SAT-LCR-2-BFT(R)-08

INVESTIGATION OF THE EFFICIENCY OF DECONTAMINATION BY INDIRECT COLD PLASMA OF RAW NUTS

Tsvetan Yanakiev, PhD
Department of Machine and Apparatus in Food Industry,
University of Food Technologies, Bulgaria
Tel.: +00359887386810
E-mail: ts.yanakiev@abv.bg

Prof. Stefan Stefanov, PhD
Department of Machine and Apparatus in Food Industry,
University of Food Technologies, Bulgaria
Tel.: +0035932603814
E-mail: stvstefanov@yahoo.com

Assoc. Prof. Iliana Kostova, PhD
Department of Biotechnologies and Food Technologies, Branch Razgrad,
Angel Kanchev University of Ruse, Bulgaria
Tel.: +00359886430204
E-mail: ikostosva@uni-ruse.bg

Abstract: *The article examines the possibility for achieving of certain safety degree of food products which are consumed in raw state, as a study has been conducted for the effect of the different processing modes on raw nuts and flakes from einkorn. The experiments are conducted using laboratory equipment providing indirect cold plasma. The results from the study show reduction of the total number of microorganisms by 3 – 4 log units (99,97-99,99% effectiveness) when treating the product (5 g einkorn nuts and 2,5 g einkorn flakes) with 5 ppm ozone concentration and 15s duration of blowing at 0,3m^3/h flow. The reduction is sufficient to ensure safe quantity of microorganisms when treating moderately contaminated product.*

Keywords: *Cold plasma, Non-thermal Dry Decontamination, Einkorn Wheat and Flakes.*

ВЪВЕДЕНИЕ

Осигуряването на безопасни храни изисква провеждането на редица процедури, свързани с премахването на различни причинители на развала и влошаване на качеството. През последните години се работи изключително интензивно по разработването на нови алтернативни методи за инактивиране на микроорганизми, намиращи се в суровините и хранителните продукти. Студената плазма е сравнително нов, алтернативен на провежданите в индустриални условия метод за постигане на необходимата безопасност.

Студена плазма

Студената плазма представлява йонизиран газ, съставен от химически реактивни вещества, йони, насочени електрони и UV лъчи (Misra et al., 2011; Nehra et al., 2008; Tapper, 2007). Най-често тя се генерира посредством електрически разряди, като обработка в зоната на разряда е директна обработка, а извън зоната на разряда се нарича обработка с индиректна студена плазма (Misra et al., 2014; Patil et al., 2014).

Компонентите изграждащи плазмата имат силно антимикробно действие, като прилагането им едновременно постига мултиплициран ефект.

Инактивацията на замърсители от микробиологичен произход се дължи основно на йоните, атомния кислород и озона в състава ѝ (Pervez et al., 2014), които имат нестабилен

характер и се разпадат скоро след генерирането им, като не нанасят щети на околната среда и не натрупват химически опасни отпадъчни вещества (Tapper, 2007).

Обработката предлага хомогенна ефективност по цялата повърхност на продукта до която има достъп йонизирания газ. Индиректната студена плазма може да се използва в обема в който се генерира (Jayasena et al., 2014) или да се транспортира до зоната за обработка (Opalinska, 2002), стига това да стане преди газа да възстанови първоначалното си състояние.

Сурово-консумирани храни

През последните години се наблюдава засилено търсене на здравословни и функционални храни. Това е свързано с желанието на все по-широк кръг потребители да водят здравословен начин на живот, поддържайки нормално телесно тегло и функции на своя организъм. Производството на здравословни и функционални храни е ориентирано все повече към използване на биопродукти, претърпяващи по възможност най-малко промени в състава и свойствата, което гарантира наличието в крайните продукти на повече ценни хранителни вещества, като витамини, минерали, микроелементи и други.

Сурово консумирани храни са плодове и зеленчуци, салати от тях, ядки и др. Тяхното благотворно влияние върху човешкия организъм в сурово състояние е безспорно и затова се препоръчват и от специалистите по хранене. Но то носи своите рискове.

Рискове за потребителя при консумация на сурови ядки

Суровите ядки могат да бъдат замърсени при транспорта, съхранението или при производството и опаковането им. Основен риск за здравето се явяват екскременти на гризачи, акари и други насекоми, намерили убежище и храна в складовете за съхранение на ядките. Особено опасни са болестите които се пренасят от вредителите, като те представляват сериозен риск за здравето на потребители, спадащи към рискови групи като деца, бременни жени и възрастни хора. Технологията на производство на сурови ядки не допуска термична обработка, третирането с ултравиолетови лъчи не би било достатъчно надеждно, а дезинфекцията по химичен път не е добре възприета от групите консумиращи такива храни.

