηριοσίνες απομονώθηκε ένας μεγάλος αριθμός (890 LAB) από διαφορετικά φρέσκα λαχανικά ο οποίος εξετάστηκε ως προς την ικανότητά τους να παράγουν βακτηριοσίνες (Bennik M.H. J. *Etal.* 1999). Μόνο εννέα στελέχη μπορούσαν να αναστείλουν την ανάπτυξη του μικροοργανισμού *L. monocytogenes*, ενώ μόνο τρία βρέθηκαν να έχουν τα απαιτούμενα χαρακτηριστικά - ένα στέλεχος του *Enterococcus mundtii* και δύο στελέχη του *Pediococcus parvulus*. Και τα δύο στελέχη του γένους *Pediococcus* ήταν ικανά να παράγουν σημαντικές ποσότητες βακτηριοσίνης, η οποία ταυτοποιήθηκε και φάνηκε να είναι πανομοιότυπη με την πεδιοσίνη PA-1. Το στέλεχος *E. mundtii* παράγαγε σημαντικές ποσότητες βακτηριοσίνης σε πιο χαμηλές θερμοκρασίες. Έτσι, λοιπόν, διαφαίνεται η καταλληλότητα του μικροοργανισμού προς χρήση ως το απαιτούμενο εμπόδιο για ορισμένα ψυχοτρόπα παθογόνα. Αν κι εργαστηριακά η εφαρμογή της βακτηριοσίνης mundticin ήταν πολύ ελπιδοφόρα εν τούτοις σε φρέσκα, μη τοξικά προϊόντα, δεν βρέθηκε να ασκεί κάποια επίδραση. Η αδυναμία αυτή μπορεί να οφείλεται σε ανεπάρκεια της βακτηριοσίνης αυτής σε χαμηλές θερμοκρασίες ή σε αδρανοποίηση μετά την παραγωγή. Εφόσον διαπιστώθηκε ότι η εφαρμογή μερικώς καθαρισμένης βακτηριοσίνης καθυστερεί σημαντικά την ανάπτυξη του *L. monocytogenes*, η αδρανοποίηση μπορεί να μην είναι το πιο σημαντικό πρόβλημα.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στις προηγούμενες ενότητες εξετάστηκαν ενδελεχώς οι διάφορες τεχνικές, που λειτουργούν ως εμπόδια στη βιομηχανία τροφίμων, αποτρέποντας έτσι την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών και διασφαλίζοντας ταυτόχρονα την ασφάλεια του προϊόντος. Από τα παραδείγματα που δόθηκαν φάνηκε πως νέες, αναδυόμενες τεχνικές απολύμανσης υπόσχονται να παράγουν τρόφιμα, απαλλαγμένα από πιθανούς κινδύνους για την υγεία.

Τόσο οι φυσικοί όσο κι οι χημικοί φραγμοί αποτελούν μέρος μιας ευρύτερης προσπάθειας για την εξάλειψη παθογόνων μικροοργανισμών από τα τρόφιμα. Με πρώτη μέθοδο που εφαρμόστηκε ποτέ για την εξάλειψη των μικροοργανισμών, το μαγείρεμα, η επεξεργασία τροφίμων έχει εξελιχτεί τάχιστα ως τομέας. Η χρήση θερμικής ενέργειας είναι μια από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνολογίες. Τόσο η αυξημένη θερμοκρασία, όσο κι η εφαρμογή ραδιοκυμάτων ή μικροκυμάτων έχουν βεβαιώσει τη θετική τους επίδραση στην αναστολή της ανάπτυξης μικροοργανισμών που θα αλλοίωναν τα τρόφιμα. Επειδή όμως με τη θερμότητα μπορούν να καταστραφούν κάποιες θερμικά ευαίσθητες ουσίες που είναι ωφέλιμες για τον οργανισμό, έχουν αναπτυχθεί κι άλλες μέθοδοι διατήρησης τροφίμων. Μεταξύ αυτών η υψηλή πίεση, που μετατοπίζει την ισορροπία του pH προς τις όξινες τιμές με συνέπεια τη μικροβιακή αδρανοποίηση, η εφαρμογή παλμικών πεδίων, η ενεργότητα του νερού, η εξώθηση κι η χρήση όζοντος. Εκτός όμως φυσικών φραγμών έχει αποδειχθεί πως κι οι χημικοί φραγμοί είναι εξίσου αποτελεσματικοί στη διατήρηση και προστασία τροφίμων. Ανόργανα κι οργανικά οξέα αλλά και τα παράγωγα αυτών (κυρίως στη μορφή αλάτων) έχουν χρησιμοποιηθεί ως συντηρητικά τροφίμων με θεαματικά αποτελέσματα. Τέλος, μια σχετικά πρόσφατη ανακάλυψη στον τομέα της βιομηχανίας τροφίμων ήταν τα φυσικά αντιμικροβιακά προϊόντα, δηλαδή χημικές ενώσεις που παράγονται είτε από φυτά είτε από ορισμένα γένη βακτηρίων κι έχουν ανασταλτική προς την ανάπτυξη παθογόνων δράση. Άρα μιλάμε για μια τεράστια ποικιλία διαφορετικών μεθόδων που μπορούν να εφαρμοστούν προκειμένου να επιτευχθεί το

επιθυμητό αποτέλεσμα, δηλαδή ένα ασφαλές προϊόν στο ράφι διαθέσιμο για τον καταναλωτή.

