



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΥ

ΤΜΗΜΑ: ΤΕΤΡΟ

ΣΧΟΛΗ: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ

*«Χρήση όζοντος για αποφυγή  
μυκητολογικών αλλοιώσεων σε φρούτα»*



ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΗ: ΓΚΙΟΥΡΤΖΙΔΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΗΤΡΩΟΥ: 2013005

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΑΝΤΩΝΟΠΟΥΛΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ, 2018



# Υπεύθυνη Δήλωση

---

Βεβαιώνω, ότι είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας και κάθε βοήθεια που είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη, καθώς υπάρχει αναφορά για όλες τις πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων είτε αυτές αναφέρονται ακριβώς, είτε παραφρασμένες. Βεβαιώνω πως αυτή η πτυχιακή εργασία προετοιμάστηκε από εμένα προσωπικά ειδικά, για τις απαιτήσεις του προπτυχιακού προγράμματος σπουδών του Τμήματος Τεχνολογίας Τροφίμων του ΤΕΙ Πελοποννήσου.

Copyright © – All rights reserved

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος

(Υπογραφή).....

ΓΚΙΟΥΡΤΖΙΔΗΣ ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ, 2018

# Ευχαριστίες

---

Μέσα από αυτές τις λίγες γραμμές, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους με βοήθησαν και με στήριξαν κατά την εκπόνηση της πτυχιακής μου μελέτης. Η ολοκλήρωση αυτής της μελέτης ήταν μια πρόκληση, διότι, αποτελεί βασική προϋπόθεση για την ολοκλήρωση του πρώτου κύκλου σπουδών μου στο ΤΕΙ Πελοποννήσου.

Πρώτα απ' όλα θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Επιστημονικό Συνεργάτη-Επικουρο Καθηγητή μου, Δρ. Αντωνόπουλο Δημήτριο, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε κατά την ανάθεση της παρούσας πτυχιακής μελέτης και για το τόσο ενδιαφέρον θέμα που επέλεξε. Θερμές ευχαριστίες επίσης απευθύνω σε όλους τους καθηγητές που είχα όλα τα χρόνια της μέχρι στιγμής ακαδημαϊκής μου ζωής, για τις γνώσεις που μου μετέδωσαν.

Ένα μεγάλο και εγκάρδιο ευχαριστώ στους καρδιακούς μου φίλους για την στήριξη, τη συμπαράσταση και την κατανόησή τους, όπως επίσης, σε όλους όσους συνέβαλαν με οποιονδήποτε τρόπο στην επιτυχή εκπόνηση αυτής της πτυχιακής μελέτης. Τέλος, ένα τεράστιο ευχαριστώ αξίζουν δύο ήρωες της καθημερινότητάς μου, οι γονείς μου, που με στήριξαν ηθικά και οικονομικά όλα αυτά τα χρόνια, δίνοντάς μου κουράγιο για να φθάσω στον στόχο μου. Την παρούσα μελέτη μου την αφιερώνω στην οικογένειά μου.

# Περίληψη

---

Τα φρούτα έχουν αναγνωριστεί ως υγιεινή και θρεπτική τροφή, με αισθητή αύξηση της κατανάλωσης αλλά και μεγαλύτερη συχνότητα προσβολής από διάφορους μύκητες που σχετίζονται με τα φρέσκα προϊόντα. Ορισμένοι μύκητες που προσβάλλουν τα φρούτα μετασυλλεκτικώς ανήκουν στα γένη *Aspergillus* spp., *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp., *Monilinia* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Sclerotinia* spp.. Τα τρέχοντα ευρέως χρησιμοποιούμενα απολυμαντικά αποτυγχάνουν να αντιμετωπίζουν επαρκώς αυτούς τους μικροοργανισμούς, αλλά και άλλα πιθανά επιβλαβή παθογόνα. Απαιτούνται λοιπόν εναλλακτικοί και αποτελεσματικότεροι τρόποι αντιμετώπισης σε μετασυλλεκτικό επίπεδο, με το όζον να αποτελεί μια βιώσιμη εναλλακτική λύση σε σχέση με τα παραδοσιακά απολυμαντικά.

Παρά το σημαντικό εμπορικό ενδιαφέρον που έχει κερδίσει το όζον, πολλές αντιφάσεις σχετικά με την αποτελεσματικότητα του όζοντος απαντώνται συχνά στη βιβλιογραφία και χρειάζονται περαιτέρω έρευνες για να εκτιμηθεί η ενδεχόμενη εφαρμογή του στη βιομηχανία τροφίμων ως απολυμαντικό. Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε η βιβλιογραφική ανασκόπηση περί του σημαντικού ρόλου, που διαδραματίζει το όζον μειώνοντας την προσβολή από διάφορους μύκητες μετασυλλεκτικώς σε πολλά φρούτα, όπως, στα μούρα, στις φράουλες, στα σταφύλια, στα πορτοκάλια, στα μήλα, στα αχλάδια, κ.ά..

# Abstract

---

Fruit has been recognized as a healthy and nutritious food, with a marked increase in consumption, and a higher incidence of fungi related to fresh produce. Certain fungi that infect fruit postharvestly are *Aspergillus* spp., *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp., *Monilinia* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Sclerotinia* spp.. Current disinfectants fail to adequately control microorganisms, e.g. fungi, including other potentially harmful pathogens. Alternative and effective disinfectants are required to be studied, with ozone being a viable alternative to traditional disinfectants.

Despite the significant commercial interest, ozone has gained many contradictions in the literature and further research is needed to investigate its possible application in the food industry as a disinfectant. The present study, throughout a bibliographic review, shows the important role played by ozone in reducing the fungal attack on many fruits, such as berries, strawberries, grapes, oranges, apples, pears, etc.

# Περιεχόμενα

---

<b>Υπεύθυνη δήλωση</b>	<b>σελ.3</b>
<b>Ευχαριστίες</b>	<b>σελ.4</b>
<b>Περίληψη/Abstract</b>	<b>σελ.5/6</b>
<b>Περιεχόμενα</b>	<b>σελ.7</b>
<b>Πρόλογος</b>	<b>σελ.9</b>
<b>Εισαγωγή</b>	<b>σελ.10</b>
<b>Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup> : Φρούτα</b>	<b>σελ.13</b>
1.1. Δομή	σελ. 13
1.2. Επικονίαση	σελ. 14
1.3. Μορφολογικά Χαρακτηριστικά & Ταξινόμηση Φρούτων	σελ. 15
1.3.1. Μορφολογία	σελ. 15
1.3.2. Ταξινόμηση Φρούτων	σελ. 16
<b>Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup> : Μύκητες</b>	<b>σελ. 19</b>
2.1. Χαρακτηριστικά μυκήτων	σελ. 20
2.2. Ταξινόμηση μυκήτων	σελ. 21
2.3. Αναπαραγωγή μυκήτων	σελ. 23
2.4. Μύκητες που προσβάλλουν τα φρούτα	σελ. 24
2.4.1. <i>Aspergillus niger</i>	σελ. 24
2.4.2. <i>Botrytis cinerea</i>	σελ. 25
2.4.3. <i>Monilinia fructicola</i>	σελ. 26
2.4.4. <i>Penicillium digitatum</i>	σελ. 27
2.4.5. <i>Penicillium expansum</i>	σελ. 28
2.4.6. <i>Rhizopus stolonifer</i>	σελ. 29
2.4.7. <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	σελ. 30
<b>Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup> : Όζον</b>	<b>σελ.31</b>
3.1. Φυσικοχημικές ιδιότητες όζοντος	σελ. 31
3.2. Ιστορική αναδρομή	σελ. 32

3.3. Εφαρμογές	σελ. 33
3.3.1. Βιομηχανία	σελ. 33
3.3.2. Υδατοκαλλιέργεια	σελ. 35
3.3.3. Γεωργία	σελ. 35
3.3.4. Ιατρική	σελ. 36
3.4. Ιδιότητες όζοντος ως απολυμαντικό	σελ. 36
3.4.1. Βιοκτόνος δράση του όζοντος	σελ. 37
3.4.2. Αντιμικροβιακή δράση του όζοντος	σελ. 38
3.4.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τη δράση του όζοντος	σελ. 38
3.4.4. Φυτοτοξικότητα του όζοντος	σελ. 41
<b>Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup> : Εφαρμογές όζοντος στα φρούτα</b>	<b>σελ.42</b>
4.1. Υγρό όζον	σελ. 43
4.1.1. Μούρα	σελ. 44
4.1.2. Μηλοειδή	σελ. 46
4.1.3. Πυρηνόκαρπα	σελ. 46
4.1.4. Εσπεριδοειδή	σελ. 47
4.2. Αέριο όζον	σελ. 48
4.2.1. Μούρα	σελ. 49
4.2.2. Μηλοειδή	σελ. 54
4.2.3. Πυρηνόκαρπα	σελ. 55
4.2.4. Εσπεριδοειδή	σελ. 56
4.2.5. Τροπικά φρούτα	σελ. 59
<b>Συμπεράσματα</b>	<b>σελ.62</b>
<b>Βιβλιογραφία</b>	<b>σελ.65</b>



# Πρόλογος

---

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη αποτελεί την κορύφωση των σπουδών μου στο ΤΕΙ Πελοποννήσου της Σχολής Τεχνολογίας Γεωπονίας & Τεχνολογίας Τροφίμων και Διατροφής, Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων, και αφορά στη διερεύνηση της χρήσης του όζοντος σε φρούτα, για την αποφυγή μυκητολογικών αλλοιώσεων. Η πτυχιακή μελέτη αποτελείται από τέσσερα κεφάλαια.

Στο πρώτο κεφάλαιο γίνεται αναφορά στα φρούτα, στη δομή τους, στη γονιμοποίηση και πως ταξινομούνται ανάλογα με τους καρπούς τους. Στη συνέχεια, στο δεύτερο κεφάλαιο, αναφέρεται στους σημαντικότερους μύκητες, που προσβάλλουν τα φρούτα μετασυλλεκτικά περιγράφοντας τις καρποφορίες τους προς διάγνωση και τα συμπτώματα που προκαλούν.

Στο τρίτο κεφάλαιο αναλύονται ολοκληρωτικά οι φυσικοχημικές ιδιότητες του όζοντος, καθώς επίσης πως ανακαλύφθηκε, και οι εφαρμογές του στη βιομηχανία. Από το κεφάλαιο αυτό δεν θα μπορούσαν να απουσιάζουν και οι απολυμαντικές ιδιότητες του όζοντος. Στο τέταρτο κεφάλαιο, ως το κύριο μέρος της μελέτης, δια μέσου της πραγματοποιηθείσας βιβλιογραφικής ανασκόπησης, παρατίθενται μελέτες-εφαρμογές του όζοντος στα φρούτα, για την αποφυγή μυκητολογικών αλλοιώσεων.

Στη συνέχεια, αναφέρονται τα συμπεράσματα και ο επίλογος και η μελέτη ολοκληρώνεται με την παράθεση της βιβλιογραφίας.

# Εισαγωγή

---

Η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει αυξηθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες, καθώς η θρεπτική τους αξία αναγνωρίζεται πλήρως και θεωρούνται σημαντικά συστατικά (δηλαδή πλούσια σε αντιοξειδωτικά και βιταμίνες) της ανθρώπινης διατροφής (Yuk *et al.*, 2007). Η αυξημένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει οδηγήσει σε μεγαλύτερη συχνότητα ασθενειών (Sivapalasingam *et al.*, 2004) και, περαιτέρω, μεγαλύτερο ενδιαφέρον για την ασφάλεια αυτών των προϊόντων. Η μικροβιακή μόλυνση των φρούτων και λαχανικών είναι υπεύθυνη για το 2-8% όλων των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων ασθενειών, που προέρχονται από τρόφιμα (Painter *et al.*, 2013).

Τα φρέσκα φρούτα και λαχανικά είναι επιρρεπή σε απώλειες, που προκλήθηκαν από την παραγωγή, τη μεταφορά και την αποθήκευση με σοβαρές οικονομικές απώλειες (Jiang *et al.*, 2001). Οι απώλειες μικροβιακής αλλοίωσης μπορούν να φθάσουν στο 30% της συλλεχθείσας καλλιέργειας, αν και υπάρχουν ειδικές περιπτώσεις, όπως για παράδειγμα οι καρποί Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.), που οι απώλειες μεταξύ συγκομιδής και κατανάλωσης αγγίζουν το 50% (Jiang *et al.*, 2001). Με βάση την απώλεια 30% από τη συγκομιδή-κατανάλωση, οποιαδήποτε μείωση της σπατάλης θα είχε σημαντικό οικονομικό όφελος για τους καλλιεργητές, τους λιανοπωλητές και τους καταναλωτές.

Πολλοί μικροοργανισμοί προσβάλλουν τα φρούτα και τα λαχανικά με διάφορους τρόπους τόσο προσυλλεκτικά, όσο και μετασυλλεκτικά. Δηλαδή, η προσβολή τους μπορεί να συμβεί καθ' όλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, καθώς και κατά το χρόνο συγκομιδής, χειρισμού, αποθήκευσης, μεταφοράς, και εμπορίας, ακόμη και μετά την αγορά από τον καταναλωτή. Η ποικιλία των μικροοργανισμών που υπάρχουν στα νωπά προϊόντα εξαρτάται από τη φύση των προϊόντων, τις καλλιεργητικές πρακτικές, τη γεωγραφική περιοχή παραγωγής και τις καιρικές συνθήκες πριν από τη συγκομιδή (Brackett, 1999).

Ωστόσο, η φυσική μικροχλωρίδα που υπάρχει στην επιφάνεια των φρούτων και των λαχανικών είναι ως επί το πλείστον αβλαβής και συνήθως δεν επιδρά δυσμενώς στην αισθητική ποιότητα. Τα κύρια παθογόνα που ευθύνονται για απώλειες μετά τη συγκομιδή φρούτων και λαχανικών είναι, μεταξύ άλλων, διάφοροι μύκητες,

όπως οι *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Colletotrichum* spp., *Monilinia* spp., *Penicillium* spp., *Rhizopus* spp., *Sclerotinia* spp., αλλά και βακτήρια όπως τα *Erwinia* spp. και *Pseudomonas* spp.. Ωστόσο, άλλα παθογόνα βακτηριακής φύσεως, που δύναται να ανιχνευθούν σε φρούτα, όπως τα *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Enterococcus faecalis* και *Salmonella typhimurium* θεωρούνται επίσης μεγάλης σημασίας όσον αφορά την ανθρώπινη υγεία (Farooq & Akhlaque, 1983; Restaino *et al.*, 1995).

Πολλές μελέτες επιβεβαίωσαν την περιορισμένη αποτελεσματικότητα της χλωρίωσης (στις επιτρεπόμενες εφαρμοζόμενες δόσεις) στον έλεγχο των παθογόνων βακτηριδίων (Beuchat *et al.*, 1998 & Pirovani *et al.*, 2000), των ιών (Sobsey, 1989; Tyrrell, 1995) και των κύστεων πρωτόζωων (Korich *et al.*, 1990; Wickramanayake *et al.*, 1984). Έτσι, η μικροβιακή μόλυνση παραμένει σημαντική, παρά την υιοθέτηση της σημερινής «βέλτιστης πρακτικής», για την υγιεινή των βασικών προϊόντων (απόσβεση, ελεγχόμενη θερμοκρασία, πρόψυξη, κλπ.). Επιπλέον, η χρήση απολυμαντικών με βάση το χλώριο σε αποτελεσματικές συγκεντρώσεις [20 - 200 ppm ελεύθερου χλωρίου (Beuchat *et al.*, 1998)] μπορεί να παράγει αρώματα και οσμές σε επεξεργασμένα φρέσκα προϊόντα (Hassenberg *et al.*, 2008).

