

MARTA DUDA, BARBARA SOKOŁOWSKA

METODY DEZYNFEKCYJ MARCHWI I INNYCH WARZYW KORZENIOWYCH

Streszczenie

Mikroorganizmy znajdujące się na powierzchni owoców i warzyw pochodzą nie tylko ze środowiska naturalnego, ale również z każdego etapu łańcucha żywnościowego, jakiemu są one poddawane (przetwarzanie, pakowanie, transport). W zakładach przemysłowych mycie i dezynfekcja surowców przeznaczonych do bezpośredniego spożycia lub produkcji soków niepasteryzowanych jest zwykle jedynym etapem, w którym można zredukować liczbę mikroorganizmów zanieczyszczających i patogennych. Szczególną uwagę należy zwrócić na warzywa korzeniowe, ponieważ ich części jadalne mają bezpośredni kontakt z glebą, która jest siedliskiem wielu różnych grup drobnoustrojów. W przemyśle owocowo-warzywnym jako dezynfektant najczęściej stosuje się podchloryn sodu, który mimo wysokiej skuteczności ma też wiele wad: powoduje korozję urządzeń, niekorzystnie wpływa na wygląd, smak i zapach warzyw, przyczynia się do powstawania niebezpiecznych trihalometanów. W artykule przedstawiono alternatywne dla podchlorynu sodu substancje stosowane do dezynfekcji warzyw korzeniowych, głównie marchwi, jako ważnego surowca w polskim przemyśle sokowniczym. Przedstawiono przegląd literaturowy dotyczący takich związków, jak kwaśny chloryn sodu, dwutlenek chloru, nadtlenuk wodoru, kwas nadoctowy, woda elektrolizowana i ozon. Przedstawiono ich właściwości przeciwdrobnoustrojowe wobec drożdży, pleśni, bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich, a także wady, zalety, mechanizm działania oraz wpływ na cechy sensoryczne i przedłużenie trwałości warzyw. Wśród opisanych dezynfektantów na uwagę zasługują woda elektrolizowana i kwaśny chloryn sodu ze względu na swą wysoką skuteczność działania oraz brak negatywnego wpływu na tkanki warzyw, środowisko i organizm człowieka.

Słowa kluczowe: marchew, dezynfekcja, podchloryn sodu, kwaśny chloryn sodu, woda elektrolizowana

Wprowadzenie

Współczesny konsument jest świadomy, jak ważne dla zdrowia jest codzienne spożywanie warzyw i owoców w różnej postaci, głównie świeżych i mało przetworzo-

Mgr inż. M. Duda, dr hab. inż. B. Sokołowska, prof. nadzw., Zakład Mikrobiologii, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego w Warszawie, ul. Rakowiecka 36, 02-532 Warszawa. Kontakt: marta.duda@ibprs.pl

nych, np. niepasteryzowanych świeżo wyciskanych soków (jednodniowych) oraz surowek. Produkty niepoddawane obróbce cieplnej stanowią jednak źródło różnego rodzaju mikroorganizmów (drożdży, pleśni, bakterii fermentacji mlekowej), które powodują psucie się produktów w czasie przechowywania. Mogą one zawierać także bakterie patogenne. Na szczególną uwagę zasługują warzywa korzeniowe, których części jadalne mają bezpośredni kontakt z glebą. Na owocach i warzywach znajdują się drobnoustroje pochodzące nie tylko ze środowiska naturalnego, ale również od ludzi i zwierząt, które dostają się na ich powierzchnię na każdym etapie łańcucha żywnościowego (przetwarzania, pakowania, transportu). Najczęściej występującymi patogenami są bakterie *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni* [11, 14]. Oprócz nich warzywa mogą być również zasiedlane przez drożdże i grzyby pleśniowe wytwarzające mikotoksyny lub powodujące psucie się tkanki roślinnej podczas przechowywania, np. na marchwi mogą rozwijać się pleśnie z rodzaju *Alternaria* [4].

W badaniach przeprowadzonych w Instytucie Warzywnictwa w 2010 roku wykazano, że na warzywach korzeniowych pochodzących z polskich upraw, zarówno konwencjonalnych, jak i ekologicznych, znajdowały się znaczne liczby kolonii mikroorganizmów. Z 1 ml zhomogenizowanej zawiesiny próbek marchwi izolowano $10^6 \div 10^7$ jtk bakterii, $10^4 \div 10^5$ jtk drożdży i pleśni, do 10^5 jtk bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, do 10^3 jtk bakterii z grupy coli, przy czym większym stopniem zanieczyszczenia charakteryzowały się warzywa uprawiane ekologicznie [21].

W 2015 roku tylko 0,2 % próbek warzyw RTE (*ready-to-eat*) przebadanych w Unii Europejskiej było niezgodnych z kryteriami dotyczącymi obecności bakterii z rodzaju *Salmonella* w żywności, natomiast wszystkie próbki owoców gotowych do spożycia i niepasteryzowanych soków były zgodne z tymi wymaganiami. Obecność bakterii *Listeria monocytogenes* wykryto w 2,3 % próbek sałatek RTE oraz w 1,4 % próbek owoców i warzyw RTE i była to wartość dwukrotnie niższa niż w roku 2014. W 0,1 % próbek owoców i warzyw RTE wykryto również, podobnie jak w poprzednich latach, obecność bakterii werotoksycznych *E. coli*. Według EFSA w 2015 roku 1,6 % zatruc pokarmowych wywołanych przez bakterie *Salmonella* sp. miało miejsce po spożyciu owoców, warzyw i soków [3].