Σε όλη την πορεία ανάπτυξης των διαφόρων τεχνικών ανέκυψαν δυστυχώς πολλά θέματα, τα οποία οδήγησαν σε καθυστέρηση εφαρμογής αυτών των τεχνικών, συμπεριλαμβανομένων κι οικονομικών ζητημάτων όπως κόστος παραγωγής, κέρδος. Η αρνητική επίδραση ορισμένων τεχνολογιών στην αισθητική, την υφή και τις διατροφικές αξίες των τροφίμων θα μπορούσαν να ξεπεραστούν χρησιμοποιώντας την τεχνολογία εμποδίων. Οι διάφοροι συνδυασμοί που έχουν εφαρμοστεί στη βιομηχανία τροφίμων έχουν βελτιώσει τα οργανοληπτικά και αισθητηριακά χαρακτηριστικά κι εξασφαλίζουν τη μικροβιακή ασφάλεια των τροφίμων. Νέες τεχνολογίες επεξεργασίας τροφίμων όπως PEF, ακτινοβόληση τροφίμων, EW (ενεργότητα νερού) , ωμική θέρμανση και HPP παρέχουν πλεονεκτήματα (μειωμένη κατανάλωση ενέργειας, μειωμένες εκπομπές, υψηλή αξιοπιστία, βελτιωμένη παραγωγικότητα και υψηλότερη ποιότητα). Χρησιμοποιώντας συνδυασμούς αυτών των τεχνικών θα μπορούσε να εξοικονομηθεί ενέργεια και βελτιωθεί σημαντικά η ασφάλεια και η ποιότητα των τροφίμων.

Ο συνδυασμός δύο ή περισσότερων τεχνικών μειώνει το κόστος απολύμανσης αλλά και την ποσότητα των απολυμαντικών που χρησιμοποιούνται, ελαχιστοποιεί τις επιπτώσεις στα προϊόντα διατροφής και πάνω απ' όλα επεκτείνει τη διάρκεια ζωής των τροφίμων. Η χρήση στρατηγικών συνδυασμού στη βιομηχανία τροφίμων έχει διερευνηθεί αρκετά. Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω εργασία ώστε να καθοριστούν οι σωστοί συνδυασμοί διαφορετικών τεχνολογιών για τη βελτίωση των συνολικών ιδιοτήτων των τροφίμων.

Το σύγχρονο σύστημα τροφίμων είναι πολύ περίπλοκο και αλλάζει συνεχώς. Κατά τη διάρκεια του περασμένου αιώνα, η επεξεργασία τροφίμων εξελίχθηκε προκειμένου τα τρόφιμα να καταστούν ασφαλή, εξαλείφοντας βασικά προβλήματα του ανθρώπινου πληθυσμού, όπως πείνα κι ασθένειες. Παράλληλα όμως βελτιώθηκε κι η ασφάλεια, ενώ αυξήθηκε η ευκολία κατεργασίας με ταυτόχρονη μείωση του κόστους. Η πρόοδος στη γεωργία και στην επιστήμη και την τεχνολογία των τροφίμων έχουν οδηγήσει σε μείωση των ασθενειών που σχετίζονται με την ανεπάρκεια θρεπτικών ουσιών. Είναι γεγονός ότι τα επιστημονικά και τεχνικά επιτεύγματα σε ολόκληρο το σύστημα τροφίμων - από τη γεωργία και την παρασκευή τροφίμων έως την προετοιμασία στο σπίτι - επιτρέπουν στους περισσότερους ανθρώπους στον ανεπτυγμένο κόσμο να έχουν εύκολη πρόσβαση σε μια ποικιλία τροφίμων που είναι ασφαλέστερη, πιο θρεπτική και

σχετικά λιγότερο δαπανηρή. Στον αναπτυσσόμενο κόσμο, αντίθετα, πολλοί άνθρωποι δεν έχουν πρόσβαση σε ασφαλή τρόφιμα.

Τα νέα εργαλεία της βιοτεχνολογίας υπόσχονται να ανταποκριθούν στις ανάγκες του ταχέως αναπτυσσόμενου παγκόσμιου πληθυσμού με μικρότερο κόστος, χάρη στη βελτίωση της απόδοσης παραγωγής φυτών, της ικανότητας καλλιέργειας σε περιβαλλοντικά ασταθείς συνθήκες και της διαθεσιμότητας και διανομής των θρεπτικών ουσιών.