Τα παραγόμενα τριαλογονομεθάνια και τα αλοοξικά οξέα μπορούν να είναι επιβλαβή τόσο για τους ανθρώπους (καταναλωτές και εργαζόμενους στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας), όσο και για το περιβάλλον (Page *et al.*, 1976; Graham, 1997; Xu, 1999; Han *et al.*, 2002; Akbas & Ölmez, 2007; Charisiadis *et al.*, 2013). Κατά συνέπεια, η νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης (π.χ. EOK 2092/91 και οδηγία 98/8/EK για τα βιοκτόνα) επιβάλλει αυστηρές κατευθυντήριες γραμμές, που διέπουν τη χρήση των προϊόντων αυτών (καταναλωτές και εργαζόμενοι στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας) των απολυμαντικών με βάση το χλώριο και το βρώμιο, με στόχο να προχωρήσουν σε πλήρη απαγόρευση της χρήσης τους στο μέλλον, δεδομένου ότι η βρωμιωμένη απολύμανση με προϊόντα παρουσιάζει υψηλότερη γονιδιοτοξικότητα σε σύγκριση με τις χλωριωμένες ισοδύναμες ουσίες (Plewa *et al.*, 2008).

Απαιτούνται λοιπόν επειγόντως ασφαλείς και αποτελεσματικές εναλλακτικές λύσεις για τα αλογονωμένα απολυμαντικά, για να μειωθούν οι απώλειες αλλοίωσης, να βελτιωθεί η ασφάλεια των τροφίμων και να αποκτηθεί η εμπιστοσύνη και η έγκριση για τους καταναλωτές (Graham, 1997). Οι στόχοι της παρούσας μελέτης είναι η διεξαγωγή εμπειριστατωμένης επισκόπησης της εφαρμογής του όζοντος, ως εναλλακτικού απολυμαντικού μέσου στα φρούτα, με έμφαση στις αντιμυκητιακές

ιδιότητες του όζοντος (Tzortzakis *et al.*, 2007). Η οζονόλυση μπορεί να αποτελέσει βιώσιμη εναλλακτική λύση έναντι των παραδοσιακών απολυμαντικών, καθώς και τα αποτελέσματά της στην παραγωγή χαρακτηριστικών, που σχετίζονται με την ποιότητα.

# Κεφάλαιο 1<sup>ο</sup> : Φρούτα

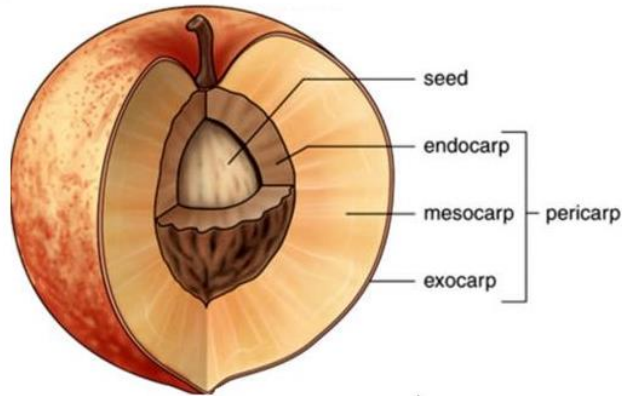
---

Τα φρούτα αποτελούσαν ανέκαθεν μέρος της ανθρώπινης διαίτας και αποτελούν σημαντική πηγή διατροφής με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό (70-85%) και σχετικά υψηλή περιεκτικότητα σε υδατάνθρακες, αλλά χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά (λιγότερο από 0,5%) και πρωτεΐνη (<3,5 %). Συνήθως περιέχουν πολλές χρήσιμες βιταμίνες, καθώς και μέταλλα και αντιοξειδωτικά (Goff & Klee 2006; Knee 2002). Στη βοτανική, φρούτο είναι η δομή που φέρει σπόρους σε ανθισμένα φυτά (επίσης γνωστά ως αγγειόσπερμα), που σχηματίζονται από τις ωοθήκες μετά την ανθοφορία. Τα φρούτα είναι τα μέσα με τα οποία τα αγγειοσπέρματα διαδίδουν τους σπόρους τους.

Οι βρώσιμοι καρποί, ειδικότερα, πολλαπλασιάζονται με τη βοήθεια ανθρώπων ή ζώων, καθώς και οι δύο έχουν εξαρτηθεί από τα φρούτα ως πηγή τροφής (Lewis, 2002). Κατά συνέπεια, τα φρούτα αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό κλάσμα της παγκόσμιας γεωργικής παραγωγής και ορισμένα (όπως το μήλο και το ρόδι) έχουν αποκτήσει εκτενείς πολιτιστικές και συμβολικές σημασίες. Στην κοινή χρήση, ο όρος «φρούτο» συνήθως χρησιμοποιείται για τις σαρκώδεις δομές -γλυκές ή ξινές- και είναι βρώσιμες στην ακατέργαστή τους μορφή, όπως τα μήλα, οι μπανάνες, τα σταφύλια, τα λεμόνια, τα πορτοκάλια και οι φράουλες. Αυτό το κεφάλαιο, παρέχει γενικές πληροφορίες για τα φρούτα.

## 1.1. Δομή

Το εξωτερικό, συχνά εδώδιμο στρώμα, είναι το περικάρπιο, που σχηματίζεται από τις ωοθήκες και περιβάλλει τους σπόρους, αν και σε ορισμένα είδη άλλοι ιστοί συμβάλλουν ή σχηματίζουν το εδώδιμο τμήμα (Εικ. 1.1.). Το περικάρπιο μπορεί να περιγραφεί σε τρία στρώματα από το εξωτερικό στο εσωτερικό, το επικάρπιο, το μεσοκάρπιο και το ενδοκάρπιο (Florabase, 2014).



**Εικ. 1.1.** Ανατομία καρπού.

**Πηγή:** <http://slideplayer.com/slide/5083004/>

## 1.2. Επικονίαση

Η επικονίαση είναι η μεταφορά των γυρεόκοκκων από τους ανθήρες στο στίγμα του υπέρου, επιτρέποντας την μεταγενέστερη γονιμοποίηση και την παραγωγή σπόρων. Η διαδικασία αυτή επιτυγχάνεται συνήθως με τη βοήθεια των εντόμων και του αέρα (Mauseth, 2009). Η επικονίαση συχνά συμβαίνει μέσα σε ένα είδος. Όταν γίνεται επικονίαση μεταξύ ειδών, μπορεί να παράγει υβριδικούς απογόνους στη φύση και σε εργασίες αναπαραγωγής φυτών.

Η επικονίαση γίνεται με τη βοήθεια του ανέμου (ανεμογαμία), του νερού (υδρογαμία) ή και ορισμένων ζώων (ζωογαμία). Ο κυριότερος όμως τρόπος επικονίασης είναι η εντομογαμία (Mauseth, 2009). Οι μέλισσες έχουν ενεργό ρόλο στη γονιμοποίηση των φυτών, καθώς δρουν ως μηχανικοί μεταφορείς της γύρης. Την εποχή της ανθοφορίας, οι μέλισσες προκειμένου να τραφούν, πλάθουν την γύρη και την μεταφέρουν με τα οπίσθια πόδια τους στην κυψέλη (Raghavan, 1997). Μία μέτρια αποικία μελισσών υπολογίζεται, ότι έχει 20 έως 40 φορές περισσότερη αξία για την επικονίαση των φυτών, παρά για την παραγωγή μελιού (Campbell & Reece, 2002).

## 1.3. Μορφολογικά Χαρακτηριστικά & Ταξινόμηση Φρούτων

### 1.3.1. Μορφολογία

Όσον αφορά τα φρούτα, τα χαρακτηριστικά που προσδίδουν διακριτική ποιότητα μπορούν να περιγραφούν από τέσσερα διαφορετικά χαρακτηριστικά (Hui *et al.*, 2010): χρώμα και εμφάνιση, γεύση (γεύση και άρωμα), υφή και θρεπτική αξία.

Αυτές οι τέσσερις ιδιότητες επηρεάζουν τους καταναλωτές, συνήθως με τη σειρά που καθορίζεται παραπάνω, για παράδειγμα, αξιολογούν πρώτα την οπτική εμφάνιση και το χρώμα, ακολουθούμενη από τη γεύση, το άρωμα και την υφή. Το σχήμα, το μέγεθος, η στιλπνότητα και το ζωντανό χρώμα ενός φρούτου ή λαχανικών προσελκύουν και δελεάζουν την αγορά του προϊόντος. Υπάρχουν μερικές συσχετίσεις μεταξύ των χαρακτηριστικών της υφής, ιδιαίτερα του χυμού και της γεύσης, καθώς και μεταξύ του χρώματος και της διατροφικής σύνθεσης των φρούτων (Hui *et al.*, 2010).

1. **Χρώμα:** Το χρώμα προέρχεται από τις φυσικές χρωστικές ουσίες στα φρούτα, πολλές από τις οποίες αλλάζουν καθώς το φυτό προχωράει στην ωρίμανση. Οι κύριες χρωστικές που προσδίδουν ποιότητα χρώματος είναι οι χλωροφύλλη (πράσινες), τα καροτενοειδή (κίτρινο, πορτοκαλί και κόκκινο), οι υδατοδιαλυτές ανθοκυανίνες (κόκκινο, μπλε), τα φλαβονοειδή (κίτρινο) και οι βεταλαΐνες (κόκκινο). Η εμφάνιση καθορίζεται και από φυσικούς παράγοντες, όπως το μέγεθος, το σχήμα, η ολότητα, η παρουσία ελαττωμάτων (κηλίδες, μώλωπες, κηλίδες, κλπ.) κ.ά.. Το μέγεθος και το σχήμα μπορεί να επηρεαστούν από την ποικιλία, την ωρίμανση και το αναπτυσσόμενο περιβάλλον (Hui *et al.*, 2010).
2. **Γεύση (άρωμα και γεύση):** Η γεύση έχει οριστεί ως: μία ανακατεμένη αλλά μοναδική εμπειρία που περιλαμβάνει τις αισθήσεις της γεύσης, της οσμής και της πίεσης και συχνά τις δερματικές αισθήσεις, όπως, τη ζεστασιά και το χρώμα. Οι ενώσεις του αρώματος είναι πτητικές - γίνονται αντιληπτές πρωτίστως με τη μύτη, ενώ οι υποδοχείς γεύσης υπάρχουν στο στόμα και επηρεάζονται όταν μαγειρεύεται το φαγητό. Η γεύση χωρίστηκε σε πέντε κύριες γεύσεις: τη γλυκιά, την ξινή, την αλμυρή, την πικρή και την umami (Hui *et al.*, 2010).

3. **Υφή:** Οι παράμετροι της υφής των φρούτων, αντιλαμβάνονται με την αίσθηση της αφής, είτε όταν το προϊόν παραλαμβάνεται με το χέρι, είτε όταν τοποθετείται στο στόμα να φαγωθεί. Σε αντίθεση με τα χαρακτηριστικά γεύσης, αυτά τα χαρακτηριστικά μετριοούνται αρκετά εύκολα χρησιμοποιώντας μεθόδους με όργανα. Η υφή των φρούτων προέρχεται από την πίεση τους και από τη σύνθεση των μεμονωμένων κυτταρικών τοιχωμάτων του φυτού.
4. **Διατροφική αξία:** Τα θρεπτικά συστατικά είναι ουσίες στα τρόφιμα που εξασφαλίζουν την κανονική ανάπτυξη των βιολογικών διεργασιών στο ανθρώπινο σώμα και συμμετέχουν στις μεταβολικές διεργασίες. Για να διατηρήσουμε μια καλή υγεία χρειάζονται 50 θρεπτικά συστατικά που εμπίπτουν σε έξι βασικές ομάδες: υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπίδια, βιταμίνες, μέταλλα και νερό. Τα σημαντικότερα θρεπτικά συστατικά είναι οι πρωτεΐνες με τα απαραίτητα αμινοξέα, τα λιπίδια με τα αντίστοιχα βασικά λιπαρά οξέα, τα χρήσιμα μεταλλικά άλατα, οι φυτικές ίνες και οι βιταμίνες (Segal et al., 1983). Τα φρούτα εν γένει είναι όξινα και ζαχαρούχα. Συνήθως ομαδοποιούνται σε αρκετές μεγάλες διαιρέσεις, ανάλογα κυρίως με τη βοτανική δομή, τη χημική σύνθεση και τις κλιματικές απαιτήσεις. Τα περισσότερα φρέσκα φρούτα έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε νερό, χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και λίπος. Τα φρούτα, είναι επίσης, σημαντικές πηγές μετάλλων και ορισμένων βιταμινών, ιδιαίτερα των Α και C (Hui et al., 2010).

### 1.3.2. Ταξινόμηση Φρούτων

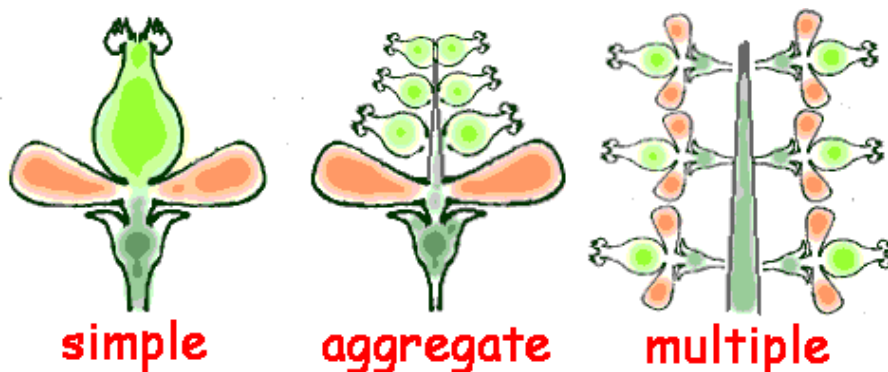
Οι ταξινομήσεις για τα φρούτα ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε συστατικά τροφίμων μπορούν να είναι χρήσιμες για επιδημιολογικές μελέτες. Η ταξινόμηση περιπλέκεται από τον μεγάλο αριθμό συστατικών τροφίμων στα φρούτα και από το γεγονός ότι δεν έχουν ταυτοποιηθεί όλα τα συστατικά και ότι δεν έχουν αναλυθεί όλα τα φρούτα για να προσδιοριστεί το επίπεδο των συστατικών που έχουν εντοπιστεί (Hui et al., 2010).

- **Βοτανική ταξινόμηση:** Η βοτανική ταξινόμηση των φυτών βασίζεται στα φυσιολογικά χαρακτηριστικά της ανάπτυξης, της οργάνωσης και της δομής των φυτών. Τα 7 επίπεδα βοτανικής ταξινόμησης είναι είδος, γένος, οικογένεια, τάξη, κλάση, φύλο και βασίλειο. Από το είδος προς το βασίλειο, το εύρος της ταξινομικής ομάδας αυξάνει, περιλαμβάνοντας όλο και μεγαλύτερο αριθμό οργανισμών ενώ οι μεταξύ τους ομοιότητές μειώνονται (Hui et al., 2010).