W zakładach przemysłowych mycie i dezynfekcja warzyw i owoców gotowych do spożycia lub przeznaczonych do produkcji soków najczęściej jest jedynym etapem, w którym można zredukować liczbę drobnoustrojów szkodliwych i patogennych. Nie jest możliwe ich całkowite wyeliminowanie, dlatego tak ważne jest zminimalizowanie zanieczyszczenia mikrobiologicznego produktu, by wydłużyć okres jego przechowywania i by stał się on bardziej bezpieczny dla konsumenta. FDA uznaje za skuteczny ten proces, który pozwala na redukcję liczby mikroorganizmów mogących występować w sokach i zagrażających zdrowiu człowieka rzędu 5 log [5]. Odpowiedni dezynfektant

nie powinien powodować większych zmian sensorycznych w produkcji, ponieważ mogą się one jeszcze pogłębić podczas przechowywania warzyw, a – jak wiadomo – ich wygląd i barwa odgrywają kluczową rolę w podejmowaniu decyzji o zakupie [8, 16].

Najczęściej stosowanymi środkami odkażającymi w przemyśle owocowo-warzywnym są substancje zawierające chlor, ponieważ są tanie, łatwe w użyciu, mają wysoką skuteczność i całkowicie rozpuszczają się w wodzie, nie są one jednak obojętne dla zdrowia ludzi, środowiska i jakości sensorycznej mytych warzyw [18]. W artykule omówiono wady i zalety kilku obecnie stosowanych środków odkażających w aspekcie możliwości ich zastosowania do dezynfekcji warzyw korzeniowych.

Podchloryn sodu

Zalecane stężenie podchlorynu sodu (NaClO) stosowane do dezynfekcji świeżych warzyw wynosi 50 ÷ 200 mg/l, jednak środek ten ma ograniczoną skuteczność działania, co wynika przede wszystkim z porowatej struktury i nierównej powierzchni produktu oraz obecności znacznej ilości materii organicznej w wodzie recyrkulowanej stosowanej do mycia. Wysokie stężenia podchlorynu sodu mogą niekorzystnie wpływać na wygląd warzyw, powodować korozję urządzeń i odkładanie się sodu na powierzchni produktów. Ponadto chlor reaguje ze związkami fenolowymi, tworząc chlorofenole nadające produktowi nieprzyjemny smak i zapach. Jednak największą wadą stosowania NaClO są podrażnienia skóry i układu oddechowego, a także powstawanie w wyniku reakcji chloru ze związkami organicznymi niebezpiecznych dla zdrowia trihalometanów [14, 18, 19, 20].

Skuteczność dezynfekcji warzyw korzeniowych za pomocą podchlorynu sodu była przedmiotem wielu badań. Umożliwia on redukcję liczby wielu gatunków drobnoustrojów w zależności od zastosowanych stężeń (tab. 1). Efektywność działania podchlorynu sodu silnie zależy również od czasu kontaktu z produktem, temperatury i rodzaju wody – wykazuje on zdecydowanie lepsze działanie bakteriobójcze w wodzie wodociągowej, która w odróżnieniu od recyrkulowanej wody technologicznej zawiera mało materii organicznej. Ponadto przechowywanie w warunkach chłodniczych próbek warzyw dezynfekowanych podchlorynem sodu prowadzi do zmiany ich barwy i obniżenia ogólnej akceptowalności [14, 16, 17].

Nawet jeśli wyniki badań skuteczności działania tego związku są pozytywne, większość z nich odnosi się jednak do wyższych, a więc bardziej szkodliwych stężeń NaClO, a kilkudniowe przechowywanie produktu często niweluje tę skuteczność. Dlatego też trwają poszukiwania innych substancji służących do dezynfekcji owoców i warzyw, które byłyby bezpieczne dla organizmu oraz środowiska, a także tanie, skuteczne w małych dawkach i umożliwiały dłuższe przechowywanie świeżych warzyw czy soków.

Tabela 1. Redukcja liczby wybranych mikroorganizmów podczas dezynfekcji warzyw korzeniowych przy użyciu NaClO

Table 1. Reduction of number of selected microorganisms during disinfection of root vegetables with NaClO

Mikroorganizm Microorganism	Redukcja Reduction [log]	Rodzaj warzywa Type of vegetable	Warunki dezynfekcji (czas, stężenie) / Disinfection condi- tions (time, concentration)	Źródło Reference
Bakterie tlenowe mezofilne / Aerobic mesophilic bacteria	2,6	seler / celery	5 min, 100 mg/l	[11]
	1,8	marchew / carrot	3 - 5 min, 100 mg/l	[16]
	1	marchew / carrot	2 min, 200 mg/l	[17]
<i>Bacillus cereus</i>	> 5	marchew / carrot	5 min, 100 mg/l	[14]
<i>Campylobacter jejuni</i>	1	marchew / carrot	5 min, 100 mg/l	[14]
<i>Escherichia coli</i>	2,6 ÷ 4	marchew / carrot	5 - 15 min, 50 ÷ 200 mg/l	[2]
	2,6	seler / celery	5 min, 100 mg/l	[11]
	2,3	marchew / carrot	3 min, 100 mg/l	[16]
	1 ÷ 3	marchew / carrot	2 min, 200 mg/l	[17]
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,7 ÷ 1,9	marchew / carrot	5 - 10 min, 100 mg/l	[14]
	2,1	marchew / carrot	3 min, 100 mg/l	[16]
	1 ÷ 2,3	marchew / carrot	2 min, 200 mg/l	[17]
<i>Salmonella</i> spp.	2,8	seler / celery	5 min, 100 mg/l	[11]
	2 ÷ 3,2	marchew / carrot	5 - 10 min, 100 mg/l	[14]
	1,5 ÷ 3	marchew / carrot	2 min, 200 mg/l	[17]
Drożdże i pleśnie Yeasts and moulds	1,8	marchew / carrot	3 - 5 min, 100 mg/l	[16]