Ωστόσο ένα φαινόμενο που λαμβάνει ανησυχητικές διαστάσεις στον ανεπτυγμένο κόσμο είναι δυστυχώς η παχυσαρκία. Με την επιστημονική και τεχνολογική πρόοδο, οι κατασκευαστές τροφίμων προσπαθούν να παράσχουν περισσότερες επιλογές από ό, τι ήταν διαθέσιμες πριν από χρόνια για τους καταναλωτές με προβλήματα βάρους. Αυτές οι επιλογές περιλαμβάνουν τρόφιμα και ποτά με μειωμένη θερμιδική πυκνότητα. Είναι σημαντικό να αναγνωρίσουμε ότι η παχυσαρκία είναι ένα περίπλοκο ζήτημα. Οι περαιτέρω εξελίξεις στη γονιδιωματική, τη μεταβολωμική και τη βιολογία των θρεπτικών αποτελούν υπόσχεση για την ανάπτυξη εξατομικευμένων λύσεων στην παχυσαρκία. Τέτοιες αλλαγές αναμφίβολα θα οδηγήσουν σε αλλαγές στη ρυθμιστική εποπτεία και σε νέες προσεγγίσεις στην εμπορία τροφίμων. Η γονιδιωματική θα επιτρέψει τη βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων και την προστασία από τους παθογόνους παράγοντες, μέσω διαφόρων τρόπων όπως προβιοτικά. Η νανοτεχνολογία αναμένεται να έχει ευεργετικές επιπτώσεις σε ολόκληρο το σύστημα διατροφής, από τη γεωργική παραγωγή, όπου μπορεί να επιτρέψει την ακριβέστερη διαχείριση των πόρων, στην εξατομικευμένη διατροφή, η οποία έχει δυνατότητες να ενισχύσει την παροχή και την απορρόφηση θρεπτικών ουσιών και βιοδραστικών ουσιών. Με τις συνεχιζόμενες εξελίξεις στη νανοτεχνολογία, μπορούμε να προβλέψουμε νέους μηχανισμούς ανίχνευσης και ελέγχου παθογόνων μικροοργανισμών τόσο στον τομέα της γεωργίας όσο και στον τομέα της επεξεργασίας τροφίμων. Σήμερα και στο μέλλον, το σύστημα τροφίμων πρέπει να είναι ευέλικτο και ανθεκτικό, φιλικό προς τον καταναλωτή και βιώσιμο. Πρέπει, επίσης, να εξασφαλίζει τη διατήρηση των φυσικών πόρων και να διασφαλίζει την υγεία όλο και περισσότερων καταναλωτών. Η επιστήμη και η τεχνολογία των τροφίμων μπορούν να μας βοηθήσουν να προωθήσουμε το σύστημα τροφίμων, το οποίο έχει τους λιγότερους κινδύνους και τα μέγιστα οφέλη για τον καταναλωτή προσφέροντας ασφαλή και θρεπτικά προϊόντα.

Η προγνωστική μικροβιολογία επιχειρεί να περιγράψει τις επιδράσεις των περιβαλλοντικών συνθηκών στην ανάπτυξη, την επιβίωση και το θάνατο μικροοργανισμών. Τα περισσότερα μοντέλα που χρησιμοποιήθηκαν στο παρελθόν στην προγνωστική μικροβιολογία ήταν μοντέλα αδρανοποίησης για την πρόβλεψη του

θανάτου των μικροοργανισμών, ιδιαίτερα των βακτηριακών σπορίων, μέσω θερμότητας, ακτινοβολίας κλπ. Μόνο τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν αναπτυχθεί κινητικά μοντέλα, τα οποία προβλέπουν την αύξηση της τροφικής δηλητηρίασης και πρόσφατα και των μικροοργανισμών αλλοίωσης τροφίμων. Τα κινητικά μοντέλα είναι πολύ χρήσιμα, ιδίως για την πρόβλεψη της ασφάλειας των προϊόντων ψύξης.

Η πρόβλεψη ή οι απαιτούμενοι κανόνες για τον προσδιορισμό της σταθερότητας των τροφών που έχουν κατεργαστεί με πολλαπλά εμπόδια είναι περιορισμένη, με τις εμπειρικές προσεγγίσεις να χρησιμοποιούνται κυρίως. Η πρόοδος στην μικροβιακή, τα μοντέλα πρόβλεψης, η μοριακή κινητική αλλά κι η ισχύουσα νομοθεσία των κρατών έχουν οδηγήσει στο σχεδιασμό «έξυπνων» εμποδίων. Βέβαια, χρειάζεται περαιτέρω πρόοδος για να επιτευχθεί η ανάπτυξη γενικών μοντέλων πρόβλεψης (οριακά και δυναμικά) κι η κατανόηση των μηχανισμών άμυνας των βακτηρίων απέναντι στα εμπόδια, προκειμένου να καταστεί εφικτή η ταξινόμηση των εμποδίων και των τρόπων επίθεσης των βακτηρίων σε αυτά (“Minimally Processed Foods Technologies for Safety, Quality and Convenience”, Siddiqui M., Rahman S. (Eds), 2015).

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aguilera J.M. and Chirife J. (1994) "Combined methods for the preservation of foods in Latin America and CYTED-D project", *Journal of Food Engineering*, London, v. 22, n. 1-4, p. 433-444.
- Ahmed J. and Ramaswamy H.S. (2004) "Microwave pasteurization and sterilization of foods", *Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker*, 167, 691.
- Akbas, M.Y. and Ozdemir, M. (2006) "Effectiveness of ozone for inactivation of *Escherichia coli* and *Bacillus cereus* in pistachios", *International Journal of Food Science & Technology*, 41: 513–19.
- Akey, D.H. and Walton, T.E. (1985) "Liquid-phase study of ozone inactivation of Venezuelan Equine encephalomyelitis virus", *Appl Environ Micro*, 50(4): 882–6.
- Al-Juhni A.A. and Newby B.-m. Z. (2006) "Incorporation of benzoic acid and sodium benzoate into silicone coatings and subsequent leaching of the compound from the incorporated coatings", *Progress in Organic Coatings*, 56(2), 135-145.
- Alpas H., Kalchayanand N., Bozoglu F., Sikes A., Dunne C. and Ray B. (1999) "Variation in resistance to hydrostatic pressure among strains of food-borne pathogens", *Applied and Environmental Microbiology*, 65(9), 4248-4251.
- Anderson W. (1992) "Compositions having antibacterial properties and use of such compositions in suppressing growth of micro-organisms", European Patent 0466244A1
- Angersbach A., Heinz V. and Knorr D. (2000) "Effects of pulsed electric fields on cell membranes in real food systems." *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 1(2), 135–149.
- Arnoldi A. and Merlini L. (1990) "Lipophilicity-antifungal activity relationships for some isoflavonoid phytoalexins", *J. Agr. Food Chem.* 38:834
- Banks J.G., Board R.G. and Sparks N.H.C. (1986) "Natural antimicrobial systems and their potential in food preservation of the future", *Biotechnol. Appl. Biochem.* 8:103
- Bansal B. and Chen X. D. (2006) "A critical review of milk fouling in heat exchangers" *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(2), 27-33.
- Barbosa-Canovas G.V., Medina-Meza I., Candogan K. and Bermúdez-Aguirre D. (2014) "Advanced retorting, microwave assisted thermal sterilization (MATS), and pressure assisted thermal sterilization (PATS) to process meat products", *Meat Science*, 98(3), 420-434.
- Benito A., Ventoura G., Casadei M., Robinson T. and Mackey B. (1999) "Variation in resistance of natural isolates of *Escherichia coli* O157 to high hydrostatic pressure, mild heat, and other stresses", *Applied and Environmental Microbiology*, 65(4), 1564-1569.