- **Συνθήκες καλλιέργειας:** Τα φυτά μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με το περιβάλλον καλλιέργειας (τον οικότοπο), δηλαδή, εάν αναπτύσσονται στο νερό ή στο έδαφος και οι φυτοκαλλιέργειες μπορούν να ταξινομηθούν περαιτέρω ανάλογα με το αν αναπτύσσονται σε περιοχές που είναι έρημες (χαμηλή υγρασία, υψηλή θερμοκρασία), τροπικές (υψηλή υγρασία, υψηλή θερμοκρασία) ή εύκρατες (μέτρια υγρασία και θερμοκρασία).
- **Ανάπτυξη φρούτων από άνθη:** Εκτός από τη βοτανική ταξινόμηση των φυτών, υφίσταται βοτανική ταξινόμηση των φρούτων σύμφωνα με το πώς αναπτύσσονται από τα άνθη τους. Τα φρούτα τυπικά έχουν τρεις περιοχές, το περικάρπιο, το οποίο είναι το δέρμα (φλούδα) ή το εξωτερικό στρώμα του τοιχώματος των φρούτων, η μεσοκάρπια ή μεσαία περιοχή, και το ενδοκάρπιο, το οποίο είναι η εσώτατη περιοχή γύρω από τους σπόρους. Όλα τα φρούτα μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις μεγάλες ομάδες με βάση τον αριθμό των ωοθηκών και τον αριθμό των ανθέων, που εμπλέκονται στο σχηματισμό τους.
  - **Απλά φρούτα:** τα απλά φρούτα αναπτύσσονται από μία ώριμη ωοθήκη σε ένα μόνο άνθος (Εικ. 1.2).
    - Τα **σαρκώδη φρούτα** περιλαμβάνουν τα πυρηνόκαρπα, τα μηλοειδή και τα μούρα:
      - Τα **πυρηνόκαρπα** έχουν ένα μόνο σπόρο, που περικλείεται από ένα σκληρό, πετρώδες κουκουτσι.
      - Στα **μηλοειδή**, η σάρκα προέρχεται από τη διευρυμένη υποδοχή που αναπτύσσεται γύρω από τις ωοθήκες και το ενδοκάρπιο γύρω από τους σπόρους μοιάζει με χαρτί ή δέρμα.
      - Τα **μούρα** αναπτύσσονται από μια σύνθετη ωοθήκη και συνήθως περιέχουν περισσότερους από έναν σπόρους. Οι τρεις τύποι μούρων είναι τα αληθινά μούρα, τα "peros" και τα εσπεριδοειδή.
        - Τα αληθινά μούρα είναι φρούτα με λεπτό δέρμα μαλακό κατά την πλήρη ωρίμανσή του, όπως τα βατόμουρα και η τομάτα.
        - Τα μούρα "Pero" έχουν σχετικά παχύ φλοιό και περιλαμβάνουν φρούτα, όπως, το καρπούζι.
    - Τα εσπεριδοειδή έχουν δερμάτινη «φλούδα» που περιέχει έλαια και το εσωτερικό τους, μοιάζει με σάκους που διογκώνονται με χυμό καθώς αναπτύσσεται ο καρπός, π.χ. πορτοκάλια.

- **Αποξηραμένα/Ξηρά φρούτα:** ξηρό περικάρπιο κατά την ωριμότητα.
  - **Αποφλοιωμένα φρούτα,** αυτά που αποκαλύπτονται ή «ανοίγουν» όταν είναι ώριμα.
  - **Μη αποφλοιωμένα φρούτα,** αυτά που δεν είναι ανοιχτά κατά την ωριμότητα
- **Καρποί σε συσσωματώματα:** (Εικ. 1.2) τα φρούτα υπό μορφή «*συσσωματώματος*» σχηματίζονται από ένα μόνο άνθος, το οποίο έχει πολλά καρπόφυλλα, αλλά δεν είναι ενωμένα μεταξύ τους, δηλαδή κάθε ύπερος περιέχει ένα καρπόφυλλο. Κάθε ύπερος σχηματίζει ένα φρούτο και όλα μαζί ονομάζονται συνολικοί καρποί ή "etaerio". Τα πιο γνωστά φρούτα σε αυτήν την κατηγορία είναι οι φράουλες (Gupta, 2006).
- **Πολλαπλά Φρούτα:** ένα πολλαπλό (multiple) φρούτο είναι αυτό που σχηματίζεται από ένα σύμπλεγμα ανθέων (που ονομάζεται ταξιανθία, ήτοι η διάταξη των ανθέων ενός φυτού στα κλαδιά του και άρα, ο συγκεκριμένος τρόπος με τον οποίο φύονται στο βλαστό) (Εικ. 1.2.). Κάθε άνθος παράγει φρούτα, αλλά αυτά ωριμάζουν σε μία μάζα (Schlegel, 2003). Παραδείγματα είναι ο ανανάς και το σύκο.
- **Φρούτα χωρίς σπόρους:** Τα κυριότερα φρούτα χωρίς σπόρους είναι οι μπανάνες. Η ασπερμία προέρχεται από την αποβολή του εμβρυϊκού φυτού που παράγεται κατά τη γονιμοποίηση, (φαινόμενο γνωστό ως "stenospermocary"), το οποίο απαιτεί φυσιολογική επικονίαση και γονιμοποίηση (Spiegel-Roy & Goldschmidt, 2008).



Εικ. 1.2. Απλά, συνολικά, πολλαπλά φρούτα

Πηγή: [http://www.backyardnature.net/frt\\_mult.htm](http://www.backyardnature.net/frt_mult.htm)

## Κεφάλαιο 2<sup>ο</sup> : Μύκητες

---

Οι μύκητες ανήκουν στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και διακρίνονται στους ζυμομύκητες, χυτριομύκητες, ασκομύκητες, βασιδιομύκητες, αδηλομύκητες. Τα γνωστά σε όλους μανιτάρια είναι η τέλεια μορφή των βασιδιομυκήτων, ενώ οι ζύμες είναι μονοκύτταροι μύκητες. Όλοι αυτοί οι οργανισμοί ταξινομούνται στο βασίλειο των «μυκήτων/fungi» οι οποίοι προφανώς είναι ξεχωριστοί από τα άλλα βασίλεια με μέλη ευκαρυώτες, όπως τα φυτά και τα ζώα. Η βασική διαφορά των μυκήτων με τα φυτά και τα βακτήρια είναι η χιτίνη, η οποία είναι οργανική ουσία στο κυτταρικό τους τοίχωμα, η οποία τυγχάνει να είναι ιδιαίτερα ισχυρή στις καταπονήσεις, λόγω των μεγάλων ινωδών μορίων. Οι ιδιότητές της μοιάζουν λίγο με αυτές της κερατίνης, που απαντάται στα μαλλιά και νύχια και αποτελεί την κύρια δομική συνιστώσα (δομικά τοιχώματα) των μυκήτων (Roberts & Evans, 2011).

Οι μύκητες είναι οι κύριοι αποσυνθέτες στα οικολογικά συστήματα. Αφθονούν καθώς βρίσκονται παντού (στο έδαφος, στον αέρα, στο νερό) και δεν είναι μακροσκοπικά πάντα ορατοί, λόγω του μικρού μεγέθους των δομών τους. Μπορούν να γίνουν αισθητοί συνήθως όταν καρποφορούν, για παράδειγμα είτε ως μανιτάρια, είτε ως μούχλα (εξάνθιση). Οι μύκητες διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στην αποσύνθεση της οργανικής ύλης και έχουν θεμελιώδεις ρόλους στην ανακύκλωση και στην ανταλλαγή θρεπτικών ουσιών στο περιβάλλον. Έχουν χρησιμοποιηθεί από καιρό ως άμεση πηγή ανθρώπινης τροφής, με τη μορφή μανιταριών, ως ζυμωτικό παράγοντα για το ψωμί, αλλά και στη ζύμωση διαφόρων προϊόντων διατροφής, όπως το κρασί, τη μύρα και τη σάλτσα σόγιας (Roberts & Evans, 2011).

Από το 1940, οι μύκητες έχουν χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή αντιβιοτικών και, πιο πρόσφατα, διάφορα ένζυμα, που παράγονται από μύκητες χρησιμοποιούνται βιομηχανικά και σε απορρυπαντικά. Οι μύκητες χρησιμοποιούνται, επίσης, ως βιολογικά εντομοκτόνα, για τον έλεγχο των ζιζανίων, των ασθενειών των φυτών και των παρασίτων των εντόμων. Πολλά είδη παράγουν βιοδραστικές ενώσεις που ονομάζονται μυκοτοξίνες, όπως αλκαλοειδή και πολυκετίδια, τα οποία είναι τοξικά για τα ζώα συμπεριλαμβανομένων και των ανθρώπων. Ορισμένες καρποφόρες δομές μερικών ειδών περιέχουν ψυχοτρόπους ενώσεις και καταναλώνονται ψυχαγωγικά ή σε παραδοσιακές πνευματικές τελετές (Roberts & Evans, 2011).

Το βασίλειο των μυκήτων περιλαμβάνει μια τεράστια ποικιλία ταξινομικών κατηγοριών με ποικίλες οικολογίες, κύκλου ζωής και μορφολογίες που κυμαίνονται από μονοκύτταρα υδρόβια χυτρίδια έως μεγάλα μανιτάρια. Ωστόσο, λίγα είναι γνωστά για την πραγματική βιοποικιλότητα του βασιλείου των «μυκήτων/fungi», η οποία έχει εκτιμηθεί σε 2,2 εκατομμύρια έως 3,8 εκατομμύρια είδη, από τα οποία έχουν περιγραφεί μόνο 120.000 είδη (Hawksworth & Lücking, 2017), ενώ 8000 από αυτά είναι επιβλαβή για τα φυτά και 300 μπορεί να είναι παθογόνα για τον άνθρωπο (Simpson, 1987).

Οι μύκητες θεωρούνται παραδοσιακά ετερότροφοι, που τους επιτρέπει να χρησιμοποιούν ποικιλία οργανικών υποστρωμάτων για ανάπτυξη, συμπεριλαμβανομένων απλών ενώσεων, όπως είναι το νιτρικό, η αμμωνία, το οξικό ή η αιθανόλη (Hynes, 1994).

## 2.1. Χαρακτηριστικά μυκήτων

Πριν από την εισαγωγή των μοριακών μεθόδων για φυλογενετική ανάλυση, οι ταξινομιστές θεωρούσαν τους μύκητες ως μέλη του φυτικού βασιλείου εξαιτίας των ομοιόμορφων τρόπων ζωής: τόσο οι μύκητες, όσο και τα φυτά, είναι κυρίως ακίνητοι και έχουν ομοιότητες στη γενική μορφολογία και τον οικολογικό βίτοπο. Όπως τα φυτά, οι μύκητες αναπτύσσονται συχνά στο έδαφος και, στην περίπτωση των μανιταριών, σχηματίζουν εμφανή φρούτα, που μερικές φορές μοιάζουν με φυτά όπως τα βρύα.

Οι μύκητες θεωρούνται τώρα ξεχωριστό βασίλειο, διαφορετικό από τα φυτά και τα ζώα, από το οποίο φαίνεται ότι έχουν αποκλίσει περίπου ένα δισεκατομμύριο χρόνια πριν (Bruns, 2006). Ορισμένα μορφολογικά, βιοχημικά και γενετικά χαρακτηριστικά τα μοιράζονται με άλλους οργανισμούς, ενώ άλλα είναι μοναδικά για τους μύκητες, ξεχωρίζοντάς τα ξεκάθαρα από τα άλλα βασίλεια.

### **Κοινές λειτουργίες:**

- **Με άλλους ευκαρυωτικούς:** Τα μυκητιακά κύτταρα περιέχουν πυρήνες με μεμβράνη με χρωμοσώματα που περιέχουν DNA με μη κωδικοποιημένες περιοχές, που ονομάζονται ιντρόνια και περιοχές κωδικοποίησης, που ονομάζονται εξόνια.

Έχουν χαρακτηριστική περιοχή διαλυτών υδατανθράκων και ενώσεων αποθήκευσης, συμπεριλαμβανομένων σακχαροαλκοολών (π.χ. μαννιτόλη), δισακχαριτών (π.χ. τρεαλόζη) και πολυσακχαριτών (π.χ. γλυκογόνου, το οποίο επίσης βρίσκεται σε ζώα (Shoji *et al.*, 2006).

- **Με τα ζώα:** Οι μύκητες στερούνται χλωροπλαστών και είναι ετερότροποι οργανισμοί απαιτώντας οργανικές ενώσεις ως πηγές ενέργειας (Shoji *et al.*, 2006).
- **Με φυτά:** Οι μύκητες έχουν κυτταρικό τοίχωμα και κενοτόπια (Shoji *et al.*, 2006). Αναπαράγονται με σεξουαλικό και με ασεξουαλικό τρόπο.
- **Με τα βακτηρίδια:** Ορισμένοι μύκητες και μερικά βακτήρια παράγουν την αμινοξική *L*-λυσίνη σε συγκεκριμένα βήματα βιοσύνθεσης, που ονομάζονται μονοπάτια *α*-αμινοαδιπικού (Zabriskie & Jackson, 2000).
- Όπως συμβαίνει με ορισμένα φυτικά και ζωικά είδη, περισσότερα από 70 είδη μυκήτων εμφανίζουν βιοφωταύγεια (Desjardin *et al.*, 2010).

#### **Μοναδικά χαρακτηριστικά:**

- Ορισμένα είδη αναπτύσσονται ως μονοκύτταρες ζύμες, που αναπαράγονται με εκκολαπτική ή δυαδική σχάση. Οι δημοφιλείς μύκητες μπορούν να αλλάξουν μεταξύ μίας φάσης ζυμομύκητα και μιας φάσης υφής, σε απόκριση στις περιβαλλοντικές συνθήκες (Bowman & Free, 2006).
- Το κυτταρικό τοίχωμα των μυκήτων αποτελείται από γλυκάνες και χιτίνη· ενώ οι γλυκάνες βρίσκονται επίσης στα φυτά και η χιτίνη στο εξωσκελετό των αρθροπόδων (Bowman & Free, 2006), οι μύκητες είναι οι μόνοι οργανισμοί που συνδυάζουν αυτά τα δύο δομικά μόρια στο κυτταρικό τους τοίχωμα.