Kwaśny chloryn sodu

Kwaśny chloryn sodu (ASC – *acidified sodium chlorite*) otrzymuje się poprzez zmieszanie chlorynu sodu z kwasem organicznym dopuszczonym do stosowania w żywności (np. cytrynowym, jabłkowym, fosforowym, chlorowodorowym). W wyniku reakcji powstaje kwas chlorowy (HClO_2), który rozpada się na cząsteczki o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych: jon chlorynowy (ClO_2^-), chloranowy (ClO_3^-) i dwutlenek chloru w proporcjach zależnych od pH roztworu. Ich działanie polega na uszkodzaniu błon komórkowych, utlenianiu wiązań siarczkowych i disiarczkowych w aminokwasach enzymów oraz hamowaniu metabolizmu mikroorganizmów. Dużą zaletą ASC jest to, że wszystkie jony ostatecznie redukują się do jonu chlorkowego (będącego naturalnym składnikiem komórek), a ClO_2 bardzo szybko wyparowuje, więc po zastosowaniu kwaśnego chlorynu sodu nie pozostają żadne produkty uboczne na powierzchni warzyw i urządzeń. ASC jest dopuszczony do stosowania jako środek

dezynfekujący warzywa i owoce w Stanach Zjednoczonych i Australii w stężeniu $500 \div 1200$ mg/l [7, 22].

W badaniach naukowych najczęściej wykorzystuje się kwaśny chloryn sodu w stężeniu 500 mg/l. Dezynfekcja marchwi tym związkiem pozwoliła zredukować liczbę drobnoustrojów tlenowych mezofilnych o 2,8 log, lecz podczas przechowywania próbek przez 6 dni w temp. 10 °C ich liczba wzrosła o ok. 1 cykl logarytmiczny. Rozwój bakterii z grupy coli został natomiast całkowicie zahamowany podczas mycia, jednak po 6 dniach przechowywania ich liczba wzrosła do 10^3 jtk/g [20]. Kwon i wsp. [14], wykorzystując kwaśny chloryn sodu również w tak wysokim stężeniu, uzyskali redukcję liczby bakterii *Salmonella* Typhimurium i *Listeria monocytogenes* w marchwi o 2,5 ÷ 2,6 log. Ruiz-Cruz i wsp. [17] wykazali wysoką skuteczność dezynfekcji korzeni marchwi tym związkiem przy każdym zastosowanym stężeniu (100, 250 i 500 mg/l). Uzyskano zmniejszenie liczby bakterii *E. coli* O157:H7 i *Salmonella* spp. prawie o 5 log, a *L. monocytogenes* – o 2,5 log, niezależnie od tego, czy stosowano wodę wodociągową, czy procesową. Aby jednak zminimalizować wpływ środka odkażającego na jakość produktu, autorzy sugerują stosowanie niższych stężeń przez dłuższy czas kontaktu.

Dwutlenek chloru

Dwutlenek chloru, oprócz hamowania syntezy białek, utlenienia składniki błony komórkowej, powodując zmianę transmembranowego gradientu jonowego, zmniejszenie przepuszczalności błony i w konsekwencji śmierć komórki. Może być stosowany jako gaz lub ciecz. Uważa się, że gazowy ClO_2 wykazuje większą skuteczność dezynfekcji ze względu na lepszą penetrację nierównych powierzchni warzyw i owoców, jednak jego działanie zależy od obecności materii organicznej [9]. Dwutlenek chloru nie reaguje ze związkami azotowymi i fenolowymi, więc nie powoduje powstawania trihalometanów i chloramin oraz nieprzyjemnego zapachu i smaku [18, 19]. Jest on akceptowany przez FDA jako dezynfektant warzyw i owoców [6].

Singh i wsp. [19] badali wpływ stężenia ClO_2 , zarówno w formie gazu, jak i roztworu wodnego, na redukcję liczby bakterii *E. coli* O157:H7 na powierzchni marchwi. Aplikując na próbkę wodny roztwór dwutlenku chloru przez 15 min, uzyskali redukcję liczby bakterii o 1,7 log (przy 5 mg/l ClO_2), 2,2 log (przy 10 mg/l ClO_2) oraz 2,5 log (przy 20 mg/l ClO_2), natomiast w ciągu 1 - 5 min dezynfekcji przy każdym stężeniu wyniki te były istotnie niższe. Stosując gazowy dezynfektant przez 15 min odnotowali zmniejszenie liczby *E. coli* o 1,7 log przy 0,5 mg/l ClO_2 , 2,3 log – przy 0,75 mg/l ClO_2 oraz 3 log – przy 1 mg/l ClO_2 , co wskazuje na dużo większą skuteczność działania gazowego dwutlenku chloru. Łącząc dezynfekcję roztworem ClO_2 z wykorzystaniem wody ozonowanej lub olejku tymiankowego, można osiągnąć lepszą efektywność redukcji nawet o 1,5 cyklu logarytmicznego.