Bennik M.H.J., Van Overbeek W., Smid E.J. and Gorris L.G.M. (1999) "Biopreservation in modified atmosphere stored mungbean sprouts: the use of vegetable-associated bacteriocinogenic lactic acid bacteria to control the growth of *Listeria monocytogenes*", *Lett. Appl. Microbiol.* 28:226

Bignon J. (1996) "Cold pasteurizers hyperbar for the stabilization of fresh fruit juices." *Fruit processing*, 6, 46-49.

Blackburn P., Polak J., Gusik S.A. and Rubino S.(1990) "Novel bacteriocin compositions for use as enhanced broad range bactericides and methods of prevention and treating microbialinfection", U.S. Patent WO 90/09739

Blackburn P., Polak J., Gusik S.A. and Rubino S. (1989) "Nisin composition for use as enhanced, broad range bactericides", U.S. Patent WO 89/1239

Blackburn R.S., Harvey A., Kettle L.L., Payne J.D. and Russell S.J. (2006) "Sorption of poly (hexamethylenebiguanide) on cellulose: Mechanism of binding and molecularrecognition." *Langmuir*, 22(13), 5636-5644.

Bohlmann H. and Apel K. (1991) "Thionins", *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42:227

Bowles D.J.(1990) "Defense-related proteins in higher plants", *Ann. Rev. Biochem.* 59:873

Brandt A.L., Castillo A., Harris K.B., Keeton J.T., Hardin M.D. and Taylor T.M.(2011) "Synergistic inhibition of *Listeria monocytogenes* in vitro through the combination of octanoic acid and acidic calcium sulfate", *Journal of Food Protection*, 74(1), 122-125.

Burdock G.A. (1997) *Encyclopedia of food & color additives*, CRC Press.

Chandrasekaran S., Ramanathan S. and Basak T. (2013) "Microwave food processing - a review", *Food Research International*, 52(1), 243-261.

Cho H.Y., Yousef A.E. and Sastry S.K. (1999)"Kinetics of inactivation of *Bacillus subtilis* spores by continuous or intermittent ohmic and conventional heating", *Biotechnology and Bioengineering*. 62(3): 368-372

Chung H.-J. and Yousef A E. (2010) "Synergistic effect of high pressure processing and *Lactobacillus casei* antimicrobial activity against pressure resistant *Listeria monocytogenes*", *New Biotechnology*, 27(4), 403-408.

Cinquanta L., Albanese D., Cuccurullo G. and Di Matteo M. (2010)"Effect on orange juice of batch pasteurization in an improved pilot-scale microwave oven", *Journal of Food Science*, 75(1), E46-E50.

Clydesdale F.M. (1989)"Present and future of food science and technology in industrialized countries", *Food Technol* 43(9):134-46.

Cunningham E., O'Byrne C. and Oliver, J. D. (2009) "Effect of weak acids on *Listeria monocytogenes* survival: Evidence for a viable but non culturable state in response to low pH", *Food Control*, 20(12), 1141-1144.

Das E., Gürakan, G. C. and Bayındırlı A. (2006) „Effect of controlled atmosphere storage, modified atmosphere packaging and gaseous ozone treatment on the survival of *Salmonella enteritidis* on cherry tomatoes", *Food Microbiology*, 23(5), 430-438.

Deans S.G. and Svoboda K.P. (1990) "Biotechnology and bioactivity of culinary and medicinal plants", *Ag. Biotechnol. News Inform.* 2:211

Dolezalkova I., Janis R., Bunkova, L., Slobodian P. and Vícha R. (2013) "Preparation, characterization and antibacterial activity of 1-monoacylglycerol of adamantane-1-carboxylic acid", *Journal of Food Biochemistry*, 37(5), 544-553.

El'Yanov B.S. and Haman S.D. (1975) „Some quantitative relationships for ionization reactions at high pressure", *Australian Journal of Chemistry*, 28, 945–954.

El-Kest S.E., Marth E.H. (1992) "Freezing of *Listeria monocytogenes* and other microorganisms: a review", *Journal of Food Protection* 55, 639– 648.

Erickson M.C. and Hung Y-C. (1997) *Quality in frozen food*. United Kingdom: Chapman & Hall. 454 p.

Farag R.S., Daw Z.Y., Hewedi F.M. and El-Baroty G.S.A. (1989) "Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils", *J. Food Prot.* 52:665

Floros J. (2004) "Food and diet in Greece from ancient to present times", Proceedings of the Indigenous Knowledge Conference. May 27–29, 2004. PennStater Conference Center, Pennsylvania State University, University Park, PA. p 5.