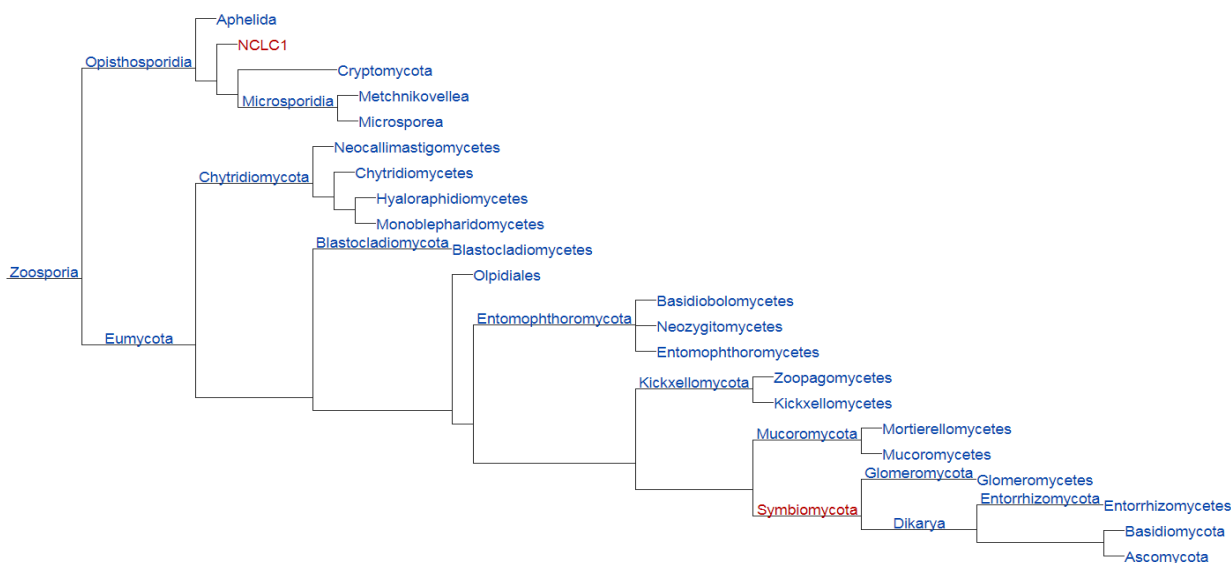
## **2.2. Ταξινόμηση μυκήτων**

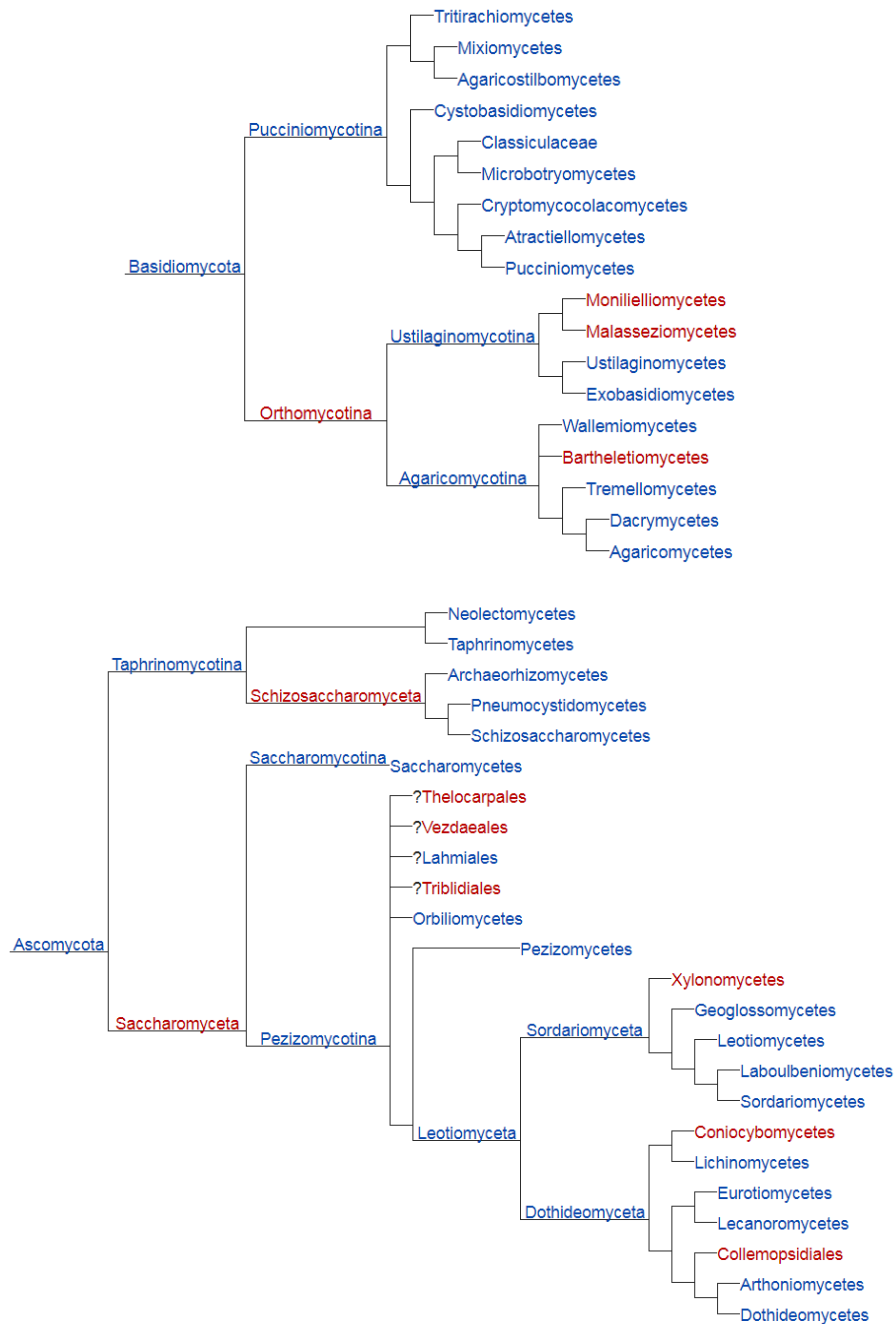
Οι μύκητες αναπτύσσονται σε ευρύ φάσμα οικοτόπων και ακραία περιβάλλοντα, π.χ. ερήμος ή περιοχές με υψηλές συγκεντρώσεις άλατος ή ιοντίζουσα ακτινοβολία, καθώς και σε ιζήματα βαθέων υδάτων (Vaupotic *et al.*, 2008). Οι περισσότεροι αναπτύσσονται στο έδαφος αν και διάφορα είδη διαβιούν εν μέρει ή αποκλειστικά σε υδρόβια περιβάλλοντα, όπως ο χυτρίδιομύκητας *Batrachomyces dendrobatidis*· υπεύθυνο παράσιτο για τη μείωση των πληθυσμών των αμφιβίων.

Περίπου 120.000 είδη μυκήτων έχουν περιγραφεί από τους ταξινομιστές, αλλά η παγκόσμια βιοποικιλότητα του βασιλείου των μυκήτων δεν είναι πλήρως κατανοητή. Η ταξινόμηση με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, όπως το μέγεθος και το σχήμα των σπορίων ή των καρποφόρων δομών, κυριαρχεί παραδοσιακά στην ταξινόμηση των μυκήτων (Mueller & Schmit, 2007). Τα είδη μπορούν, επίσης, να διακριθούν με βάση τα βιοχημικά και τα φυσιολογικά χαρακτηριστικά τους, όπως η ικανότητά τους να μεταβολίζουν ορισμένα βιοχημικά ή την αντίδρασή τους σε χημικές δοκιμές.

Δεν υπάρχει ένα μοναδικό γενικά αποδεκτό σύστημα στα υψηλότερα ταξινομικά επίπεδα και υπάρχουν συχνές αλλαγές ονόματος σε κάθε επίπεδο, από τα είδη προς τα πάνω. Οι προσπάθειες των ερευνητών βρίσκονται σε εξέλιξη για να καθιερώσουν και να ενθαρρύνουν τη χρήση ενός ενιαίου και συνεπέστερου συστήματος (Hibbett *et al.*, 2007; Celio *et al.*, 2006). Τα είδη μυκήτων μπορούν επίσης να έχουν πολλαπλές επιστημονικές ονομασίες ανάλογα με τον κύκλο ζωής τους, τον τρόπο αναπαραγωγής τους (σεξουαλική ή ασεξουαλική) κ.ά..

Η ταξινόμηση του βασιλείου των μυκήτων είναι το αποτέλεσμα ερευνητικής προσπάθειας και συνεργασίας από δεκάδες μυκητολόγους και άλλους επιστήμονες, που ασχολούνται με την ταξινόμηση των μυκήτων βάσει των χαρακτηριστικών των αναπαραγωγικών τους δομών (Hibbett *et al.*, 2007). Κάτωθι παρατίθενται τα κλαδογράμματα, που απεικονίζουν τις κύριες ταξινομήσεις του βασιλείου των μυκήτων (Εικ. 2.1). Επί του παρόντος, προτείνονται επτά φύλα: *Microsporidia*, *Chytridiomycota*, *Blastocladiomycota*, *Neocallimastigomycota*, *Glomeromycota*, *Ascomycota* και *Basidiomycota* (Hibbett *et al.*, 2007).





**Εικ. 2.1** Προτεινόμενες ταξινομήσεις No. 1 (άνω) No. 2 (μέση) και No. 3 (κάτω) των μικροοργανισμών του βασιλείου των μυκήτων.

Πηγή: © Silar, 2016

## 2.3. Αναπαραγωγή μυκήτων

Η αναπαραγωγή των μυκήτων είναι περίπλοκη, αντικατοπτρίζοντας τις διαφορές στον τρόπο ζωής και τη γενετική σύνθεση σε αυτό το διαφορετικό βασίλειο των

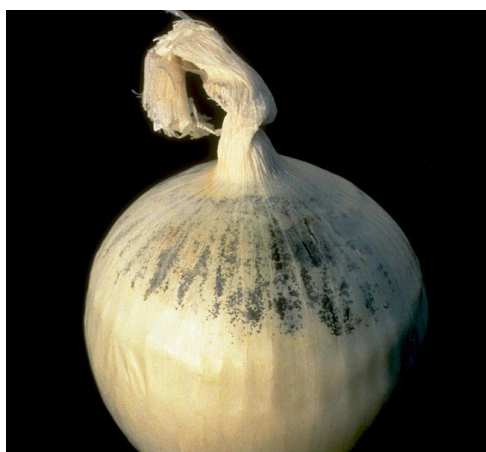
οργανισμών. Εκτιμάται ότι το ένα τρίτο όλων των μυκήτων αναπαράγεται χρησιμοποιώντας περισσότερες από μία μεθόδους. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες ενεργοποιούν γενετικά καθορισμένες αναπτυξιακές καταστάσεις που οδηγούν στη δημιουργία εξειδικευμένων δομών για αναπαραγωγή σεξουαλικού ή ασεξουαλικού τύπου. Αυτές οι δομές βοηθούν στην αναπαραγωγή με αποτελεσματική διασπορά σπορίων ή των καρποφοριών, που περιέχουν σπόρια (Heitman, 2006).

## 2.4. Μύκητες που προσβάλλουν τα φρούτα

### 2.4.1. *Aspergillus niger*

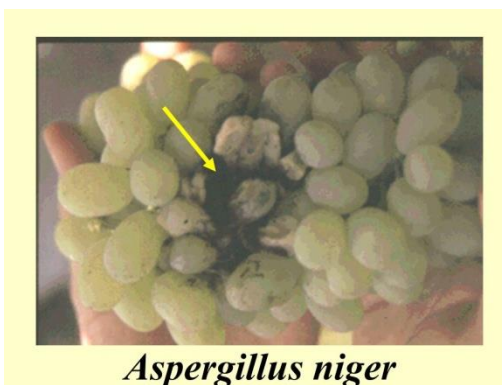
Ο *Aspergillus niger* είναι σαπρόφυτο που συναντάται στα έδαφος οργανικά απόβλητα, σκόνη, κοπριά, τροφές, καρυκεία και φυτά και προσβάλλει ορισμένα φρούτα και λαχανικά, όπως τα σταφύλια και τα βερίκοκα αναπτύσσοντας σε κατάλληλες συνθήκες περιβάλλοντος καστανόμαυρη εξάνθιση. Ορισμένα στελέχη του *A. niger* είναι ικανά να παράγουν ισχυρές τοξικολογικές *μυκοτοξίνες* και κυρίως την ωχρατοξίνη A (Miller *et al.*, 2001 & Schuster *et al.*, 2002).

Ο μύκητας μπορεί να προσβάλλει συχνά, μεταξύ άλλων, τα κρεμμύδι, σταφύλι και μούρα (Εικ. 2.2 & 2.3). Στο κρεμμύδι, η μόλυνση με τα κονίδια από τον *A. niger* μπορεί να γίνει συστηματική σε συνθήκες ενοϊκές (Miller *et al.*, 2001 & Schuster *et al.*, 2002).



**Εικ. 2.2.** Ανάπτυξη *A. niger* στο κρεμμύδι

**Πηγή:** [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Aspergillus\\_niger\\_on\\_onion.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Aspergillus_niger_on_onion.jpg)



**Εικ. 2.3.** Ανάπτυξη *A. niger* στα σταφύλια

**Πηγή:** <http://slideplayer.com/slide/10670718/>



Ο *A. niger* είναι ο λιγότερο πιθανός μύκητας να προσβάλλει τον άνθρωπο σε σχέση με κάποια άλλα είδη *Aspergillus* (Εικ. 2.4). Σε εξαιρετικά σπάνιες περιπτώσεις, οι άνθρωποι μπορεί να ασθενήσουν από τη σοβαρή ασθένεια των πνευμόνων, την *ασπεργίλλωση*. Η *ασπεργίλλωση* είναι ιδιαίτερα συχνή σε αυτούς που εργάζονται σε κήπους εισπνέοντας σκόνη τύρφης, η οποία μπορεί να είναι πλούσια σε σπόρια *Aspergillus*. Επιπλέον, ο μύκητας *A. niger* προκαλεί μία από τις πιο κοινές αιτίες της ωτομυκίτιδας (μυκητιασικές λοιμώξεις του αυτιού), που μπορεί να προκαλέσει πόνο, προσωρινή απώλεια ακοής και, σε σοβαρές περιπτώσεις, βλάβη στο κανάλι του αυτιού και στην τυμπανική μεμβράνη (Miller *et al.*, 2001 & Schuster *et al.*, 2002).



**Εικ. 2.4.** Καλλιέργεια *Aspergillus niger* σε τρυβλίο Petri

**Πηγή:** <http://fungi.myspecies.info/file-colorboxed/945>

### 2.4.2. *Botrytis cinerea*

Ο μύκητας *Botrytis cinera* είναι πολυφάγος και προσβάλλει πολλά φυτικά είδη, π.χ. τα οινοποιήσιμα σταφύλια (Εικ. 2.5). Τα συμπτώματα προσβολής που αναπτύσσονται είναι υγρή σήψη σε ξηροφυτικές συνθήκες ακολουθούμενες από υγρασία και το σημείο γκρι εξάνθιση σε υγρές συνθήκες μακράς διάρκειας και χαμηλών θερμοκρασιών με αποτέλεσμα την απώλεια των προσβεβλημένων βοτράων.

Ο μύκητας αναφέρεται συνήθως με το επιστημονικό του όνομα της ατελούς μορφής του μιας και η τέλεια παρατηρείται σπανιότερα (ασκομύκητας *Botryotinia fuckeliana* ή *Botryotinia cinerea* (Williamson *et al.*, 2007).



**Εικ. 2.5.** Καλλιέργεια *Botrytis cinera* σε τρυβλίο Petri

**Πηγή:** <https://www.plantmanagementnetwork.org/elements/view.aspx?ID=3139>

Ο μύκητας *Botrytis cinerea* μολύνει είτε ώριμους, είτε γηρασμένους φυτικούς ιστούς σε πολλά μονοκοτυλίδωνα και δικοτυλίδωνα φυτά, π.χ. ρεβίθια, μαρούλια, μπρόκολα και φασόλια, σταφύλια, φράουλες, βατόμουρα, κ.ά. (Εικ. 2.6). Στον άνθρωπο, μπορεί να προκληθεί πνευμονία, σπάνια μορφή πνευμονίας υπερευαισθησίας (αναπνευστική αλλεργική αντίδραση σε άτομα με προδιάθεση), όταν έρχεται συχνά σε επαφή με προσβεβλημένα φρούτα και λαχανικά από το μύκητα *Botrytis cinerea* (Williamson *et al.*, 2007).



**Εικ. 2.6.** Προσβολή βατόμουρων από *B. cinerea*

**Πηγή:** <https://www.apsnet.org/publications/imageresources/Pages/raspberry451.aspx>

### **2.4.3. *Monilinia fructicola***

Ο μύκητας *Monilinia fructicola* είναι φυτοπαθογόνος και προκαλεί την ασθένεια της φαιάς σήψης φρούτων. Προσβάλλει κυρίως τα πυρηνόκαρπα (βερίκοκα, ροδάκινα κεράσια) προκαλώντας κηλίδες και σήψη στη φλούδα υπό εξάνθησης (Ritchie, 2000).