Поради това целта е да се извърши нетермична суха обработка на сурови ядки, като се запази в максимална степен автентичния вкус, аромат и естествените хранителни вещества в тях.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Материали

Използван продукт за обработка

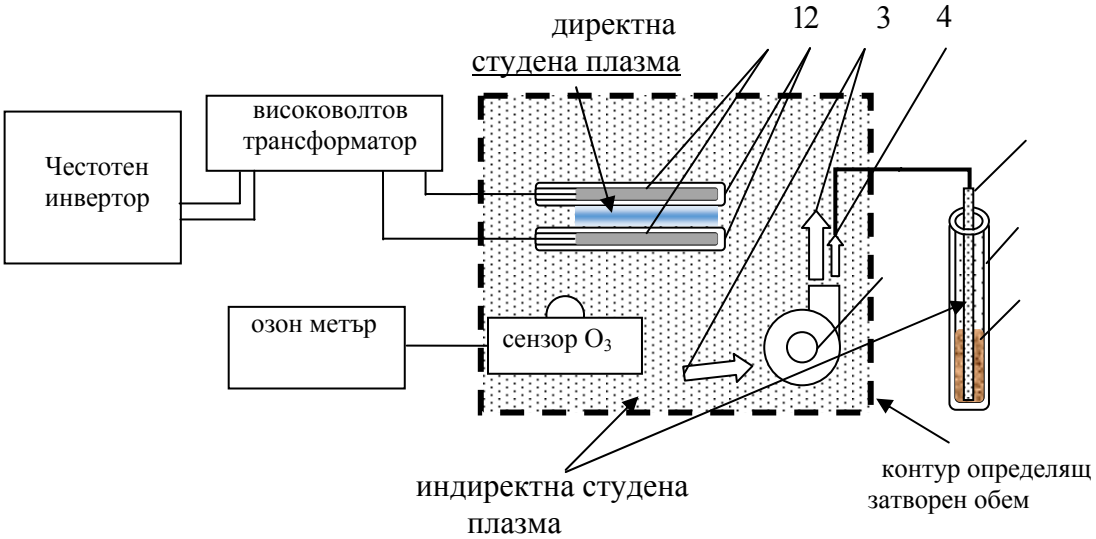
Обработвания продукт е еднозърнест лимец (*Triticum monococcum*), който е сорт мека пшеница и притежава добри хранителни качества. Ядките и флейките от лимец не са обработвани предварително за намаляване на микробното натоварване.

Опитна установка

За целите на експеримента е използван стенд за генериране на студена плазма посредством разряд през диелектрична бариера (DBD cold plasma) (фиг. 1). При този тип генератори разряда се осъществява между два метални електрода (1), покрити с диелектрик (2), между които има разстояние, наричано въздушна междина, което в случая е 4 mm. Дължината на електродите е 110mm, което определя и дължината на плазмената зона. Разряда се образува при подаване на високо напрежение от 5 kV и честота от 300 Hz до 400 Hz директно на електродите. Промяната на честотата става посредством честотен инвертор.

Честотата на разряда е в правопропорционална зависимост с интензитета на студената плазма и количеството генерирани реактивни частици и йони. Студената плазма се генерира в затворен обем с размери 100x300x600, в който са поместени електродите (1), вентилатора

(8) и сензора за озон. За целите на експеримента са необходими концентрации на озон от 5 ppm и 15 ppm, които се генерират с честоти 323 Hz и 336 Hz. Концентрацията на озон се измерва посредством озон метър. За осигуряване на еднаква концентрация на радикали в индиректната студена плазма се използва рециркулация (3) чрез центробежен вентилатор (8). Същият осигурява напор достатъчен да преодолее съпротивленията по тръбопровода (4) и сондата за обработка (5), както и съпротивлението създадено от слоя продукт (7), намиращ се в съда за обработка (6), като обемния дебит индиректна плазма преминаваща през слоя продукт е 0,3 м3/h . При осъществяване на обработката във всяка епруветка (6) пълна с еднакво количество продукт (5 g ядка от лимец или 2,5 g флейки от лимец), се подава индиректна студена плазма с концентрация на озон 5 ppm или 15 ppm и продължителност на експозицията от 30 s до 120 s според план на експеримента.



Фиг. 1. Схема на опитната постановка

1- електроди; 2 – диелектрици; 3 – рециркулация на газа в работния обем; 4 – нагнетателна линия за обработка с индиректна студена плазма; 5 – сонда за подаване на индиректна студена плазма в обема продукт; 6 – съд за обработка (епруветка); 7 – обработван продукт; 8 – вентилатор за високо налягане;

Сондата представлява гъвкав прозрачен тръбопровод с размери Ф5 х 1 и дължина 200 mm. Преди поставянето й в продукта тя е обработена със 70% р-р на етилов алкохол с цел дезинфекция.