Floros J. (2008). "Food science: feeding the world." *Food Technol* 62(5):11

Franco L., Fondevila M., Lobera M. and Castrillo C. (2005) "Effect of combinations of organic acids in weaned pig diets on microbial species of digestive tract contents and their response on digestibility", *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 89(3-6), 88-93.

Fryer, P.J. and Li Z. (1993) "Electrical resistance heating of foods", *Journal of Food Science and Technology*. 4: 364-369

Gonzalez-Fandos E. and Herrera B. (2014) "Efficacy of acetic acid against *Listeria monocytogenes* attached to poultry skin during refrigerated storage", *Foods*, 3(3), 527-540.

Gorris L.G.M. and Bennik M.H.J. (1994) "Bacteriocins for food preservation", *Int. Z. Lebensm. Technol. Verfahrenstech. (ZFL)* 45(11):65

Gyawali R., Ibrahim S. A., Abu Hasfa S. H., Smqadri S. Q. and Haik Y. (2011). "Antimicrobial activity of copper alone and in combination with lactic acid against *Escherichia coli* O157: H7 in laboratory medium and on the surface of lettuce and tomatoes." *Journal of Pathogens*

Hall R.L. (1989). "Pioneers in food science and technology: giants in the earth", *Food Technol* 43(9):186–95.

Hanlin M.B., Kachayanand N., Ray P. and Ray B. (1993) "Bacteriocins of lactic acid bacteria in combination have greater antibacterial activity", *J. Food Prot.* 56:252

Harris L.J., Fleming H.P. and Klaenhammer T.R. (1992) "Novel paired starter culture system for sauerkraut, consisting of a nisin-resistant *Leuconostoc mesenteroides* strain and a nisin-producing *Lactococcus lactis* strain", *Appl. Environ. Microbiol.* 58:1484

He C.-L., Fu B.-D., Shen H.-Q., Jiang X.-L. and Wei X.-B. (2013), "Fumaric acid, an antibacterial component of Aloe vera L.", *African Journal of Biotechnology*, 10(15), 2973-2977.

Hennlich W. (1996) „Sicherer Hygieneschutz. Leistungsanforderungen an Schutzkulturen in Feinkostsalaten“. Teil 1, *Lebensmitteltechnik* 27(4):51

Ic E., Kottapalli B., Maxim J. and Pillai S. D. (2007) "Electron beam radiation of dried fruits and nuts to reduce yeast and mold bioburden", *Journal of Food Protection*, 70(4), 981-985.

Ishizaki K., Shinriki N. and Matsuyama H. (1986) Inactivation of *Bacillus* spores by gaseous ozone, *J. Appl. Bacteriol.*, 60(1): 67–72.

Jemai AB. and Vorobiev E. (2002) "Effect of moderate electric field pulse (MEFP) on the diffusion coefficient of soluble substances from apple slices" *International Journal of Food Science and Technology* 37, 73–86.

Jeong S.-G. and Kang D.-H. (2014) "Influence of moisture content on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in powdered red and black pepper spices by radio-frequency heating", *International Journal of Food Microbiology*, 176, 15-22.

Jimenez S., Calusco M., Tiburzi M., Salsi M. and Pirovani M. (2007) "Predictive models for reduction of *Salmonella* Hadar on chicken skin during single and double sequential spraying treatments with acetic acid", *Journal of Applied Microbiology*, 103(3), 528-535.

Juneja V.K., Martin S.T. and Sapers G.M. (1998) "Control of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged pre-peeled potatoes." *Journal of Food Science*, 63(5), 911-914.

Kalchayanand N, Sikes A, Dunne CP, Ray B. (1998) "Interaction of hydrostatic pressure, time and temperature of pressurization and pediocin AcH on inactivation of foodborne bacteria", *J Food Prot.* Apr;61(4):425-31

Khadre M.A., Yousef A.E. and Kim J.G. (2001) Microbiological aspects of ozone applications in food: a review, *Journal of Food Science*, 66: 1242–52.

Khan I., Tango C.N., Miskeen S., Lee B.H., Oh D.H. (2016) "Hurdle technology: A novel approach for enhanced food quality and safety-A review" *Food Control*

Khan I., Tango C.N., Miskeen S., Lee B.H., Oh D.H.(2017) "Hurdle technology: A novel approach for enhanced food quality and safety - A review"*Food Control* 73 1426-1444

Kim C.K., Gentile D.M. and Sproul O.J. (1980) "Mechanism of ozone inactivation of bacteriophage f2", *Appl Environ Micro*, 39: 210–18.

Kim K. Y., Davidson P. M. and Chung H. J. (2001)"Antibacterial activity in extracts of *Camellia japonica* L. petals and its application to a model food system", *Journal of Food Protection*, 64(8), 1255-1260.

Kim Y., Kim M. and Song K. B. (2009) "Combined treatment of fumaric acid with aqueous chlorine dioxide or UV-C irradiation to inactivate *Escherichia coli*O157: H7, *Salmonella entericaserovar Typhimurium*, and *Listeria monocytogenes* inoculated on alfalfa and clover sprouts", *LWT-Food Science and Technology*, 42(10), 1654-1658.

Kogelschatz, U. (1988) "Advanced ozone generation, in Stucki", S. (ed) *Process Technologies for Water Treatment*, New York, NY: Plenum Publishers, pp. 87–120.

Kotzekidou P. and Bloukas J.G. (1996) "Effect of protective cultures and packaging film permeability on shelf life of slice vacuum packed cook ham", *Meat Sci.* 42:333

Kozempel M.F., Annous B.A., Cook, R.D., Scullen O. and Whiting, R. C. (1998)"Inactivation of microorganisms with microwaves at reduced temperatures",*Journal of Food Protection*, 61(5), 582-585.