W innym doświadczeniu gazowy dwutlenek chloru (1,33 mg/l) umożliwił redukcję bakterii tlenowych mezofilnych na powierzchni marchwi o 1,9 log, bakterii psychrofilnych – o 1,7 log, bakterii fermentacji mlekowej – o 2,6 log i drożdży – o 0,7 log. Po przechowywaniu próbek przez 9 dni wykazano, że ClO_2 powoduje jedynie subletalne uszkodzenia komórek mikroorganizmów, ponieważ redukcja utrzymywała się tylko przez 2 dni – po tym czasie liczba bakterii mezofilnych, psychrofilnych i fermentacji mlekowej zaczęła się zwiększać. Wyjątkiem były drożdże, które od razu po procesie dezynfekcji zaczęły się namnażać. Podczas przechowywania wygląd i smak próbek nadal były do zaakceptowania, w przeciwieństwie do zapachu. Niemniej jednak autorem udało się przedłużyć czas przechowywania próbek marchwi o jeden dzień [8]. São José i Vanetti [18] również nie uzyskały znaczącej redukcji liczby mikroorganizmów z użyciem dwutlenku chloru. Po zastosowaniu 10 mg/l ClO_2 do odkażania korzeni pietruszki stwierdziły obniżenie liczby drożdży i pleśni oraz bakterii tlenowych mezofilnych jedynie o ok. $0,7 \div 1$ log, przy czym także nie zaobserwowały zmiany barwy warzyw.

Nadtlenek wodoru

H_2O_2 jest silnym utleniaczem i generuje wolne rodniki, które są toksyczne dla komórek. Bardzo szybko ulega on jednak rozkładowi, ale może powodować brązowienie tkanek warzyw [15]. FDA nie dopuszcza tego związku jako osobnego środka do mycia warzyw i owoców, a jedynie w przypadku, gdy służy on do wytwarzania kwasu nadoctowego [6].

Interesujących wyników dostarczyły badania efektywności działania na marchew nadtlenku wodoru w ciągu 30 - 90 s i w stężeniu $0,5 \div 1,5$ %. Największą redukcję bakterii tlenowych spowodowało zastosowanie najniższego stężenia H_2O_2 (0,5 %) przez najdłuższy czas (90 s), a wynosiła ona tylko 1 log. Natomiast rozwój drożdży i pleśni został całkowicie zahamowany przy stężeniu dezynfektanta 1 i 1,5 % już po 30 s jego działania. Najwyższy stopień redukcji (0,9 log) liczby bakterii *E. coli* stwierdzono po 60 s mycia marchwi 1,5-procentowym H_2O_2 . Pomimo braku wpływu czynnika odkażającego na barwę warzywa obserwowano istotne zmniejszenie zawartości karotenoidów. Niski poziom inaktywacji mikroorganizmów w porównaniu z innymi omówionymi metodami dezynfekcji wskazuje na ograniczone działanie przeciwdrobnoustrojowe nadtlenku wodoru wobec mikroflory korzeni marchwi [1].

Lepszą skuteczność nadtlenku wodoru wobec drożdży i pleśni niż bakterii potwierdziły również São José i Vanetti [18] – 5-procentowy roztwór H_2O_2 po 10 min działania na korzenie pietruszki zmniejszył liczbę tych drobnoustrojów odpowiednio o 1,9 i 1,7 log. Połączenie działania nadtlenku wodoru z ultradźwiękami nie spowodowało znaczącej zmiany redukcji zanieczyszczenia mikrobiologicznego.

Kwas nadoctowy

Kwas nadoctowy wykazuje silne właściwości dezynfekujące: wytwarza wolne rodniki uszkadzające DNA i lipidy w błonach komórkowych, denaturuje białka i unieczynnia enzymy, a także utlenia wiązania disiarczkowe, zwiększając przepuszczalność ścian komórkowych mikroorganizmów. Odkazujące działanie kwasu nadoctowego jest efektywne również w obecności zanieczyszczeń organicznych w szerokim zakresie temperatury i pH, a ponadto nie powoduje powstawania niebezpiecznych dla zdrowia substancji. Wady to przede wszystkim duże koszty w porównaniu z podchlorynem sodu oraz niska stabilność w stężeniach powyżej 15 % [23]. Zgodnie z wytycznymi FDA, może on być stosowany do dezynfekcji w przemyśle owocowo-warzywnym [6].

Ruiz-Cruz i wsp. [17] uzyskali wyniki potwierdzające brak zależności pomiędzy wodą użytą do badań a skutecznością działania kwasu nadoctowego [17]. Redukcja liczby bakterii *E. coli* w marchwi wynosiła ok. 1,2 log przy zastosowaniu zarówno wody wodociągowej, jak i procesowej, bakterii *Salmonella* spp. – 2,2 log, a *L. monocytogenes* – tylko 0,8 cyklu logarytmicznego. Użycie wody wodociągowej efektywnie wpływało jednak na redukcję tych bakterii w czasie dalszego przechowywania próbek w temp. 5 °C – w niektórych przypadkach obserwowano całkowite zahamowanie ich rozwoju.

Wśród wielu badanych przez de São José i Vanetti [18] metod dezynfekcji korzeni pietruszki najbardziej skuteczny okazał się kwas nadoctowy (w stężeniu 40 mg/l) stosowany osobno (zmniejszenie liczby mezofilów tlenowych o 5,2 log oraz drożdży i pleśni – o 4 log) lub w połączeniu z ultradźwiękami (redukcja odpowiednio o ok. 5,8 log i 4,5 log). Kwas nadoctowy powodował jednak zmianę zapachu pietruszki, a zastosowany w połączeniu z ultradźwiękami – zmianę jej wyglądu (ciemnienie tkanek).

Vandekinderen i wsp. [23] stosowali do dezynfekcji marchwi komercyjny środek zawierający 5 % kwasu nadoctowego, 23 % nadtlenu wodoru i 8 % kwasu octowego rozcieńczonego w ten sposób, by uzyskać ustalone stężenie kwasu nadoctowego (25, 80, 150, 250 mg/l). Tak przygotowanymi roztworami myjącymi traktowali oni próbki marchwi przez 1, 5 i 10 min. Im wyższe było stężenie kwasu nadoctowego, tym większy stopień redukcji mikroorganizmów należących do naturalnej mikroflory tego warzywa obserwowano. Czas kontaktu roztworu z próbkami nie wpływał istotnie na tę redukcję, z wyjątkiem dezynfekcji roztworem o najwyższym stężeniu. Ponadto odkazane próbki nie zmieniły swej barwy, smaku i zapachu bezpośrednio po procesie.