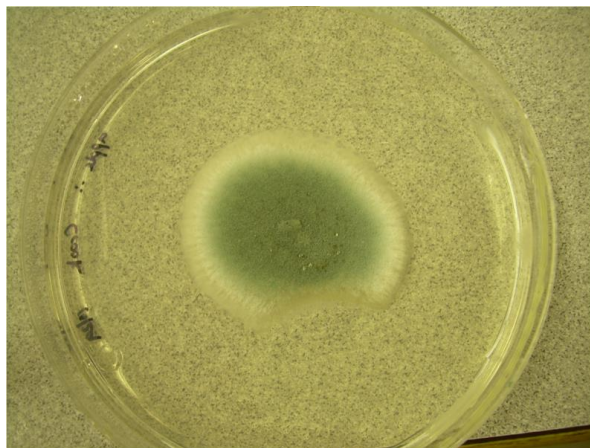


Εικ. 2.7. Προσβολή μήλου από το *Monilinia fructicola*

Πηγή: [https://en.wikipedia.org/wiki/Monilinia\\_fructicola#/media/File:Sclerotinia\\_fructigena.jpg](https://en.wikipedia.org/wiki/Monilinia_fructicola#/media/File:Sclerotinia_fructigena.jpg)

#### 2.4.4. *Penicillium digitatum*

Ο μύκητας *Penicillium digitatum* είναι μεσόφιλος, που βρίσκεται συνήθως στο έδαφος εσπεριδοειδώνων (Εικ. 2.8). Οι μύκητες του γένους *Penicillium* έχουν ξηροσπόρια, δηλαδή τα κονιδια τους μεταφέρονται με τον άνεμο σε μεγάλες αποστάσεις (Pitt & Hocking, 2009). Αποτελεί σημαντική πηγή αποσύνθεσης μετά τη συγκομιδή σε φρούτα και είναι υπεύθυνος για την εκτεταμένη ασθένεια μετά τη συγκομιδή στα εσπεριδοειδή, γνωστή ως πράσινη σήψη (Pitt & Hocking, 2009).



Εικ. 2.8. Καλλιέργεια *Penicillium digitatum* σε τρυβλίο Petri

Πηγή: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/52/Penicillium\\_digitatum\\_plate.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/52/Penicillium_digitatum_plate.png)

Η σήψη από το μύκητα *P. digitatum*, αλλά και τον *P. italicum* (μπλε εξάνθιση), αποτελεί το κύριο αίτιο απώλειας καρπών εσπεριδοειδών μετασυλλακτικά (Εικ. 2.9)

(Pitt & Hocking, 2009; Wilson et al., 1991). Ο *P. digitatum* ευθύνεται για την απώλεια 90% εσπεριδοειδών μετασυλλεκτικά και φυσικά θεωρείται ως η μεγαλύτερη αιτία μείωσης της παραγωγής στα εσπεριδοειδή της Καλιφόρνια (Ariza et al., 2002).



**Εικ. 2.9.** Ανάπτυξη *Penicillium digitatum* σε πορτοκάλι

**Πηγή:** <https://alchetron.com/Penicillium-digitatum>

Τα είδη του γένους *Penicillium* γενικά δεν προκαλούν ασθένεια στους ανθρώπους, ορισμένα είδη όμως μπορούν να γίνουν παθογόνα κατά τη μακροχρόνια έκθεση, σε άτομα που είναι ανοσοκατασταλμένα ή υπεραισθητοποιημένα σε ορισμένα μέρη του μύκητα (Oshikata et al., 2013; Notermans et al., 1988). Τα σπόρια, τα πρωτεολυτικά ένζυμα και οι γλυκοπρωτεΐνες συγκαταλέγονται μεταξύ των συστατικών που συνήθως αναφέρονται ως αλλεργιογόνα στους ανθρώπους (Notermans et al., 1988).

#### **2.4.5. *Penicillium expansum***

Ο μύκητας *Penicillium expansum* απαντάται στο έδαφος και προκαλεί σήψη και μπλε εξάνθηση μετά τη συγκομιδή των μηλοειδών (Εικ. 2.10), αλλά και των πυρηνόκαρπων και των εσπεριδοειδών.

Η σημαντικότητα του *P. expansum* έγκειται στο γεγονός ότι παράγει την πατουλίνη μια μυκοτοξίνη/νευροτοξίνη που μπορεί να εισέλθει στην τροφική αλυσίδα μέσω των μήλων και των προϊόντων του, όπως, ο χυμός και ο μηλίτης (Deacon, 2001), γι' αυτό ο έλεγχος του *P. expansum* είναι ζωτικής σημασίας.



**Εικ. 2.10.** Ανάπτυξη *Penicillium expansum* σε μήλο

**Πηγή:** <https://www.rosbreed.org/rosaceae-nemesis/apple-blue-mold>

#### 2.4.6. *Rhizopus stolonifer*

Ο μύκητας *Rhizopus stolonifer* είναι μέλος *Zygomycota* και θεωρείται το πιο σημαντικό είδος στο γένος *Rhizopus* (Webster & Weber, 2007). Είναι ένας από τους πιο συνηθισμένους μύκητες στον κόσμο και συνηθέστερα βρίσκεται σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές (Moore-Landecker, 1972). Προσβάλλει κυρίως ώριμα φρούτα, όπως φράουλες, πεπόνι και ροδάκινο, μιας και έχουν υψηλή περιεκτικότητα σε σάκχαρα. Μετά από μερικές ημέρες, τα μολυσμένα φρούτα καθίστανται μαλακά και απελευθερώνουν χυμούς με όξινη οσμή (Εικ. 2.11) (Baggio *et al.*, 2015). Όταν η υγρασία και η θερμοκρασία είναι ευνοϊκές, ο μύκητας αναπτύσσεται, παράγοντας διαφορετικά είδη εστερασών, που βοηθούν τον μύκητα να διεισδύσει στο τοίχωμα του φυτικού κυττάρου (Baggio *et al.*, 2015). Η ασθένεια μπορεί επίσης να επηρεάσει άλλα γειτονικά υγιή φρούτα καθώς διανέμεται με την αιολική ή την δραστηριότητα των εντόμων (Domsch *et al.*, 1993).



**Εικ. 2.11.** Ανάπτυξη *Rhizopus stolonifer* σε φράουλες

**Πηγή:**

[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/1c/Rhizopus\\_stolonifer\\_on\\_a\\_strawberry\\_showing\\_black\\_sporangia.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/1c/Rhizopus_stolonifer_on_a_strawberry_showing_black_sporangia.jpg)

### 2.4.7. *Sclerotinia sclerotiorum*

Ο μύκητας *Sclerotinia sclerotiorum* είναι ένας φυτοπαθογόνος μύκητας με ευρύ φάσμα ξενιστών και μπορεί να προκαλέσει ασθένεια, που ονομάζεται *λευκή εξάνθιση* εάν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές (Εικ. 2.12). Βασικό χαρακτηριστικό αυτού του παθογόνου, είναι η ικανότητά του να παράγει μαύρα σκληρώτια και λευκές ασαφείς αναπτύξεις μυκηλίου στο φυτό που προσβάλλει. Όταν το *S. sclerotiorum* βρεθεί σε ευνοϊκές περιβαλλοντικές συνθήκες, οι απώλειες μπορεί να είναι μεγάλες (Αγρίος, 2009).



**Εικ. 2.12.** Ανάπτυξη *Sclerotinia sclerotiorum* σε τομάτες  
**Πηγή:** <https://ag.umass.edu/vegetable/fact-sheets/solanaceous-white-mold>

# Κεφάλαιο 3<sup>ο</sup> : Όζον

---

## 3.1. Φυσικοχημικές ιδιότητες όζοντος

Το όζον, είναι ένα ανόργανο μόριο με χημικό τύπο  $O_3$ . Είναι ανοιχτόχρωμο μπλε αέριο με έντονη οσμή. Αποτελεί μια άλλη μορφή του οξυγόνου πολύ λιγότερο σταθερή από τη διατομική  $O_2$ . Το όζον σχηματίζεται από διοξείδιο με τη δράση υπεριώδους φωτός και ατμοσφαιρικών ηλεκτρικών εκκενώσεων και υπάρχει σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις σε όλη την ατμόσφαιρα της Γης (στρατόσφαιρα). Η συγκέντρωσή του είναι υψηλότερη στην περιοχή του όζοντος της ατμόσφαιρας, η οποία απορροφά το μεγαλύτερο μέρος της υπεριώδους (UV) ακτινοβολίας του Ήλιου (Cuthbertson & Cuthbertson, 1914).

Η οσμή του όζοντος είναι απότομη, θυμίζει χλώριο και ανιχνεύσιμη από πολλούς ανθρώπους σε συγκεντρώσεις μόλις 100 ppb στον αέρα. Η δομή του προσδιορίστηκε το 1865. Το μόριο αργότερα αποδείχθηκε ότι έχει μια κυρτή δομή και είναι διαμαγνητικό. Η αστάθεια του όζοντος σε σχέση με το συνηθισμένο διοξείδιο είναι τέτοια, ώστε τόσο το συμπυκνωμένο αέριο όζον όσο και το υγρό όζον να μπορούν να αποσυντεθούν εκρηκτικά σε υψηλές θερμοκρασίες ή με γρήγορη θέρμανση στο σημείο βρασμού (Streng, 1961). Κατά συνέπεια χρησιμοποιείται εμπορικά μόνο σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

Το όζον είναι ισχυρό οξειδωτικό και έχει πολλές βιομηχανικές και καταναλωτικές εφαρμογές που σχετίζονται με την οξείδωση. Ωστόσο, το ίδιο υψηλό οξειδωτικό δυναμικό προκαλεί το όζον να βλάψει τους βλεννογόνους και τους αναπνευστικούς ιστούς στα ζώα και στα φυτά, πάνω από τις συγκεντρώσεις περίπου 100 ppb. Αυτό καθιστά το όζον ισχυρό αναπνευστικό κίνδυνο και ρύπο πλησίον του εδάφους. Ωστόσο, η στιβάδα του όζοντος (ένα μέρος της στρατόσφαιρας με υψηλότερη συγκέντρωση όζοντος, από 2-8 ppm) είναι ευεργετικό, εμποδίζοντας το υπεριώδες φως να φτάσει στην επιφάνεια της Γης προς όφελος τόσο των φυτών όσο και των ζώων (Jerrett *et al.*, 2009).

## 3.2. Ιστορική αναδρομή

Το 1785, ο ολλανδός χημικός Martinus van Marum διεξήγαγε πειράματα που αφορούσαν το ηλεκτρικό σπινθήρισμα πάνω στο νερό, όταν παρατηρούσε μια ασυνήθιστη οσμή, την οποία απέδωσε στις ηλεκτρικές αντιδράσεις, παραλείποντας να συνειδητοποιήσει ότι δημιούργησε όζον (colostate.edu, 2018). Μισό αιώνα αργότερα, ο Christian Friedrich Schönbein παρατήρησε την ίδια οσμή και την αναγνώρισε σαν τη μυρωδιά που ακολουθούσε την αστραπή. Το 1839 κατάφερε να απομονώσει την αέρια χημική ουσία και την ονόμασε «όζον» (Rubin, 2001). Για το λόγο αυτό, ο Schönbein γενικά πιστώνεται με την ανακάλυψη του όζοντος (Le Prestre *et al.*, 1998; colostate.edu, 2018). Ο τύπος για το όζον, O<sub>3</sub>, δεν καθορίστηκε μέχρι το 1865 από τον Jacques-Louis Soret και επιβεβαιώθηκε από τον Schönbein το 1867 (Rubin, 2001).

Για μεγάλο μέρος του δεύτερου μισού του δέκατου ένατου αιώνα και μέχρι τον εικοστό, το όζον θεωρήθηκε υγιές συστατικό του περιβάλλοντος από τους φυσιολόγους. Οι φυσιολόγοι που εργάζονται σε εξωτερικούς χώρους συχνά θεωρούσαν τα υψηλότερα υψόμετρα ευεργετικά, λόγω της περιεκτικότητάς τους σε όζον. *«Υπάρχει μια αρκετά διαφορετική ατμόσφαιρα σε μεγάλο υψόμετρο με αρκετό όζον για να διατηρηθεί η απαραίτητη ενέργεια»*, γράφει ο φυσιολόγος Henry Henshaw (Henshaw *et al.*, 1912). Ο παραθαλάσσιος αέρας θεωρήθηκε υγιής εξαιτίας της θεωρημένης περιεκτικότητάς του σε όζον, αλλά η μυρωδιά που δημιουργεί αυτή την πίστη είναι στην πραγματικότητα αυτή των αλογονωμένων μεταβολιτών των φυκιών (O'Connell, 2009).

Ένα μεγάλο μέρος της προσφυγής του όζοντος φαίνεται να έχει προκύψει από τη «φρέσκια» μυρωδιά του, η οποία προκάλεσε συσχετισμούς με καθαριστικές ιδιότητες. Οι επιστήμονες, ωστόσο, σημείωσαν τις βλαβερές συνέπειές του. Το 1873 οι James Dewar & John Gray McKendrick κατέγραψαν, ότι οι βάτραχοι έγιναν υποτονικοί, τα πουλιά άσθμαιναν για αναπνοή και το αίμα των κουνελιών εμφάνιζε μειωμένα επίπεδα οξυγόνου μετά την έκθεση σε «οζονισμένο αέρα», που «ασκούσε καταστρεπτική δράση» (Brunton, 2010). Ο ίδιος ο Schönbein ανέφερε ότι οι θωρακικοί πόνοι, ο ερεθισμός των βλεννογόνων και η δυσκολία στην αναπνοή προέκυψαν ως αποτέλεσμα της εισπνοής όζοντος και τα μικρά θηλαστικά πέθαναν (Rubin, 2001).



Το 1911, οι Leonard Hill & Martin Flack δήλωσαν στα Πρακτικά της Βασιλικής Εταιρείας Β' ότι τα υγιή αποτελέσματα του όζοντος «έχουν απλώς επαναληφθεί και αποτελούν μέρος της κοινής πεποίθησης. Παρόλα αυτά οι ακριβείς φυσιολογικές ενδείξεις υπέρ των καλών επιπτώσεών του μέχρι τώρα ήταν σχεδόν εξ ολοκλήρου λανθασμένες [...] Η μόνη διεξοδικά γνωστή γνώση σχετικά με τη φυσιολογική επίδραση του όζοντος, μέχρι σήμερα, είναι ότι προκαλεί ερεθισμό και οίδημα των πνευμόνων και θάνατο αν εισπνευστεί σε σχετικά έντονη συγκέντρωση για οποιονδήποτε χρόνο.» (Hill & Flack, 1911).

Κατά τη διάρκεια του Α' Παγκοσμίου Πολέμου, το όζον δοκιμάστηκε στο Στρατιωτικό Νοσοκομείο της Βασίλισσας Αλεξάνδρας στο Λονδίνο ως πιθανό απολυμαντικό για τις πληγές. Το αέριο εφαρμόστηκε απευθείας σε τραύματα για 15 λεπτά. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα βλάβη τόσο στα βακτηριακά κύτταρα, όσο και στον ανθρώπινο ιστό. Άλλες τεχνικές απολύμανσης, όπως η άρδευση με αντισηπτικά, κρίθηκαν προτιμητέες (Stoker, 1916).