Kuan Y-H., Bhat R., Patras A. and Karim A.A. (2013) "Radiation processing of food proteins - a review on the recent developments" *Trends in Food Science &Technology*, 30(2), 105-120.

Lacroix M., and Ouattara B. (2000) "Combined industrial processes with irradiation to assure innocuity and preservation of food products - a review" *Food Research International*, 33(9), 719-724.

Laycock L., Piyasena P. and Mittal G. (2003) "Radio frequency cooking of ground, comminuted and muscle meat products" *Meat Science*, 65(3), 959-965.

Leistner L., Vukovic I. and Dresel J. "SSP: meat products with minimal nitrite addition, storable without refrigeration." Proceedings of 26th Europ.Meeting Meat Res. Workers, Colorado Springs, Colorado, 1980, vol. II, pp. 230–233.

Leistner, L. (1985) "Hurdle technology applied to meat products of the shelf stable product and intermediate moisture food types", In Properties of water in foods (pp. 309-329). Springer

Liu T., Li L., Zhan G., Li T., Zhang F. and Wang, Y. (2014). „Postharvest propionic acid and hot water treatment for the control of black spot disease in chinese ya pears", *Advance Journal of Food Science & Technology*, 6(2), 265.

Lovic P. (1987) "Perception of risk" *Science* 236:280–5.

Luchansky J. (1992) "Genomic analysis of *Pediococcus* starter cultures used to control *Listeria monocytogenes* in turkey summer sausage", *Appl. Environ. Microbiol.* 58:3053

Lund B.M. (2000) Freezing. In: Lund B.M., Baird Parker T.C., Gould G.W. (Eds.), *The Microbiological Safety and Quality of Food*, vol. I. Aspen Publishers, Gaithersburg, MD, pp. 122–145.

Lund M. and Lyon G.D. (1975) "Detection of inhibitors of *Erwinia carotovora* and *E. herbicola* on thin layer chromatograms" *J. Chromatogr.* 110:193

Mahto R., Ghosh S., Das M.K. and Das M. (2015) „Effect of gamma irradiation and frozen storage on the quality of fresh water prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) and tiger prawn (*Penaeus monodon*)." *LWT-Food Science and Technology*, 61(2), 573-582.

Maktabi S., Watson I. and Parton R. (2011) "Synergistic effect of UV, laser and microwave radiation or conventional heating on *E. coli* and on some spoilage and pathogenic bacteria", *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(2), 129-134.

Mallet C.P. (1993) "Frozen food technology", New York: Chapman & Hall. 339 p.

Mallidis C. and Drizou D. (1991) "Effect of simultaneous application of heat and pressure on the survival of bacterial spores", *Journal of Applied Bacteriology*, 71(3), 285-288.

Mathys A., Kallmeyer R., Heinz V. and Knorr D. (2008) „Impact of dissociation equilibrium shift on bacterial spore inactivation by heat and pressure ", *Food Control*, 19(12), 1165–1173.

Metcalf D. D., Sampson H. A. and Simon R. A. (2011). "Food allergy: Adverse reactions to foods and food additives." John Wiley & Sons.

- Molatova Z., Skrivanova E., Macias B., McEwan, N., Brezina, P. and Marounek M. (2010) "Susceptibility of *Campylobacter jejuni* to organic acids and monoacylglycerols", *Folia Microbiologica*, 55(3), 215-220.
- Mroz Z. (2005) "Organic acids as potential alternatives to antibiotic growth promoters for pigs", *Advances in Pork Production*, 16, 169-182.
- Naito S. and Takahara H. (2006) Ozone contribution in food industry in Japan, *Ozone: Science & Engineering*, 28, 425–9.
- Neuman R.C., Kauzmann W. and Zipp A. (1973) „Pressure dependence of weak acid ionization in aqueous buffers." *The Journal of Physical Chemistry*, 77(22), 2687–2691.
- Nychas G.J.E. "Natural antimicrobials from plants" In *New Methods of Food Preservation* (G. W. Gould, Ed.), Blackie Academic, London, 1995, p. 58.
- Oey I., Van der Plancken I., Van Loey A. and Hendrickx M. (2008). „Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems?" *Trends in Food Science & Technology*, 19(6), 300-308.
- of ozone, dimethyl dicarbonate, and hydrogen peroxide", *Journal of Food Science*, 70(4): 197–201.
- Ogden S.K., Taylor A.J., Dodd, C. E., Guerrero I., Buendia H.E. and Gallardo F. (1996) "The effect of combining propionic and ascorbic acid on the keeping qualities of fresh minced pork during storage", *LWT-Food Science and Technology*, 29(3), 227-233.
- Orsat V., Bai L. and Raghavan G. (1999) "Radio-frequency pasteurization of ham to enhance shelf life in vacuum packaging", In ASAE annual international meeting
- Park J.I., Grant C.M., Davies M.J., Dawes I.W., (1998) "The cytoplasmic Cu, Zn superoxide dismutase of *Sacharromyces cerevisiae* is required for resistance to freeze –thaw stress: generation of free radicals during freezing and thawing." *Journal of Biological Chemistry* 273, 22921– 22928.
- Paster N., Juven B.J., and Harshemesh H.(1988) "Antimicrobial activity and inhibition of aflatoxin B1 formation by olive plant tissue constituents", *J. Appl. Bacteriol.* 64:293
- Pereira R. and Vicente A. (2010) "Environmental impact of novel thermal and non – thermal technologies in food processing", *Food Research International*, 43(7), 1936-1943.
- Pereira R., Martins J., Mateus C., Teixeira J.A. and Vicente, A.A.(2007) "Death kinetics of *Escherichia coli* in goat milk and *Bacillus licheniformis* in cloudberry jam treated by ohmic heating" , *Chemical Papers*. 61(2): 121-126.