Woda elektrolizowana

Woda elektrolizowana powstaje podczas elektrolizy roztworu chlorku sodu w komorze elektrolitycznej. Przy katodzie powstaje woda alkaliczna AIEW (*alkaline*

electrolyzed water, pH 10 - 11,5), która zawiera wodorotlenek sodu i gazowy wodór. Przy anodzie powstaje woda kwasowa AcEW (*acidic electrolyzed water*, pH 2,5 ÷ 3,5), która zawiera kwas solny HCl, kwas podchlorynowy HClO, jon podchlorynowy ClO⁻, gazowy chlor oraz tlen. Najsilniejszym związkiem o działaniu przeciwdrobnoustrojowym jest w tym przypadku HClO, który niszczy komórki wielokierunkowo: hamuje biosyntezę białek, oddychanie komórkowe, metabolizm węglowodanów (poprzez utlenianie wiązań disiarczkowych w ważnych enzymach), powoduje dekarboksylację aminokwasów i degradację DNA. Zastosowanie komory bez membrany rozdzielającej pozwala na uzyskanie lekko kwasowej wody elektrolizowanej (SAcEW – *slightly acidic electrolyzed water*), która najczęściej wykorzystywana jest w badaniach. Jej skuteczność porównywalna jest ze skutecznością podchlorynu sodu, a zaletą jest dużo niższe stężenie wolnego chloru (ok. 10 ÷ 30 mg/l w porównaniu z NaClO zawierającym 100 mg/l chloru) i pH bardziej zbliżone do neutralnego (5 ÷ 6,5, NaClO ok. 9,7), dzięki czemu nie powoduje ona korozji urządzeń oraz nie wpływa szkodliwie na organizm człowieka i środowisko [10, 11, 13, 16].

Badania prowadzone z wodą elektrolizowaną skupiają się na ocenie stopnia dezynfekcji warzyw przy różnym stężeniu wolnego chloru w SAcEW, temperaturze wody i czasie mycia. Zhang i wsp. [25] zaobserwowali, że im wyższe jest stężenie chloru, tym większa jest redukcja mikroorganizmów – mycie selera lekko kwasową wodą elektrolizowaną zawierającą 15 mg/l chloru skutkowało redukcją drożdży i pleśni o 1,3 log i bakterii tlenowych mezofilnych o 2,3 log, natomiast dwukrotnie wyższe stężenie pozwoliło zmniejszyć liczbę wszystkich bakterii o 4,2 ÷ 4,6 cyklu logarytmicznego, bez negatywnego wpływu na wygląd warzyw. Wyniki tych badań dowiodły też, że inaktywacja wszystkich grup mikroorganizmów jest tym większa, im dłuższy jest czas przebywania próbki w badanej wodzie. W doświadczeniu Rahmana i wsp. [16] zarówno liczba mikroorganizmów tlenowych mezofilnych, jak i liczba drożdży oraz pleśni zmalały o 1 log podczas mycia próbek marchwi przez 1 min, natomiast o 2,3 log, gdy czas mycia wynosił 3 i 5 min. Również temperatura roztworu myjącego wpływała na stopień inaktywacji drobnoustrojów: im była wyższa, tym większą inaktywację obserwowano (ok. 1,5 log w przypadku wody o temp. 1 °C, ok. 2,5 log przy 50 °C). Koide i wsp. [13] porównywali właściwości dezynfekujące lekko kwasowej wody elektrolizowanej o temp. 18 i 45 °C. Traktowanie marchwi podgrzaną wodą skutkowało większym stopniem dezynfekcji zarówno bakterii tlenowych mezofilnych, jak i drożdży oraz pleśni (różnica ok. 1,5 log w porównaniu z chłodną wodą elektrolizowaną). Zastosowanie SAcEW o temp. 18 °C spowodowało taki sam efekt jak zastosowanie wody wodociągowej o temp. 45 °C. Ponadto badacze nie zaobserwowali istotnego wpływu rodzaju i temperatury zastosowanej wody na zawartość kwasu askorbinowego i β-karotenu w marchwi. Z kolei Zhang i wsp. [25] nie stwierdzili, by podnoszenie temperatury użytej wody (w zakresie 4 ÷ 37 °C) zwiększało istotnie inak-

tywację drobnoustrojów na selerze traktowanym SAcEW. Issa-Zacharia i wsp. [11] uzyskali znacznie wyższą redukcję liczby patogenów za pomocą dezynfekcji SAcEW o stężeniu chloru 22 mg/l w porównaniu z próbkami mytymi wodą wodociągową (WW): w przypadku *E. coli* – 2,7 log (WW 0,9 log), a *Salmonella* spp. – 2,9 log (WW 0,4 log).

W trakcie przechowywania warzyw w temp. 4 °C przez 6 dni nie zaobserwowano wzrostu liczby bakterii tlenowych, drożdży i pleśni ani w próbkach kontrolnych, ani traktowanych SAcEW o stężeniu chloru 25 mg/l przez 5 min. Natomiast gdy temperatura przechowywania wynosiła 20 °C, liczba wszystkich mikroorganizmów wzrosła o ok. 1 cykl logarytmiczny (zarówno w próbkach odkażanych, jak i kontrolnych) [25].