За измерване на концентрацията на озон в състава на индиректната плазма в работния обем на генератора е поставен сензор за измерване на озон работещ на електрохимичен принцип. С него се определя моментна концентрация на озон, като данните се изобразяват на индикатор намиращ се в корпус с контролер за управление на процеса извън работния обем. Контролера разполага с две алармени нива и два релейни изхода, свързани с алармените нива и има обхват от 0 до 20 ppm, резолюция 0,1 ppm, основна грешка 1% от обхвата и нелинейност – 0,2 ±0,02%.

За осигуряване рециркулация и нагнетяване на индиректна студена плазма, се използва центробежен вентилатор INTEX, AP 620 II 220/240V 50 Hz , 125 W и дебит 36 m^3/h.

За обезпечаване на транспорта на плазмата от генератора до сондата се използва гъвкав тръбопровод с р-ри ф5 х 1 и дължина от 1500 mm. За намаляване на дебита на индиректната студена плазма прилагана към продукта се използва дросел с размер на отвора 2mm, осигуряващ дебит от 0,3 m^3/h.

Сондата е гъвкав прозрачен тръбопровод с размери Ф5 х 1 и дължина 200 mm. Преди поставянето й в продукта тя е обработена със 70% р-р на етилов алкохол с цел дезинфекция.

Температура и относителна влажност

За измерване на температура и относителна влажност в помещението се използва метеостанция KTJ TA218A с температурен обхват - 0 °C – 50 °C, резолюция 0,1 °C и точност ± 1 °C; обхват за относителна влажност 10% RH – 95% RH, резолюция 1%RH и точност ± 5% RH при 60 % RH.

Всички действия по подготовка и обработка на опитните образци са осъществени в ламинарен бокс.

Продължителността на обработка е управлявана ръчно посредством хронометър.

Постановка на опита

Методика за обработка на продукта

В ламинарен бокс при асептични условия в стерилни епруветки се претеглят по 5g ядки лимец или 2,5g флейки лимец. След това епруветките се номерират съобразно матрицата на плана на експеримента и във всяка от тях се поставя сонда. За следене на продължителността на обработката се използва хронометър. Генератора за студена плазма се задейства, като се изчаква до установяване на стабилна концентрация на озон в обема му. За регулиране на концентрацията се променя честотата на разряда посредством честотен инвертор. След установяване на стабилна концентрация всяка проба се обработва с определена продължителност и концентрация.

Методи за анализ

Определяне на общ брой жизнеспособни микроорганизми

След приключване на обработката със студена плазма в асептични условия към всяка проба се прибавя стерилен физиологичен разтвор с пептон до концентрация на продукта в разтвора 0,1g/mL и се разбъркват добре.

От така полученото основно разреждане със стерилна пипета се взема 1mL суспензия и се прехвърля в епруветка с 9 mL стерилен разредител. Пипетира се енергично с цел добро смесване на материала и разредителя. По тази процедура се правят и следващите десетократни разреждания.

От всяко разреждане се взема по 1mL и се посяват в предварително подготвените петриеви блюда със Соево-казеинов агар (СКА).

По същият начин се приготвят и посяват необработените със студена плазма проби от ядки и флейки лимец (контролни проби).

Посетите петриеви блюда се поставят за култивиране в термостат при 30° ± 1°C за 72 часа.

След приключване на култивирането петритата се изваждат от термостата, преглеждат се и колониите се изброяват.

Ефективността на обработването със студена плазма се оценява като се сравнява броя на жизнеспособните колонии в контролните проби с броя на жизнеспособните колонии в обработените проби и се изразява в проценти посредством следната зависимост предложена от Miao et al. (2011):

$$\text{Ефективност} = \frac{(N_0 - N_t)}{N_0} \times 100, [\%]$$

N_0 и N_t са съответно броя на колонио-образуващи единици в контролата и обработената проба

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЯ

Ефективност на обработването със студена плазма на ядки и флейки от лимец

Резултатите получени от обработването на ядки и флейки лимец със студена плазма са представени в таблици 1 и 2.

Обработването на ядки лимец с индиректна студена плазма с концентрация на озон 5 ppm и 15 ppm и продължителност на експозицията 15 – 60 секунди предизвиква намаляване на броя на микроорганизмите с около 3 логаритмични единици (таблица 1). Ефективността на процеса е между 99,95% и 99,97%.