Phenolics (J. B. Harborne, Ed.), Academic Press, London (1989) p. 421.

Picouet P.A., Fernández A., Serra X., Suñol J.J. and Arnau J. (2007). "Microwave heating of cooked pork patties as a function of fat content." *J Food Sci. Mar*;72(2):E57-63.

Piyasena P., Dussault C., Koutchma T., Ramaswamy H. and Awuah G. (2003) "Radio frequency heating of foods: Principles, applications and related properties – a review" *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43(6), 587- 606.

Purdy D., Cawthraw S., Dickinson J.H., Newell D.G., Park, S.F. (1999). "Generation of a superoxide dismutase (SOD)-deficient mutant of *Campylobacter coli*: evidence for the significance of SOD in *Campylobacter* survival and colonization." *Applied and Environmental Microbiology* 65, 2540–2546.

Qin B.L., Zhang Q., Swanson B.G. and Pedrow P.D. (1994) "Inactivation of microorganisms" Rahman, M. S. (1999) *Handbook of Food Preservation*. CRC Press.

Rathgeber B.M. and Waldroup A L. (1995). "Antibacterial activity of a sodium acid pyrophosphate product in chiller water against selected bacteria on broiler carcasses." *Journal of Food Protection*, 58(5), 530-534.

Reddy N., Solomon H., Fingerhut G., Rhodehamel E., Balasubramaniam V. and Palaniappan S. (1999) "Inactivation of *Clostridium botulinum* type E spores by high pressure processing" *Journal of Food Safety*, 19(4), 277-288.

Restaino L., Frampton E.W., Hemphill J.B. and Palnikar P. (1995) "Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms", *Applied and Environmental Microbiology*, 61(9): 3471–5.

Rovere P., Gola S., Maggi A., Scaramuzza N. and Miglioli L. (1998) "Studies on bacterial spores by combined high pressure-heat treatments: Possibility to sterilize low acid foods", *Special Publication-Royal Society of Chemistry*, 222, 354-363.

Sallam K.I. and Samejima K. (2004) "Effects of trisodium phosphate and sodium chloride dipping on the microbial quality and shelf life of refrigerated traypackaged chicken breasts", *Food Science and Biotechnology*, 13(4), 425.

Sanchez-Moreno C., Plaza L., Elez-Martínez P., De Ancos B., Martín-Belloso O. and Cano M. P. (2005) "Impact of high pressure and pulsed electric fields on bioactive compounds and antioxidant activity of orange juice in comparison with traditional thermal processing" *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11), 4403-4409.

Sarjit A. and Dykes G.A. (2016) "Antimicrobial activity of trisodium phosphate and sodium hypochlorite against *Salmonella* biofilms on abiotic surfaces with and without soiling with chicken juice", *Food Control* (in press).

- Sastry S.K. (1992) "A model for heating of liquid-particle mixtures in continuous flow ohmic heater", *Journal of Food Process Engineering*. 15: 263-278
- Sastry S.K. and Palaniappan S. (1992a) "Influence of particle orientation on the effective electrical resistance and ohmic heating rate of a liquid-particle mixture", *Journal of Food Process Engineering*. 15: 213-227.
- Schillinger U., Kaya M. and Luecke F.K. (1991) "Behaviour of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by a bacteriocin-producing strain of *Lactobacillus sakei*", *Appl. Bacteriol.* 70:473
- Shaheen M.S., El-Ghorab A.H., Anjum F.M. and El-Massry K.F. (2012) "Microwave applications in thermal food processing", *INTECH Open Access Publisher*.
- Shearer A.E., Dunne C.P., Sikes A., Hoover D.G. (2000) "Bacterial spore inhibition and inactivation in foods by pressure, chemical preservatives and mild heat", *J Food Prot.* Nov;63(11):1503-10.
- Shenga E., Singh R. and Yadav A. (2010) "Effect of pasteurization of shell egg on its quality characteristics under ambient storage", *Journal of Food Science and Technology*, 47(4), 420-425.
- Siddiqui M. "Minimally Processed Foods Technologies for Safety, Quality and Convenience", Rahman S. (Eds), 2015
- Singh S. and Shalini R. (2016) "Effect of Hurdle Technology in Food Preservation: A Review", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56:4, 641-649
- Singha P.K., Verma A.K., Ranjan R., Singh T.P., Kumar D. and Kumar P. (2015) "Non thermal preservation of meat by irradiation: A review" *Journal of Food Research and Technology*, 3(1), 07-13. January-March.
- Sivakumar D., Arrebola E. and Korsten L. (2008) "Postharvest decay control and quality retention in litchi (cv. McLean's Red) by combined application of modified atmosphere packaging and antimicrobial agents", *Crop Protection*, 27(8), 1208-1214.
- Slovic P. (1987) "Perception of risk", *Science* 236:280-5.
- Smith B.D. (1998) "The emergence of agriculture", Scientific American Library. New York: WH Freeman and Company. 232 p.
- Stecchini M.L., Aquili V. and Sarais I. (1995) "Behavior of *Listeria monocytogenes* in mozzarella cheese in presence of *Lactococcus lactis*", *Int. J. Food Microbiol.* 25:301
- Stevens K.A., Sheldon B.W., Klapes N.A. and Klaenhammer T.R. (1991) "Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other Gram-negative bacteria", *Appl. Environ. Microbiol.* 58:3613

Stintzi A., Heitz T., Prasad V., Wiedemann-Merdinoglu S., Kauffmann S., Geoffroy P., Legrand M. and Fritig B. (1993). "Plant pathogenesis-related proteins and their role in defense against pathogens", *Biochimie* 75:687

Sun H. X., Kawamura S., Himoto J. I., Itoh K., Wada T. and Kimura T. (2008) "Effects of ohmic heating on microbial counts and denaturation of proteins in milk", *Food Science and Technology Research*. 14:117-123

Tan S. M., Lee S. M. and Dykes G. A. (2015), "Acetic acid induces pH-independent cellular energy depletion in *Salmonella enterica*", *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(3), 183-189.