Doświadczenia z wykorzystaniem alkalicznej wody elektrolizowanej prowadzili m.in. Rahman i wsp. [16]. Stosując AIEW do dezynfekcji marchwi uzyskali oni redukcję mikroorganizmów tlenowych mezofilnych oraz drożdży i pleśni o 1 log podczas mycia w ciągu 1 min. Gdy czas mycia wynosił 3 i 5 min, redukcja była rzędu 1,8 log w każdym przypadku. Badania nad wpływem temperatury roztworu myjącego na skuteczność odkażania potwierdziły, że wyższa temperatura prowadzi do większej inaktywacji wszystkich badanych grup mikroorganizmów (redukcja o ok. 1,5 log w przypadku 1 °C, ok. 2,5 log – 50 °C). Zastosowanie AIEW o temp. 50 °C pozwoliło również istotnie zmniejszyć liczbę bakterii patogennych zarówno *L. monocytogenes*, jak i *E. coli* o 2,7 cyklu logarytmicznego. Naukowcy zbadali również wpływ dodatku kwasu cytrynowego do alkalicznej wody elektrolizowanej na skuteczność dezynfekcji marchwi i na podstawie uzyskanych wyników zaproponowali połączenie działania AIEW z 1-procentowym kwasem cytrynowym przez 3 min i w temp. 50 °C jako najbardziej efektywną mieszanicę. W takich warunkach redukcja *L. monocytogenes* i *E. coli* osiągnęła aż 4 log (3 min, 50 °C). Badania nie wykazały znacznego pogorszenia barwy, smaku i zapachu próbek marchwi poddanych takiej skojarzonej dezynfekcji i przechowywanych przez 15 dni w warunkach chłodniczych w porównaniu z próbkami kontrolnymi. W przypadku próbek kontrolnych maksymalny czas przechowywania produktu (bez znacznego obniżenia jakości konsumenckiej) wyniósł 9 dni, a próbek doświadczalnych – aż 15 dni.

Ozon

Ozon, reaktywna forma tlenu O₃, jest powszechnie stosowany do uzdatniania wody pitnej. Jego działanie polega na utlenianiu lipidów w błonach komórkowych oraz lipopolisacharydach bakterii Gram-ujemnych, a także hamowaniu aktywności enzymów wewnątrzkomórkowych. Dość szybko rozpada się do tlenu, stąd nie pozostawia szkodliwych produktów ubocznych. Jest on jednak niestabilny w otoczeniu cząstek materii organicznej, a jego skuteczność w dużej mierze zależy od pH i temperatury. Im wyższa temperatura wody, do której ozon jest pompowany, tym niższa rozpuszczal-

ność i stopień działania. Ozon jest silnym utleniaczem, dlatego może też wpływać na wygląd i właściwości produktu [2, 12]. FDA umieściło ozon na liście substancji dozwolonych do stosowania w przemyśle owocowo-warzywnym [6].

Najczęściej w badaniach stosowane są dwie metody ozonowania: dozowanie gazu bezpośrednio na warzywa oraz ich mycie za pomocą wody z rozpuszczonym wcześniej ozonem. Wyniki są bardzo rozbieżne w zakresie oceny ich skuteczności. Karaca i Velioglu [12] wykazali wyższą redukcję liczby bakterii *E. coli* i *Listeria innocua* (ponad 2 log) po odkazaniu korzeni pietruszki wodą ozonowaną (15 min, stężenie ozonu 12 mg/l) niż ozonem w postaci gazu (20 min, 1 mg/l, 1,2 ÷ 1,3 log), przy czym w żadnym przypadku nie obserwowali zmian zawartości chlorofilu. Ozon w formie gazowej przyczynił się jednak istotnie do zmniejszenia zawartości kwasu askorbinowego (o 40 %), związków fenolowych (o 12 %) oraz aktywności przeciwutleniającej (o 41 %) w porównaniu z próbą kontrolną, w odróżnieniu od ozonu rozpuszczonego w wodzie, który nie spowodował znaczących zmian. Dezynfekcja wodą ozonowaną okazała się bardziej skuteczna niż mycie pietruszki wodą destylowaną. Redukcja liczby bakterii *L. innocua* była identyczna jak w wodzie chlorowanej, lecz niższa w przypadku *E. coli*. Odmienne wyniki uzyskali Singh i wsp. [19] – traktowanie marchwi przez 15 min bezpośrednio gazowym ozonem umożliwiło zmniejszenie liczby bakterii *E. coli* O157:H7 o 2,5 cyklu logarytmicznego, podczas gdy wodą ozonowaną – tylko o 1,3 log. Nawet zwiększając stężenie rozpuszczonego ozonu w wodzie do 16,5 mg/l, nie odnotowali oni takiej redukcji, jaka miała miejsce podczas dezynfekcji marchwi gazowym ozonem w stężeniu 7,6 mg/l.

Im wyższe było stężenie ozonu w wodzie, tym większą inaktywację bakterii mezofilnych tlenowych stwierdzano w próbkach selera poddawanych myciu. W zakresie stężeń 0,03 ÷ 0,18 mg/l redukcja wynosiła 0,8 ÷ 1,7 cyklu logarytmicznego, jednak w ciągu 9 dni przechowywania dezynfekowanych próbek w temp. 4 °C liczba mikroorganizmów zwiększyła się o 1,4 ÷ 2,2 log. Zawartość witaminy C ulegała zmniejszeniu podczas kilkudniowego przechowywania niezależnie od zastosowanego stężenia ozonu, jednak w żadnym przypadku nie do tego stopnia, jak w próbie kontrolnej (niepoddawanej dezynfekcji). Co ciekawe, ogólna akceptacja próbki selera była tym większa, im wyższe zastosowano stężenie ozonu w wodzie. Ponadto nie odnotowano żadnych istotnych różnic pod względem jakości sensorycznej próbek dezynfekowanych wodą ozonowaną o stężeniu 0,18 mg/l i przechowywanych aż przez 9 dni w stosunku do próby kontrolnej, w której już po 3 dniach odnotowano znaczące różnice [26].