Таблица 1. Ефект от прилагането на студена плазма върху ядки от лимец

№	продукт	τ [s]	озон конц. [ppm]	Среден резултат	ефективност
1	ядки от лимец	15	5	$8,0,x10^2$	99,97%
2		30	5	$7,4x10^2$	99,97%
3		45	5	$6,3x10^2$	99,97%
4		60	5	$11,2x10^2$	99,95%
5	ядки от лимец	15	15	$1,1x10^3$	99,96%
6		30	15	$8,0x10^2$	99,97%
7		45	15	$10,1x10^2$	99,96%
8		60	15	$9x10^2$	99,96%
	Контрола	-	-	$2,5x10^6$	

При обработването на флейки лимец (таблица 2) с индиректна студена плазма със същите параметри броят на мезофилните аеробни микроорганизми намалява с 4 логаритмични единици, като ефективността на обработката е 99,99% .

Таблица 2. Ефект от прилагането на студена плазма върху флейки от лимец

№	продукт	τ [s]	озон конц. [ppm]	Среден резултат	ефективност
	флейки от лимец	15	5	$3,8x10^2$	99,99%
2		30	5	$3,8x10^2$	99,99%
3		45	5	$3,7x10^2$	99,99%
4		60	5	$6,6x10^2$	99,99%
5	флейки от лимец	15	15	$5x10^2$	99,97%
6		30	15	$3,2x10^2$	99,99%
7		45	15	$4,2x10^2$	99,99%
8		60	15	$5,0x10^2$	99,99%
	Контрола	-	-	$5,7x10^6$	

Представените резултати показват, че прилаганата в експериментите студена плазма убива само чувствителните на тази обработка микробни клетки. Вероятно използваните концентрации озон и времето на експозиция не са достатъчни за да въздействат на по-устойчивите клетки.

За постигане на по-висока ефективност на обработката е необходимо да се повиши концентрацията на озон и времето за третиране на пробите.

Влияние на параметрите на обработката върху степента на инактивация.

В зададения диапазон продължителността на обработката и концентрацията на реактивни частици в състава на индиректната студена плазма не оказват значително влияние върху ефективността на обработката.

Постигнатата висока ефективност при обработка на ядки и флейки от лимец със индиректна студена плазма е определена на базата на обш брой микроорганизми, намиращи се по повърхността на продукта. В това число влизат множество микробиологични видове имащи слаба устойчивост по отношение на обработката. Поради това може да се твърди, че високата ефективност постигната при малка продължителност и ниска концентрация е инактивирала именно тези представители на микробиологичните замърсители, докато устойчивите видове остават жизнеспособни дори и след обработката с най-тежките режими предвидени в експеримента.

За да бъде установено това е необходимо проучване на ефективността на обработката върху контролирано контаминирани опитни образци с различни микробиологични замърсители.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обработката на сурови ядки предназначени за директна консумация, както и на други храни, посредством индиректна студена плазма значително подобрява безопасността на продукта, като в същото време запазва нутриентите в състава на хранителния продукт в максимално близък до натуралният им вид.

REFERENCES

Jayasena, D.D., Kim, H.J., Yong, H.I., Park, S., Kim, K., Choe, W., Jo, C. (2015). *Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: Effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes.* Food Microbiology 46: 51-57.

Miao, H. Yun, G. (2011). *The sterilization of Escherichia coli by dielectric-barrier discharge plasma at atmospheric pressure.* Applied Surface Science 257: 7065-7070.

Misra, N.N., Keener, K.M., Bourke, P., Mosnier, J.-P., Cullen P.J. (2014). *In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of cherry tomatoes.* Journal of Bioscience and Bioengineering 118(2): 177-182. http://dx.doi.org/ 10.1016/j.jbiosc.2014.02.005.

Misra, N.N., Tiwari, B.K., Rahavarao, K.S.M.S., Cullen, P.J. (2011). *Nonthermal Plasma Inactivation of Food-Borne Pathogens.* Food Engineering Reviews, 3 (3-4): 159-170.

Nehra, V., Kumar, A., Dwivedi, H.K. (2008). *Atmospheric Non-Thermal Plasma Sou-rces.* International Journal of Engineering, 2(1).

Opalinska, T. (2002). *Cold plasma reactor with dielectric barrier discharge*. *The 8th* International Symposium on High Pressure Low Temperature Plasma Chemistry was held on July 21 - 25, 2002 at Pühajärve ESTONIA.

Patil, S., Moiseev, T., Misra, N.N., Cullen, P.J., Mosnier, J.P., Keener, K.M., Bourke, P. (2014). *Influence of high voltage atmospheric cold plasma process parameters and role of relative humidity on inactivation of Bacillus atrophaeus spores inside a sealed package*. Journal of Hospital Infection 88, 162-169.

Pervez, M., R. Begum, A., Laroussi, M. (2014). *Plasma Based Sterilization: Overview and the Stepwise Inactivation Process of Microbial by Non-thermal Atmospheric Pressure Plasma Jet.* International Journal of Engineering & Technology IJET-IJENS 14 (05).