Tangwatcharin P. and Khopaibool P. (2012) "Activity of virgin coconut oil, lauric acid or monolaurin in combination with lactic acid against *Staphylococcus aureus*", *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health*, 43(4), 969-985.

Taoukis P., Panagiotidis P., Stoforos N., Butz P., Fister H. and Tauscher B. (1998) "Kinetics of vitamin C degradation under high pressure-moderate temperature processing in model systems and fruit juices" (Vol. 222, pp. 310-316). Special Publication-Royal Society of Chemistry.

Tassou C.C. and Nychas G.J.E. (1995) Antimicrobial activity of the essential oil of mastic gum (*Pistacia lentiscus* var. *chia*) on Gram positive and Gram negative bacteria in broth and in model food system, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 36:411

Thormar H., Hilmarsson H. and Bergsson G. (2006) "Stable concentrated emulsions of the 1-monoglyceride of capric acid (monocaprin) with microbicidal activities against the food-borne bacteria *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp. *Escherichia coli*", *Applied Environmental Microbiology*, 72(1), 522-526.

Ting E. and Balasubramaniam V. (2002) "Determining thermal effects in high pressure processing", *Food Technology*, 56(2), 31-35.

Ukuku D.O., Geveke D.J., Cooke P. and Zhang, H.Q. (2008) "Membrane damage and viability loss of *Escherichia coli* K-12 in apple juice treated with radio frequency electric field" *Journal of Food Protection*, 71(4), 684-690.

Van Etten H.D. (1976) "Antifungal activity of pterocarpan and other selected isoflavonoids", *Phytochemistry* 15:655

Van Loey A., Ooms V., Weemaes C., Van den Broeck I., Ludikhuyze L., Indrawati *et al.* (1998) "Thermal and pressure-temperature degradation of chlorophyll in broccoli (*Brassica oleracea* L. italica) juice: A kinetic study", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(12), 5289-5294.

Vasseur C., Rigaud N., Hebraud M. and Labadie J. (2001) "Combined effects of NaCl, NaOH, and biocides (monolaurin or lauric acid) on inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas* spp.", *Journal of Food Protection*, 64(9), 1442-1445.

Vaughan E.E., Caplice E. , Looney R. , O'Rourke N. , Coveney H. , Daly C. and Fitzgerald G.F.(1994) "Isolation from food sources, of lactic acid bacteria that produced antimicrobials", *J. Appl. Bacteriol.* 76:118

Vega-Gálvez A, Miranda M, Aranda M, Henriquez K, Vergara J, Tabilo-Munizaga G, Pérez-Won M. (2011) "Effect of high hydrostatic pressure on functional properties and quality characteristics of Aloe vera gel (*Aloe barbadensis* Miller)", *Food Chem.* Dec 1; 129(3):1060-5.

Wang L.L., Yang B.K., Parkin K.L. and Johnson E.A. (1993) "Inhibition of *Listeria monocytogenes* by monoacylglycerols synthesized from coconut oil and milkfat by lipase-catalyzed glycerolysis", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41(6), 1000-1005.

Wang Y., Wig T.D., Tang J. and Hallberg L.M. (2003) "Dielectric properties of foods relevant to RF and microwave pasteurization and sterilization", *Journal of Food Engineering*, 57(3), 257-268.

Ward H. M. (1905) "Recent researches on parasitism of fungi", *Ann. Bot.* 19:1

Wessels S. and Huss H.H. (1996) "Suitability of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 11454 as a protective culture for lightly preserved fish products", *Food Microbiol.* 13:323

Williams C.A. and Harborne J.B. "Isoflavonoids", In *Methods in Plant Biochemistry Vol. I. Plant*

Williams R.C, Sumner S.S. and Golden D.A. (2005) "Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in apple cider and orange juice treated with combinations of ozone, dimethyl dicarbonate, and hydrogen peroxide", *Journal of Food Science*, 70(4), M197-M201.

Wrangham R. (2009) "Catching fire: how cooking made us human", New York: Basic Books. 320 p.

Xu H., Lee H.-Y. and Ahn J. (2009) "High pressure inactivation kinetics of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in milk, orange juice, and tomato juice", *Food Science and Biotechnology*, 18(4), 861-866.

Yoon K. and Oscar T. (2002) "Survival of *Salmonella Typhimurium* on sterile ground chicken breast patties after washing with salt and phosphates and during refrigerated and frozen storage", *Journal of Food Science*, 67(2), 772-775.

Zhao Y., Flugstad B., Kolbe E., Park J.W. and Wells J.H. (2000) "Using capacitive (radio frequency) dielectric heating in food processing and preservation – a review", *Journal of Food Process Engineering*, 23(1), 25-55.

Zottola E.A., Yezzi T.L., Ajao D.B. and Roberts R.F. (1994) "Utilization of cheddar cheese containing nisin as an antimicrobial agent in other foods", *Int. J. Food Microbiol.* 24:227