Rodzaj produktu a efektywność dezynfekcji

Badania prowadzone z różnymi owocami i warzywami wykazują, że oprócz metody dezynfekcji, dużą rolę w skuteczności tego procesu odgrywa również struktura i rodzaj powierzchni produktu. Warzywa mające gładką powierzchnię i luźniejszą

strukturę komórkową (np. pomidor) są bardziej podatne na wszelkie czynniki dezynfekujące niż warzywa twarde, mające pory i bruzdy, które ułatwiają wnikanie mikroorganizmów do głębiej położonych tkanek, a utrudniają wnikanie dezynfektantów (np. marchew) [2]. Zdjęcia z mikroskopu skaningowego potwierdzają umiejscawianie się bakterii głównie wewnątrz bruzd, w których chronione są przed dostępem czynnika dezynfekującego [14]. Dodatkowo krojenie i rozdrabnianie warzyw również umożliwia drobnoustrojom penetrowanie głębszych części tkanek [19, 23].

Podsumowanie

W artykule przedstawiono zaledwie kilka substancji służących do dezynfekcji warzyw korzeniowych przeznaczonych do bezpośredniego spożycia i produkcji soków lub surówek, które mogłyby w przyszłości zastąpić stosowanie niebezpiecznego podchlorynu sodu. Istnieją również inne związki chemiczne oraz metody, które są rozpatrywane pod tym względem, np. dichloroizocyjanuran sodu, ultradźwięki [18], diwęglan dimetylu [24], kwasy organiczne (np. cytrynowy), promieniowanie UV [2, 16]. Jednakże efektywność działania każdego środka dezynfekującego zależeć będzie przede wszystkim od rodzaju produktu, jego powierzchni oraz poziomu i rodzaju zanieczyszczenia mikrobiologicznego. Duże oczekiwania wiążą się z kwaśnym chlorynem sodu, a szczególnie z wodą elektrolizowaną, jednak jej zastosowanie wiąże się z zakupem specjalnej aparatury. Należy również rozważyć, czy nietoksyczność stosowanego środka jest ważniejsza niż jego mniejsza skuteczność w porównaniu z podchlorynem sodu. Podczas prowadzenia badań nad skutecznością działania różnych dezynfektantów należy jak najwierniej odwzorować warunki przemysłowe, czyli m.in. uwzględnić rodzaj wody, ponieważ obecność materii organicznej, często o bardzo wysokim stężeniu w przypadku stosowania mycia w obiegu zamkniętym, z wielokrotną recykulacją wody, może wpływać istotnie na otrzymane wyniki.

Nie można całkowicie wyeliminować drobnoustrojów podczas dezynfekcji warzyw. Najważniejsze jest więc, by pochodziły one z prawidłowo prowadzonego gospodarstwa rolnego i by podczas łańcucha żywnościowego zachowane były wszelkie zasady dobrej praktyki produkcyjnej, tak aby na żadnym jego etapie nie narażać produktów na dodatkowe zanieczyszczenie mikrobiologiczne.

Literatura

- [1] Augspole I., Rakcejeva T.: Effect of hydrogen peroxide on the quality parameters of shredded carrots. Annual 19th Int. Scient. Conf. Proc., "Research for Rural Development", Jelgava, Latvia, 2013, May, 15-17, Volume 1, pp. 91-97.
- [2] Bermúdez-Aguirre D., Barbosa-Cánovas G.V.: Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. Food Control, 2013, 29, 82-90.