### 3.3. Εφαρμογές

#### 3.3.1. Βιομηχανία

Η μεγαλύτερη χρήση του όζοντος είναι στην παρασκευή φαρμακευτικών, συνθετικών λιπαντικών και πολλών άλλων εμπορικών χρήσιμων οργανικών ενώσεων, όπου χρησιμοποιείται για τον περιορισμό δεσμών άνθρακα-άνθρακα (Brown & Lemay, 2003). Μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί για λεύκανση ουσιών και για τη θανάτωση μικροοργανισμών στον αέρα και στις πηγές ύδατος (Delimpasis, 2009). Πολλά δημοτικά συστήματα πόσιμου νερού σκοτώνουν τα βακτήρια με το όζον, αντί για το πιο κοινό χλώριο (Barceló, 2007). Το όζον έχει πολύ υψηλό δυναμικό οξειδωσης (Ozone-Information.com, 2008), καθώς δεν σχηματίζει οργανοχλωριούχες ενώσεις, ούτε παραμένει στο νερό μετά τη θεραπεία.

Το όζον μπορεί να σχηματίσει το ύποπτο βρωμιούχο καρκινογόνο σε νερό με υψηλές συγκεντρώσεις βρωμιδίου. Ο νόμος περί υγιεινής πόσιμου νερού των Η.Π.Α. ορίζει, ότι τα συστήματα αυτά εισάγουν ποσότητα χλωρίου για τη διατήρηση

τουλάχιστον 0,2 μmol / mol υπολειμματικού ελεύθερου χλωρίου στους σωλήνες, με βάση τα αποτελέσματα των τακτικών δοκιμών. Όπου η ηλεκτρική ενέργεια είναι άφθονη, το όζον είναι μια οικονομικά αποδοτική μέθοδος επεξεργασίας του νερού, καθώς παράγεται κατόπιν ζήτησης και δεν απαιτεί τη μεταφορά και αποθήκευση επικίνδυνων χημικών ουσιών. Μόλις αποσυντεθεί, δεν αφήνει γεύση ή οσμή στο πόσιμο νερό.

Βιομηχανικά, το όζον χρησιμοποιείται για:

- Απολύμανση του νοσοκομειακού ιματισμού, εργοστάσια τροφίμων, κ.λπ. (HD - Hospital Development, 2007).
- Απολύμανση του νερού αντί της χρήσης χλωρίου (Brown & Lemay, 2003).
- Απολύμανση από τα βακτηρίδια στα τρόφιμα ή στις επιφάνειες επαφής (Montecalvo & Williams, 2008).
- Απολύμανση πισινών και ιαματικών λουτρών.
- Πλύση φρέσκων φρούτων και λαχανικών για τη θανάτωση των μυκήτων και των βακτηρίων (Montecalvo & Williams, 2008).
- Χημική επίθεση σε μολυντές του νερού (σίδηρος, αρσενικό, υδρόθειο, νιτρώδη άλατα και σύνθετα οργανικά συστατικά που συγκεντρώνονται μαζί ως "χρώμα").
- Καθαρισμός και λεύκανση υφασμάτων (Pandey, 2005).
- Εξουδετέρωση παρασίτων, που προέρχονται από το νερό, όπως τα *Giardia lamblia* και *Cryptosporidium* σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας επιφανειακών υδάτων κ.ά.

Πολλά νοσοκομεία σε όλο τον κόσμο χρησιμοποιούν μεγάλες γεννήτριες όζοντος για την απολύμανση των χειρουργείων μεταξύ των χειρουργικών επεμβάσεων. Τα δωμάτια καθαρίζονται και στη συνέχεια σφραγίζονται αεροστεγώς πριν γεμιστούν με όζον που καταστρέφει ή εξουδετερώνει αποτελεσματικά όλα τα εναπομείναντα βακτήρια (Boer *et al.*, 2006). Το όζον χρησιμοποιείται ως εναλλακτική λύση για το χλώριο ή το διοξείδιο του χλωρίου κατά την λεύκανση χαρτοπολτού (Sjöström, 1993). Συχνά χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το οξυγόνο και το υπεροξείδιο του υδρογόνου για την εξάλειψη της ανάγκης για ενώσεις που

περιέχουν χλώριο στην κατασκευή λευκού χαρτιού υψηλής ποιότητας (Su & Chen, 2001).

### 3.3.2. Υδατοκαλλιέργεια

Η όζονση - μια διαδικασία έγχυσης νερού με όζον - μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην υδατοκαλλιέργεια, για τη διευκόλυνση της οργανικής καταστροφής. Το όζον προστίθεται επίσης σε συστήματα ανακύκλωσης για τη μείωση των επιπέδων νιτρωδών (Noble & Summerfelt, 1996) μέσω μετατροπής σε νιτρικό άλας. Εάν τα επίπεδα νιτρωδών στο νερό είναι υψηλά, τα νιτρώδη άλατα συσσωρεύονται επίσης στο αίμα και τους ιστούς των ψαριών, όπου παρεμποδίζει τη μεταφορά οξυγόνου [προκαλεί οξείδωση της αιμα-ομάδας αιμοσφαιρίνης από το σιδηρούχο ( $\text{Fe}^{2+}$ ) σε σίδηρο ( $\text{Fe}^{3+}$ )], καθιστώντας την αιμοσφαιρίνη αδύνατη να δεσμεύσει το  $\text{O}_2$  (Ferreira da Costa *et al.*, 2004).

Παρά τις προφανείς αυτές θετικές επιδράσεις, η χρήση όζοντος στα συστήματα ανακύκλωσης έχει συνδεθεί με τη μείωση του βιοδιαθέσιμου ιωδίου στα συστήματα αλατιού, με αποτέλεσμα τα συμπτώματα ανεπάρκειας ιωδίου, όπως η βρογχοκήλη και η μειωμένη ανάπτυξη στις προνύμφες *Solea senegalensis*. Το θαλάσσιο ασβέστιο Ozonate χρησιμοποιείται για επιφανειακή απολύμανση των αυγών του μπακαλιάρου.

### 3.3.3. Γεωργία

Η εφαρμογή του όζοντος σε φρέσκο ανανά και μπανάνα δείχνει αύξηση σε φλαβονοειδή και συνολική περιεκτικότητα φαινόλης όταν η έκθεση είναι μέχρι 20 λεπτά. Παρατηρείται μείωση της περιεκτικότητας σε ασκορβικό οξύ (μία μορφή βιταμίνης C), αλλά η θετική επίδραση στη συνολική περιεκτικότητα σε φαινόλη και φλαβονοειδή μπορεί να υπερνικήσει την αρνητική επίδραση (Allothman *et al.*, 2010). Οι τομάτες κατά την επεξεργασία τους με το όζον επιδεικνύουν αύξηση της  $\beta$ -καροτίνης, της λουτεΐνης και του λυκοπενίου (Tzortzakis *et al.*, 2007). Ωστόσο, η εφαρμογή του όζοντος στις φράουλες, κατά την περίοδο πριν από τη συγκομιδή,

παρουσιάζεται μείωση της περιεκτικότητας σε ασκορβικό οξύ (Keutgen & Pawelzik, 2008).

Το όζον διευκολύνει την εκχύλιση κάποιων βαρέων μετάλλων από το έδαφος χρησιμοποιώντας EDTA. Το EDTA σχηματίζει ισχυρές, υδατοδιαλυτές ενώσεις συντονισμού με ορισμένα βαρέα μέταλλα (Pb, Zn), καθιστώντας έτσι δυνατή τη διάλυσή τους από το μολυσμένο έδαφος. Εάν το μολυσμένο έδαφος προεπεξεργαστεί με όζον, η αποτελεσματικότητα εξαγωγής των Pb, Am και Pu αυξάνεται κατά 11,0-28,9% (Leštan *et al.*, 2005), 43,5% (Plaue & Czerwinski, 2003) και 50,7% (Plaue & Czerwinski, 2003), αντίστοιχα.

### 3.3.4. Ιατρική

Διάφορες θεραπευτικές χρήσεις για το όζον έχουν προταθεί, αλλά δεν υποστηρίζονται από στοιχεία υψηλής ποιότητας και γενικά θεωρούνται ως εναλλακτική ιατρική (American Cancer Society, 2012).

## 3.4. Ιδιότητες όζοντος ως απολυμαντικό

Το όζον είναι γνωστός ισχυρός οξειδωτικός παράγοντας που χρησιμοποιείται από τη βιομηχανία τροφίμων ως αντιμικροβιακός παράγοντας για πολλά χρόνια και το 2001 έλαβε το GRAS (Generally Recognized as Safe, Γενικά Αναγνωρισμένο ως Ασφαλές) από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (US FDA). Το όζον είναι γενικά ασφαλέστερο από ό,τι πολλές εναλλακτικές λύσεις (Tzortzakis *et al.*, 2007), και μπορεί να παράγεται οικονομικά και να ελέγχεται επιτόπου. Εμπορικά, πρέπει να δημιουργείται όζον (χαμηλότερη οριακή τιμή - όριο μακροπρόθεσμης έκθεσης, TLV-LTEL) επιτόπου, στο σημείο εφαρμογής. Μπορεί να παραχθεί με την υποβολή οξυγόνου ή αέρα σε υπεριώδη (UV) ακτινοβολία μήκους κύματος 285 nm (Guzel-Seydim *et al.*, 2004), αλλά πολλές εμπορικές εφαρμογές χρησιμοποιούν τη μέθοδο παραγωγής εκκένωσης κορώνας (Tzortzakis *et al.*, 2007).

Όταν εναλλασσόμενο ρεύμα υψηλής τάσης εφαρμόζεται σε ένα διάκενο εκκένωσης, η παρουσία αέρα ή οξυγόνου, οδηγεί στη διάσπαση των μορίων οξυγόνου

σχηματίζοντας όζον. Προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η απόδοση του όζοντος, καθώς και να εξαλειφθεί η παραγωγή υψηλότερων οξειδίων του αζώτου (Xu, 1999), είναι συνήθης πρακτική να παρέχεται καθαρό οξυγόνο ως αέριο τροφοδοσίας και όχι ξηρός αέρας. Το όζον ( $O_3$ ) μπορεί επίσης να δημιουργηθεί με χημικές, θερμικές, χημειοπυρηνικές, ηλεκτρολυτικές (Horvath *et al.*, 1985), και ηλεκτροχημικές μεθόδους (Kim *et al.*, 1999).

### 3.4.1. Βιοκτόνος δράση του όζοντος

Υπάρχει σειρά δημοσιεύσεων που αποδεικνύουν την υπεροχή του όζοντος προς το χλώριο, ως απολυμαντικό μετά τη συγκομιδή. Το όζον έχει δυναμικό οξειδώσεως + 2.07V, το οποίο είναι 1,5 φορές υψηλότερο από εκείνο του χλωρίου και αποσυντίθεται σε  $O_2$  και νερό, χωρίς να αφήνει κατάλοιπα στα επεξεργασμένα προϊόντα (Restaino *et al.*, 1995; Xu, 1999; Horvath *et al.*, 1985; Kim *et al.*, 1999). Η αποσύνθεση του όζοντος πραγματοποιείται μέσω μιας σειράς αντιδράσεων, που περιλαμβάνουν ιδιαίτερα αντιδραστικά, αλλά βραχύβια είδη, ελεύθερων ριζών [συμπεριλαμβανομένου του υδροπεροξυλίου ( $HOO$ ), της υδροξυλικής ρίζας ( $OH$ ) και του υπεροξειδίου ( $O_2^-$ )] και διάφορους δραστικούς ενδιάμεσους [συμπεριλαμβανομένου του απλού οξυγόνου ( $O_2$ ) και του υπεροξειδίου του υδρογόνου  $H_2O_2$ ] (Grimes *et al.*, 1983).

Η τοξικότητα του όζοντος θεωρείται ότι οφείλεται, τουλάχιστον εν μέρει, στη δημιουργία αυτών των «αντιδραστικών ειδών οξυγόνου» (Reactive Oxygen Species, ROS). Σε καθαρό υδατικό διάλυμα, η αποσύνθεση του όζοντος χαρακτηρίζεται από τάχιστα αρχική μείωση του όζοντος, ακολουθούμενη από μια δεύτερη φάση, στην οποία το όζον μειώνεται με πρώτης τάξης κινητική. Ανάλογα με την ποιότητα του νερού (Antoniou & Andersen, 2012) και τη θερμοκρασία, ο χρόνος ημίσειας ζωής του όζοντος κυμαίνεται από δευτερόλεπτα έως ώρες. Μέσω της αποσύνθεσης του όζοντος, το κύριο δευτερογενές οξειδωτικό που σχηματίζεται στο νερό είναι το ριζικό  $\cdot OH$  (μη εκλεκτικό οξειδωτικό είδος) (von Gunten, 2003).

### 3.4.2. Αντιμικροβιακή δράση του όζοντος

Λόγω του υψηλού του δυναμικού οξειδωσης, το όζον οξειδώνει τα κυτταρικά συστατικά του βακτηριακού κυτταρικού τοιχώματος. Το όζον έχει αποδειχθεί ότι προσβάλλει πολλά βακτηριακά συστατικά, όπως πρωτεΐνες, ακόρεστα λιπίδια και αναπνευστικά ένζυμα σε κυτταρικές μεμβράνες, πεπτιδογλυκάνες, ένζυμα και νουκλεϊνικά οξέα στο κυτταρόπλασμα, καθώς και πρωτεΐνες και πεπτιδογλυκάνη σε σπόρια και καψίδια ιού. Έχει αναφερθεί ότι το όζον προσβάλλει κυρίως τους διπλούς δεσμούς των λιπιδίων ακόρεστης μεμβράνης, τις σουλφυδρυλικές ομάδες ενζύμων που συνδέονται με τη μεμβράνη και τις γλυκοπρωτεΐνες και τα γλυκολιπίδια, καταστρέφοντας τα βακτήρια με μηχανισμό λύσης (Khadre *et al.*, 2001). Η επαγωγή που ακολουθείται από την απενεργοποίηση της δραστηριότητας της καταλάσης (CAT) και της υπεροξειδικής δισμουτάσης (SOD) έχει επίσης αναφερθεί σε *E. coli*, που υπέστη επεξεργασία με όζον (Whiteside & Hassan, 1987). Έχουν αναφερθεί ειδικές γενετικές τροποποιήσεις του *E. coli* πριν από την καταστροφή κυτταρικής μεμβράνης, με την αντίσταση στο όζον να σχετίζεται με την αποτελεσματικότητα της επισκευής του DNA (Hamelin, 1985).

### 3.4.3. Παράγοντες που επηρεάζουν τη δράση του όζοντος

Η αντιμικροβιακή δράση του όζοντος εξαρτάται από διάφορες μεταβλητές όπως η θερμοκρασία, το pH και η παρουσία ενώσεων που καταναλώνουν όζον που μπορούν ταυτόχρονα να επηρεάσουν τις φυσικοχημικές ιδιότητές του (διαλυτότητα, σταθερότητα και αντιδραστικότητα) και επομένως να επηρεάσουν το ρυθμό διάλυσης του όζοντος.

- **Θερμοκρασία:** καθώς η θερμοκρασία αυξάνει, το όζον καθίσταται λιγότερο διαλυτό στο νερό και λιγότερο σταθερό, αλλά ο ρυθμός αντίδρασης του  $O_3$  με το υπόστρωμα αυξάνεται. Η θερμοκρασία επηρεάζει, επίσης, το ρυθμό των αντιδράσεων του όζοντος με τα μικροβιακά συστατικά, ενώ η αντιμικροβιακή δραστηριότητα του όζοντος μειώνεται σε θερμοκρασία δωματίου σε σύγκριση με τη θερμοκρασία αποθήκευσης υπό ψύξη (Langlais *et al.*, 1991; Khadre *et al.*, 2001). Σε άλλη μελέτη (Liew & Prange, 1994), η συγκέντρωση του

υπολειμματικού όζοντος (υπολογιζόμενη από το προσφερόμενο όζον μείον το εξαντλημένο και το αντιδρασμένο όζον) επηρεάστηκε από τη θερμοκρασία (2, 8, 16° C) και επεμβαίνοντας στη συγκέντρωση του όζοντος (7,5, 15, 30 και 60 ppm O<sub>3</sub>). Έτσι, ο ρυθμός εξάντλησης του όζοντος αυξήθηκε με τη θερμοκρασία, καθώς οι υψηλότερες θερμοκρασίες παρήγαγαν χαμηλότερες συγκεντρώσεις όζοντος.