- [3] European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control: The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. [on line]. EFSA. Dostęp w Internecie [08.11.2017]: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2016.4634/epdf>
- [4] Farrar J.J., Pryor B.M., Davis R.M.: *Alternaria* diseases of carrot. *Plant Dis.*, 2004, 88 (8), 776-784.
- [5] Electronic Code of Federal Regulations: Food and Drugs – Part 120: Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) systems. [on line]. Dostęp w Internecie [28.11.2017]: <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/text-idx?SID=d00687e7959173cb3a0f0d3d246c24a5&mc=true&node=pt21.2.120&rgn=div5>
- [6] Electronic Code of Federal Regulations: Food and Drugs – Part 173: Secondary direct food additives permitted in food for human consumption. [on line]. Dostęp w Internecie [28.11.2017]: <https://www.ecfr.gov/cgi-bin/retrieveECFR?gp=&SID=0498a7f641098aea8809fe5084f6ffd3&mc=true&n=sp21.3.173.d&r=SUBPART&ty=HTML#se21.3.173>
- [7] Food Standards Australia New Zealand: Final Assessment Report: Acidified sodium chlorite as a processing aid. [on line]. FSANZ. Dostęp w Internecie [02.11.2017]: http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/documents/A476_Chlorite_Final_Assessment_Report.pdf
- [8] Gómez-López V.M., Devlieghere F., Ragaert P., Debevere J.: Shelf-life extension of minimally processed carrots by gaseous chlorine dioxide. *Int. J. Food Microbiol.*, 2007, 116, 221-227.
- [9] Gómez-López V.M., Rajkovic A., Ragaert P., Smigic N., Devlieghere D.: Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation: A review. *Trends Food Sci. Technol.*, 2009, 20, 17-26.
- [10] Huang Y.R., Hung Y.C., Hsu S.Y., Huang Y.W., Hwang D.F.: Application of electrolyzed water in the food industry. *Food Control*, 2008, 19, 329-345.
- [11] Issa-Zacharia A., Kamitani Y., Miwa N., Muhimbula H., Iwasaki K.: Application of slightly acidic electrolyzed water as a potential non-thermal food sanitizer for decontamination of fresh ready-to-eat vegetables and sprouts. *Food Control*, 2011, 22, 601-607.
- [12] Karaca H., Velioglu Y.S.: Effects of ozone treatments on microbial quality and some chemical properties of lettuce, spinach and parsley. *Postharvest Biol. Technol.*, 2014, 88, 46-53.
- [13] Koide S., Shitanda D., Note M., Cao W.: Effects of mildly heated, slightly acidic electrolyzed water on the disinfection and physicochemical properties of sliced carrot. *Food Control*, 2011, 22, 452-456.
- [14] Kwon K.Y., Kang K.A., Yoon K.S.: Effects of sodium hypochlorite and acidified sodium chlorite on the morphological, microbiological, and sensory qualities of selected vegetables. *Food Sci. Biotechnol.*, 2011, 20 (3), 759-766.
- [15] Meireles A., Giaouris E., Simões M.: Alternative disinfection methods to chlorine for use in the fresh-cut industry. *Food Res. Int.*, 2016, 82, 71-85.
- [16] Rahman S.M.E., Jin Y.G., Oh D.H.: Combination treatment of alkaline electrolyzed water and citric acid with mild heat to ensure microbial safety, shelf-life and sensory quality of shredded carrots. *Food Microbiol.*, 2011, 28, 484-491.
- [17] Ruiz-Cruz S., Acedo-Félix E., Díaz-Cinco M., Islas-Osuna M.A., González-Aguilar G.A.: Efficacy of sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* populations on fresh-cut carrots. *Food Control*, 2007, 18, 1383-1390.
- [18] São José J.F.B., Vanetti M.C.D.: Application of ultrasound and chemical sanitizers to watercress, parsley and strawberry: Microbiological and physicochemical quality. *Food Sci. Technol.*, 2015, 63, 946-952.

- [19] Singh N., Singh R.K., Bhunia A.K., Stroshine R.L.: Efficacy of chlorine dioxide, ozone, and thyme essential oil or a sequential washing in killing *Escherichia coli* O157:H7 on lettuce and baby carrots. *Food Sci. Technol.*, 2002, 35 (8), 720-729.
- [20] Sun S.H., Kim S.J., Kwak S.J., Yoon K.S.: Efficacy of sodium hypochlorite and acidified sodium chlorite in preventing browning and microbial growth on fresh-cut produce. *Prev. Nutr. Food Sci.*, 2012, 17, 210-216.
- [21] Szezech M., Kowalska B.: Mikroflora warzyw ekologicznych. *Nowości Warzywnicze*, 2010, 51, 65-72.
- [22] United States Department of Agriculture: Technical Evaluation Report: Acidified sodium chlorite. Handling/processing. [on line]. Dostęp w Internecie [02.11.2017]: <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/S%20Chlorite%20A2%20report.pdf>
- [23] Vandekinderen I., Devlieghere F., De Meulenaer B., Ragaert P., Van Camp J.: Optimization and evaluation of a decontamination step with peroxyacetic acid for fresh-cut produce. *Food Microbiol.*, 2009, 26, 882-888.
- [24] Wang C., Chen Y., Xu Y., Wu J., Xiao G., Zhang Y., Liu Z.: Effect of dimethyl dicarbonate as disinfectant on the quality of fresh-cut carrot (*Daucus carota* L.). *J. Food Process. Pres.*, 2013, 37 (5), 751-758.
- [25] Zhang C., Cao W., Hung Y.C., Li B.: Disinfection effect of slightly acidic electrolyzed water on celery and cilantro. *Food Control*, 2016, 69, 147-152.
- [26] Zhang L., Lu Z., Yu Z., Gao X.: Preservation of fresh-cut celery by treatment of ozonated water. *Food Control*, 2005, 16, 279-283.

METHODS FOR DISINFECTION OF CARROT AND OTHER ROOT VEGETABLES

S u m m a r y

Microorganisms on surfaces of fruits and vegetables come not only from the natural environment but also from every stage of the food chain through which they have to pass (handling, packaging, and transportation). In the industrial processing plants, washing and disinfecting raw materials intended for direct consumption or production of unpasteurized juices is usually the only step in reducing the number of contaminating and pathogenic microorganisms. Particular attention should be paid to root vegetables because their edible parts have direct contact with the soil that is a habitat for many different groups of microorganisms. In the fruit and vegetable industry, sodium hypochlorite is the most commonly used disinfectant, which, despite its high efficiency, has many disadvantages: it causes corrosion of devices, may adversely affect the appearance, taste and smell of vegetables, and it contributes to the formation of dangerous trihalomethanes. In the paper, there are presented alternative to sodium hypochlorite substances used to disinfect root vegetables, mainly carrots, since those root vegetables are an important raw material in the Polish juice industry. The paper contains also a review of the literature relating to such compounds as acidified sodium chlorite, chlorine dioxide, hydrogen peroxide, peracetic acid, electrolyzed water, and ozone. There were depicted antimicrobial properties of disinfectants against yeasts, moulds, Gram-negative and Gram-positive bacteria as well as their disadvantages, advantages, mechanism of action, and effect on the organoleptic characteristics and lifespan prolongation of vegetables. Among the disinfectant described, the electrolyzed water and acidified sodium chlorite are highlighted owing to their high efficacy and no negative impacts on vegetable tissues, environment, and consumer health.

Key words: carrot, disinfection, sodium hypochlorite, acidified sodium chlorite, electrolyzed water 