- **pH:** οι μεταβολές των τιμών του pH του διαλύματος επηρεάζουν την ταχύτητα διαχωρισμού του όζοντος και τη φύση των προϊόντων που σχηματίζονται. Το όζον είναι πιο σταθερό σε όξινες σε σχέση με τις αλκαλικές τιμές του pH. Ο ρυθμός της αποσύνθεσης του O<sub>3</sub> αυξάνεται σε υψηλό pH, λόγω της αντίδρασης όζοντος με ιόντα υδροξυλίου, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ελεύθερων ριζών (Kim *et al.*, 1999). Σε pH >7, αλυσιδωτές αντιδράσεις ριζικού τύπου προωθούνται με ταχεία αποσύνθεση όζοντος σε διάλυμα μέσω της καταλυτικής δραστηριότητας του ιόντος υδροξυλίου. Αντίθετα, σε pH <7, η μικροβιακή αδρανοποίηση συμβαίνει κυρίως μέσω αντίδρασης με μοριακό όζον, από τους μηχανισμούς που περιγράφηκαν προηγουμένως (von Gunten, 2003; Hoigné, 1998).
- **Υγρασία:** η αποτελεσματικότητα του όζοντος αυξάνεται με τη χρήση υψηλής σχετικής υγρασίας RH ≥90% αυξάνοντας τη διαλυτότητά του στην υγρασία που υπάρχει στις επιφάνειες φρούτων και λαχανικών. Οι Kim *et al.* (1999) επανεξέτασαν ότι οι λυοφιλωμένοι μικροοργανισμοί ήταν πιο ανθεκτικοί στην απολύμανση από το όζον από τα ενυδατωμένα κύτταρα, καθώς απαιτείται υγρασία για την αποτελεσματικότητα του όζοντος.
- **Συσκευές που καταναλώνουν όζον:** στο νερό, το όζον μπορεί να αντιδρά άμεσα με διαλυμένες ουσίες ή να επηρεάζει έμμεσα τη σταθερότητα του όζοντος μέσω απομάκρυνσης του .OH, καθώς μπορεί να αποσυντεθεί για να σχηματίσει δευτεροταγή οξειδωτικά που αντιδρούν αμέσως με τις διαλυμένες ουσίες. Αυτές οι διαφορετικές οδοί αντιδράσεων οδηγούν σε διαφορετικά προϊόντα οξείδωσης και ελέγχονται από διάφορους τύπους κινητικής (von Gunten, 2003). Ο χρόνος ημιζωής του όζοντος σε υδατικά διαλύματα αυξάνεται με την καθαρότητα του νερού (Hill & Rice, 1982). Έτσι, η παρουσία δυνητικά ανταγωνιστικών στόχων αντίδρασης (π.χ. οργανική ύλη) στο νερό πλύσης, μπορεί να μειώσει την αποτελεσματικότητα των μεθόδων απολύμανσης με βάση το όζον, επειδή το εφαρμοζόμενο όζον καταναλώνεται

από τα συστατικά του διαλύματος (Langlais *et al.*, 1991; von Gunten, 2003; Khadre *et al.*, 2001).

- **Μικροβιακό φορτίο και τύποι μικροοργανισμών:** η αποτελεσματικότητα του O<sub>3</sub> σχετίζεται άμεσα με το αρχικό μικροβιακό φορτίο και τον τύπο των μικροοργανισμών που υπάρχουν στα φρέσκα προϊόντα: όσο υψηλότερο είναι το μικροβιακό φορτίο, τόσο μικρότερη είναι η αποτελεσματικότητα του O<sub>3</sub>, με την έκταση των επιδράσεων που επηρεάζονται από τη συγκέντρωση του ενοφθαλμισμού (Tzortzakis *et al.*, 2007). Αυτό οφείλεται στο γεγονός, ότι το αέριο εξαλείφει την ανταγωνιστική μικροχλωρίδα, αλλά ταυτόχρονα το όζον αποικοδομείται συνεχώς σε O<sub>2</sub> και επομένως μπορεί να ενισχύσει τις μετρήσεις αερόβιων μικροοργανισμών. Επιπρόσθετα, τα θετικά κατά gram βακτήρια εμφανίζουν μεγαλύτερη αντίσταση στην έκθεση του όζοντος από τα αρνητικά κατά Gram (Moore *et al.*, 2000). Η διαφορά στην αντιδραστικότητα μεταξύ τους στηρίζεται στις ιδιότητες των κυτταρικών μεμβρανών τους, καθώς τα θετικά κατά Gram βακτήρια έχουν πολύ πιο πυκνά και πιο υδρόφιλα τοιχώματα από εκείνα των Gram-αρνητικών βακτηρίων. Περαιτέρω, η κυτταρική μεμβράνη των θετικών κατά Gram βακτηρίων είναι περισσότερο ανθεκτική σε οξείδωση, λόγω των χημικών ιδιοτήτων των συστατικών της μεμβράνης. Συγκρίνοντας τα βλαστικά κύτταρα με μορφές σπορίων, ο τελευταίος είναι πιο ανθεκτικός στην έκθεση του όζοντος. Τα σπόρια συχνά εμφανίζουν πολυστρωματικά κυτταρικά τοιχώματα, που βασίζονται σε πρωτεΐνες, τα οποία μπορούν επίσης να περιλαμβάνουν και ανόργανα συστατικά (Moore *et al.*, 2000).
- **Θέση μικροοργανισμών στα φρέσκα προϊόντα:** Αρκετά προϊόντα, όπως τα μαρούλια και τα ακτινίδια, προστατεύονται από πτυχές και στρώματα που μπορεί να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα του όζοντος για μικροβιακό έλεγχο κάνοντας πιο δύσκολο για το όζον να φτάσει στα μικρόβια. Οι Spotts & Cervantes (1992) ανέφεραν ότι το όζον (είτε σε αέρια είτε σε υδατική φάση) δεν είναι αποτελεσματικό έναντι των παθογόνων που βρίσκονται κάτω από το δέρμα / την επιφάνεια του προϊόντος. Συνεπώς, έχει αποδειχθεί πρόσφατα (Tzortzakis *et al.*, 2007 & Tzortzakis *et al.*, 2008), με δοκιμασία φθορισμού-λεκτίνης, ότι η εφαρμογή όζοντος μείωσε την περιοχή βλάβης με άμεσες μειώσεις μυκητιακού όγκου για *B. Cinerea*, *Collletotrichum coccodes* και *Alternaria alternata* σε φρούτα τομάτας. Ωστόσο, το αντίθετο



παρατηρήθηκε σε *in vitro* μελέτες, στις οποίες τα παθογόνα-στόχοι επωάστηκαν σε υγρό μέσο ζωμού δεξτρόζης πατάτας (PDB) σε τρυβλία Petri και εκτέθηκαν σε όζον. Στην περίπτωση αυτή, η έκθεση σε όζον των 5,0 ppm δεν ήταν αποτελεσματική στη μείωση της ανάπτυξης των μυκήτων (βιομάζα). Αυτό συνεπάγεται, ότι η αποτελεσματικότητα του όζοντος έναντι της εξάπλωσης των μυκητολογικών ασθενειών επί των καρπών τομάτας οφειλόταν στο γεγονός, ότι η κατεργασμένη τομάτα προκάλεσε αντίσταση στο όζον, πράγμα που με τη σειρά του προκάλεσε μείωση της προσβολής από τους μύκητες (Tzortzakis *et al.*, 2008). Αυτά τα ευρήματα είναι σύμφωνα με την αναφερθείσα καταστολή των επιφανειακών μυκητιακών των ασθενειών και των καλουπιών σε φρέσκα προϊόντα που εκτίθενται στο όζον υπό μια σειρά πειραματικών συνθηκών (Tzortzakis *et al.*, 2007; Tzortzakis *et al.*, 2008; Skog & Chu, 2001; Palou *et al.*, 2001; Forney *et al.*, 2001).

#### 3.4.4. Φυτοτοξικότητα του όζοντος

Ο πρωταρχικός στόχος για το όζον πιστεύεται ότι είναι το πλασμαλήμμα, ο εξωτερικός ημιδιαπερατός φραγμός του κυττάρου των βακτηριδίων. Εντούτοις, προηγούμενες μελέτες έδειξαν, ότι τα κύρια συστατικά των αμινοξέων (κυστεΐνη, τρυπτοφάνη, μεθειονίνη και ιστιδίνη), που είναι μεταξύ των πλέον δραστικών πρωτεϊνών μεμβράνης, μπορεί να αποτελέσουν τον κύριο τόπο επίθεσης (Aoyama & Nakaki, 2015). Το όζον αντιδρά σημαντικά με τα συστατικά αμίνης (NH<sub>2</sub>) και R- (R: αλκύλιο, αλκύλιο θείου ή ακόρεστα) των αμινοξέων, που προκαλούν απενεργοποίηση διαφόρων πρωτεϊνών, όπως λυσοζύμη (Dooley & Mudd, 1982), κυτοχρώμα c (Mudd *et al.*, 1997), γλουταμινική συνθετάση (Berlett & Stadtman, 1997), γλυκοφορίνη (Banerjee & Mudd, 1992), ακετυλοχολίνη, εστεράση (AChE) (Mudd *et al.*, 1996) και γλυκεραλδεΐδη -3-φωσφορική δεϋδρογενάση (G-3-PDH) (Knight & Mudd, 1984). Η ευαισθησία των αμινοξέων στην οξειδωση εξαρτάται από τη σύνθεση και τη θέση των αμινοξέων στην πρωτεΐνη καθώς και από τη θέση της πρωτεΐνης στη μεμβράνη (Mudd *et al.*, 1997). Το όζον έχει δειχθεί ότι μεταβάλλει τη διαπερατότητα της μεμβράνης αυξάνοντας τη «διαρροή» του και εμποδίζοντας τις αντλίες και / ή τους μεταφορείς (Mudd *et al.*, 1997).

## Κεφάλαιο 4<sup>ο</sup> : Εφαρμογές όζοντος στα φρούτα

---

Κατά την περίοδο μετά τη συγκομιδή, το O<sub>3</sub> μπορεί να εφαρμοστεί σε νωπά προϊόντα είτε ως προεπεξεργασία, κατά την αποθήκευση, είτε κατά τη μεταφορά (Palou *et al.*, 2002). Μπορεί να εφαρμοστεί τόσο σε υδατική όσο και σε αέρια φάση, με συνεχή ή διακεκομμένο τρόπο. Οι αντιδράσεις του όζοντος με οργανικές ύλες προκαλούν οξειδωση και οδηγούν στο σχηματισμό αλδευδών, οργανικών οξέων και αλδο- και κετοοξέων, μειώνοντας την απολυμαντική ισχύ του όζοντος (Block, 1982). Υπό την έννοια αυτή, η αποτελεσματικότητα του όζοντος σχετίζεται άμεσα με το υπολειμματικό αέριο όζοντος (Karaca & Velioglu, 2007).

Οι υψηλότερες μικροβιακές μειώσεις παρατηρούνται συχνά στις υψηλότερες δόσεις όζοντος (Kim & Yousef, 2000; Bialka & Demirci, 2007; Alexandre *et al.*, 2011). Ωστόσο, η ευαισθησία του όζοντος εξαρτάται από το εμπόρευμα και επομένως, για να αποφευχθεί η βλάβη των ιστών, η οποία με τη σειρά του οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία σε μικροβιακή μόλυνση, είναι απαραίτητο να καθοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες εφαρμογής για κάθε προϊόν (Karaca, 2010). Οι περισσότερες μελέτες (Yuk *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 1999; Khadre *et al.*, 2001; Spotts, 1992; Kim & Yousef, 2000; Bialka & Demirci, 2007; Ketteringham *et al.*, 2006) έχουν επικεντρωθεί στην αντιμικροβιακή αποτελεσματικότητα της επεξεργασίας του όζοντος. Επομένως, η εφαρμογή του όζοντος που μειώνει το μικροβιακό φορτίο του εμπορεύματος διατηρώντας παράλληλα την ποιότητα της παραγωγής (οπτική, υφή και διατροφική) μπορεί να συνιστάται και στη συνέχεια να ενσωματώνεται στην αλυσίδα εφοδιασμού (Allende *et al.*, 2008).

Οι επεξεργασίες με όζον σε φρέσκα προϊόντα μειώνουν το *B. cinerea* (γκρι μούχλα) στις φράουλες (Nadas *et al.*, 2003), το *Penicillium digitatum* (πράσινη μούχλα) στα μανταρίνια (Whangchai *et al.*, 2010), της ασθένειας που προκαλείται από το *B. cinerea* σε ακτινίδια (Minas *et al.*, 2010), το *Rhizopus stolonifer* σε επιτραπέζια σταφύλια (Sarig *et al.*, 1996) και την ανάπτυξη αλλοιώσεων από *C. coccodes* στην τομάτα (Tzortzakis *et al.*, 2008). Σε άλλες μελέτες, ο εμπλουτισμός με όζον έχει αποδειχτεί, ότι μειώνει τη μικροβιακή αλλοίωση, ελέγχει την οσμή και επεκτείνει τη διάρκεια αποθήκευσης με την καταστροφή της ορμόνης ωρίμανσης /

γήρανσης (Skog & Chu, 2001; Palou *et al.*, 2001). Το όζον μπορεί να αποτελέσει ένα καλό εναλλακτικό απολυμαντικό για φρέσκα φρούτα, καθώς καταστρέφει τους μικροοργανισμούς με προοδευτική οξείδωση των ζωτικών κυτταρικών συστατικών τους (Skog & Chu, 2001; Palou *et al.*, 2001).

Πρόσφατα, οι ερευνητές διερεύνησαν τις πιθανές μοριακές και βιοχημικές πτυχές των επιπτώσεων του όζοντος στα φρούτα και / ή τους παθογόνους παράγοντες με πιθανή επαγόμενη ανοχή στο επίπεδο των νωπών προϊόντων (Tzortzakis *et al.*, 2008; Minas *et al.*, 2010; Tzortzakis *et al.*, 2011; Tzortzakis *et al.*, 2013; Tzortzakis *et al.*, 2007; Minas *et al.*, 2012). Στις φέτες τομάτας (Tzortzakis *et al.*, 2007 & Tzortzakis *et al.*, 2008) και ακτινιδίων (Minas *et al.*, 2010) προέκυψε ότι η καταστολή της ανάπτυξης των παθογόνων από όζον οφείλεται, σε κάποιο βαθμό, στις αλληλεπιδράσεις των φωτοπαθογόνων (Sarig *et al.*, 1996).

Οι εναπομένουσες επιδράσεις του όζοντος μπορεί να διαρκέσουν έως και 2 εβδομάδες για τις τομάτες με επαγόμενη ανθεκτικότητα στα φρούτα έναντι του *B. cinerea* με την αλλαγή της έκφρασης γονιδίων που εμπλέκονται (Tzortzakis *et al.*, 2011). Ωστόσο, τα οφέλη του όζοντος στα φρούτα (επαγόμενη ανοχή στα φρούτα) απαιτούν ελάχιστο χρόνο έκθεσης τις 24 ώρες. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα σταθερής κατάστασης των γονιδίων σηματοδότησης *Aco 1*, *Aos 1* ή γονίδια αλληλεπίδρασης (*Chi 3a*, *Chi 9b*, *Glu ac* και *Glu bs*) εντός 24 ωρών. Αυτά τα ευρήματα επιβεβαιώθηκαν επίσης από Real-Time RT-PCR (Tzortzakis *et al.*, 2011).

## 4.1. Υγρό όζον

Στην υδατική φάση, το όζον χρησιμοποιήθηκε για την απολύμανση του νερού (Spotts, 1992; Venta *et al.*, 2010) και του εξοπλισμού επεξεργασίας (Gorman *et al.*, 1995). Οι επεξεργασίες με υγρό όζον αποδείχθηκαν αποτελεσματικές στην αποικοδόμηση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε φρέσκα προϊόντα (Hwang *et al.*, 2001; Ong *et al.*, 1996), μειώνοντας έτσι ανησυχίες σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων και του περιβάλλοντος. Πρόσφατα, διάφορες εφαρμογές χρησιμοποίησαν οξονισμένο πάγο και χορήγηση οξονισμένου νερού χαμηλής πίεσης σε ψυκτικούς θαλάμους και ντουλάπια για να διατηρήσουν τη φρεσκάδα και την ποιότητα των προϊόντων των σούπερ μάρκετ (Rice, 2002).

Ωστόσο, το υγρό όζον δεν ήταν πάντοτε αποτελεσματικό, όπως αποδείχθηκε σε αρκετές μελέτες (Spotts, 1992; Ketteringham *et al.*, 2006; Achen & Yousef, 2001; Aday & Caner, 2014b), που μπορεί να αποδοθεί στη διαφορετική συγκέντρωση και θερμοκρασία όζοντος, σε περιπτώσεις προϊόντων με τραχιά επιφάνεια ή με διπλωμένες επιφάνειες (π.χ. φράουλα, βατόμουρο).

#### 4.1.1. Μούρα

Η κατανάλωση καρπών φρούτων, που περιλαμβάνουν κυρίως φράουλες και βατόμουρα, (μαύρα, μπλε, κόκκινα και λευκά), σμέουρα, κράνμπερι, φραμπούζ, μύρτιλα, ως φρέσκα φρούτα έχουν μεγάλο ενδιαφέρον λόγω της διατροφικής τους αξίας και της ιδιαίτερης γεύσης τους. Ωστόσο, αυτά τα φρούτα έχουν σχετικά μικρή διάρκεια αποθήκευσης, λόγω του υπερβολικά μαλακού εξωτερικού τους, της υφής τους, της φυσικής διαδικασίας ωρίμανσης καθώς και της ευαισθησίας τους στην επίθεση των μικροοργανισμών. Τα μούρα που αποθηκεύονται σε ψυχρές θερμοκρασίες 0-5° C έχουν διάρκεια μετά τη συγκομιδή, η οποία κυμαίνεται από 2-5 ημέρες έως 2 εβδομάδες.

Κατά τη διάρκεια των διαδικασιών μετά τη συγκομιδή, η ταχεία απομάκρυνση της θερμότητας των καρπών είναι απαραίτητη μέσα σε λίγες ώρες από τη συγκομιδή, ενώ προτιμάται η ψύξη με εξαναγκασμένο αέρα σε σύγκριση με την υδροψύξη, λόγω της επιφάνειας και της ευαισθησίας των καρπών. Επιπλέον, τα μικρά φρούτα που προορίζονται σε νωπή πώληση δεν υφίστανται επεξεργασία πριν την πώληση, λόγω αρνητικών επιπτώσεων στην ποιότητα και μείωσης της διάρκειας ζωής. Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω, η εφαρμογή υγρού όζοντος δεν είναι κατάλληλη, καθώς χρησιμοποιούνται εναλλακτικά μέσα καθαρισμού (δηλαδή θείο, ελεγχόμενη / τροποποιημένη ατμόσφαιρα). Σχετικά με αυτό το θέμα, τα υδατικά αποστειρωτικά μπορεί να είναι αναποτελεσματικά για τη διατήρηση των ιδιοτήτων αυτών των φρούτων.

Μία μείωση 2.9 και 3.3 log CFU / g σε μικροβιακές μετρήσεις των *E. coli* O157:H7 και *Salmonella enterica*, αντίστοιχα, επιτεύχθηκε σε φράουλες επεξεργασμένες με όζον (50000 ppm για 1 έως 64 λεπτά). Σε αυτή τη μελέτη, η αποτελεσματικότητα της υδατικής εφαρμογής μπορεί να έχει βελτιωθεί εάν η πλύση με υγρό όζον ήταν σε χαμηλότερη θερμοκρασία, αντί των 20°C, που

χρησιμοποιήθηκε. Η αποτελεσματικότητα τριών υδατικών συγκεντρώσεων όζοντος (0,075 ppm, 0,15 ppm, 0,25 ppm) και δύο χρόνων έκθεσης (2 και 5 λεπτά) διερευνήθηκε, για τη διατήρηση της ποιότητας των φραουλών.

Τα αποτελέσματα έδειξαν, ότι μπορούν να εφαρμοστούν χαμηλές συγκεντρώσεις όζοντος (0,075 ppm) και μεσαίες (0,15 ppm) παρατείνοντας τη διάρκεια ζωής των φραουλών κατά τουλάχιστον 3 εβδομάδες υπό συνθήκες ψύξης, καθυστερώντας τις αλλαγές στο pH, τα ολικά διαλυτά στερεά, τη σταθερότητα και την ηλεκτρική αγωγιμότητα και, ταυτόχρονα, την εμπόδιση ανάπτυξης μούχλας κατά την αποθήκευση (Aday & Caner, 2014b). Αξίζει να σημειωθεί, ότι οι υπερηχητικές επεξεργασίες με όζον ήταν πιο επωφελείς για τον προαναφερθέντα ποιοτικό παράγοντα και ότι τα συνδυασμένα μέσα απολύμανσης πρέπει να διερευνηθούν περαιτέρω γενικότερα.

Επιπροσθέτως, οι Restaino *et al.* (1995), εξέτασαν τις αντιμικροβιακές επιδράσεις του υγρού όζοντος (κυμαινόμενο σε 0,044-0,198 ppm) απουσία και παρουσία οργανικού υλικού και κατέληξαν στο συμπέρασμα, ότι αυτή η επεξεργασία θανάτωσε αποτελεσματικά και τα Gram θετικά (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*) και τα Gram αρνητικά (*Pseudomonas aeruginosa* και *Yersinia enterocolitica*) βακτήρια. Στην ίδια μελέτη, παρατηρήθηκε ότι το υγρό όζον κατέστρεψε τους μύκητες *Candida albicans*, *Zygosaccharomyces bacilli* και σπόρια *Aspergillus niger* (Restaino *et al.*, 1995).

Επιπλέον, οι Rodgers *et al.* (2004) έδειξαν ότι τα E.coli O157:H7 και *L. monocytogenes* παρέμειναν μη ανιχνεύσιμα κατά τις πρώτες εννέα ημέρες αποθήκευσης στους 4° C μετά από εμβολιασμένες φράουλες που πλύθηκαν για 5 λεπτά με 3 ppm υγρού όζοντος. Οι συγγραφείς ανέφεραν επίσης μειώσεις για τους ζυμομύκητες και τη μούχλα αμέσως μετά την έκθεση του όζοντος. Η δράση του όζοντος δεν συνεχίστηκε για μεγάλο χρονικό διάστημα για τους ζυμομύκητες ενώ ένας συνδυασμός διαφορετικών απολυμαντικών και / ή συγκέντρωσης θα μπορούσε να είναι πιο αποτελεσματικός (Bialka *et al.*, 2008).

Ωστόσο, είναι σημαντικό να εξεταστούν και οι ποιοτικές παράμετροι, όπως η σταθερότητα των καρπών, η αντιοξειδωτική ικανότητα, οι αλλαγές χρώματος και γεύσης λόγω της εφαρμογής του όζοντος, καθώς τα μούρα θεωρούνται ευαίσθητα στην εφαρμογή υγρού προκειμένου να διατηρηθεί η ποιότητα και η ασφάλεια των καρπών.

### 4.1.2. Μηλοειδή

Τα μηλοειδή, που αποτελούνται κυρίως από μήλα και αχλάδια, έχουν συνήθως ομαλή, σχετικά σκληρή επιφάνεια και αποθηκεύονται για μεγάλες περιόδους-μήνες ή και μέχρι ένα χρόνο-σε θερμοκρασίες 0°C. Η αποτελεσματικότητα του όζοντος ενδέχεται να διαφέρει όσον αφορά την επιφάνεια των νωπών προϊόντων (ομαλή, τραχιά, με πτυχές). Εφαρμογή του όζοντος (25 mg / L) στα μήλα και εμφάνιση μείωσε τις μικροβιακές μετρήσεις του *E.coli* O157:H7 στην επιφάνεια των καρπών. Αντίθετα, δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των χρόνων έκθεσης (1-3-5 λεπτά) και των θερμοκρασιών (4, 22 και 45° C).

Οι αποικίες των ζυμομηκήτων και της μούχλας μειώθηκαν σε φέτες μήλου που πλύθηκαν σε 3 ppm οζονισμένου νερού για 5 λεπτά, σε μονάδες 4-5, 1-2,5 log. Ωστόσο, ο πληθυσμός αυτών αυξήθηκε κατά την αποθήκευση, μειώνοντας την αποτελεσματικότητα του όζοντος λόγω των δυσμενών συνθηκών (δηλ. της χαμηλής θερμοκρασίας αποθήκευσης) και / ή του μεγαλύτερου μεγέθους των μικροβίων.

Οι Spotts και οι Cervantes (1992) δεν ανέφεραν καμία αποτελεσματικότητα του οζονισμένου νερού (3,1 μg O<sub>3</sub> / mL, για 5 δευτερόλεπτα) έναντι του *Penicillium expansum* που εμβολιάστηκε σε αχλάδια. Ωστόσο, επηρεάστηκε η αναπαραγωγική φάση των εξεταζόμενων μυκήτων (*B. cinerea*, *Mucor piriformis* και *P. expansum*) καθώς η βιωσιμότητα των спорίων αναστέλλεται με την επεξεργασία με υγρό όζον (0,1-4 μg O<sub>3</sub> / mL). Με τον τρόπο αυτό παρεμποδίστηκε η μεταφορά спорίων τόσο μεταξύ των φρούτων όσο και μέσω της συσκευασίας, μειώνοντας την εξάπλωση της ασθένειας (Spotts, 1992).

### 4.1.3. Πυρηνόκαρπα

Τα πυρηνόκαρπα, που αποτελούνται κυρίως από ροδάκινο, βερίκοκο, νεκταρίνι, δαμάσκηνο και κεράσια έχουν διαφορετική επιφάνεια. Χνουδωτή για τα ροδάκινα, ελαφρώς τραχιά και τριχωτή για τα βερίκοκα και λεία για τα νεκταρίνια, τα δαμάσκηνα και τα κεράσια. Αυτά τα φρούτα αποθηκεύονται συνήθως στους 0° C για 1 εβδομάδα έως 3 μήνες σε υψηλή σχετική υγρασία (RH 95%). Οι Kouyuncu *et al.* (2008) ανέφεραν ότι το όζον (0,48 g O<sub>3</sub> / h για 16 λεπτά) ήταν αποτελεσματικό στην

μείωση του αριθμού των μυκήτων. Η πρόψυξη του όζοντος μείωσε τον αριθμό των ζυμομυκήτων και της μούχλας στα κεράσια μετά την 5<sup>η</sup> ημέρα αποθήκευσης.

Στην ίδια μελέτη, τα κεράσια που έχουν υποστεί επεξεργασία με όζον έδειξαν καλύτερη εμπορικότητα και διατήρηση του πράσινου στελέχους μετά από 1 εβδομάδα ζωής στο ράφι, ενώ δεν παρατηρήθηκαν αλλαγές στη σταθερότητα, το χρώμα, τα ολικά διαλυτά στερεά και την τιτλοδοτήσιμη οξύτητα. Το όζον προψύξεως μπορεί να είναι μια εναλλακτική λύση έναντι άλλων απολυμαντικών παραγόντων όπως το χλώριο "0900 Ziraat" για τα κεράσια. Το πράσινο χρώμα του στελέχους αποτελεί δείκτη καλής ποιότητας για τα κεράσια, ενώ η αποτελεσματικότητα του όζοντος μπορεί να αυξηθεί με υψηλότερες συγκεντρώσεις και περισσότερες εφαρμογές για τη συντήρηση του πράσινου χρώματος.

#### 4.1.4. Εσπεριδοειδή

Εσπεριδοειδή θεωρούνται το πορτοκάλι, η κλημεντίνη, το λεμόνι, η μανταρίνι και το γκρέιπφρουτ. Τα εσπεριδοειδή έχουν σκληρές επιφάνειες με πτυχώσεις, κερύ και αιθέριο έλαιο στον πολτό, οι οποίες πρέπει να προστατεύονται κατά τις τεχνικές διατήρησης και αποθήκευσης. Αυτός μπορεί να είναι ο λόγος που πολύ λίγες υδατικές εφαρμογές όζοντος είναι διαθέσιμες για απολύμανση. Τα κύρια παθογόνα είναι το *P. digitatum* και το *P. italicum*. Οι Di Renzo *et al.* (2005) έπλυναν (με χλώριο, 50 mg / L χλωρίου) και υγρό όζον (0,6 mg O<sub>3</sub> / L) πορτοκάλια και συνδυαστικά εφαρμόστηκε αέριο O<sub>3</sub> κατά τη διάρκεια της νύχτας.

Τα πορτοκάλια αποθηκεύτηκαν για οκτώ εβδομάδες στους 5° C και 90-95% RH. Η εφαρμογή αέριου όζοντος από μόνη της δεν μείωσε τη συχνότητα εμφάνισης μούχλας από το *Penicillium*· προφανώς η μυκητιακή δομή στα τραύματα παρέμεινε προστατευμένη από το οξειδωτικό αποτέλεσμα του όζοντος. Επιπλέον, οι συγγραφείς ανέφεραν μια συνεργιστική επίδραση μεταξύ πλύσης όζοντος ή χλωρίου και έκθεσης σε 0,25 ppm στη μείωση του φορτίου των σπόρων στην αποθήκη και στην αναστολή στην επιφανειακή ανάπτυξη των μυκήτων σε συσκευασίες, τοίχους και δάπεδα.

## 4.2. Αέριο όζον

Η προσθήκη αερίου όζοντος στις συσκευασίες και στις αποθήκες αποκάλυψε οφέλη, συμπεριλαμβανομένου του ελέγχου των ασθενειών μετά τη συγκομιδή νωπών προϊόντων, τη μείωση της παραγωγής σπορίων και τη φθορά στα φρούτα, τη μόλυνση των επιφανειών και την αφαίρεση του αιθυλενίου. Μια ελεγχόμενη χρήση είναι ο εμπλουτισμός με όζον των χώρων αποθήκευσης και των ψυκτικών δοχείων, αλλά υπήρξαν αντιθέσεις στο παρελθόν όσον αφορά την αποτελεσματικότητα του αερίου που χρησιμοποιείται για τέτοιες εφαρμογές (Rice *et al.*, 1982).

Αυτές οι αποκλίσεις μπορούν να αποδοθούν στις διαφορές στην συγκέντρωση όζοντος που χρησιμοποιήθηκε, τη διάρκεια και τη θερμοκρασία στην οποία εφαρμόστηκε το όζον, την έλλειψη ακρίβειας και τον έλεγχο της συγκέντρωσης του όζοντος στον αποθηκευτικό χώρο σε εμπορική κλίμακα συσκευασίας. Έχει επίσης αναφερθεί η απολύμανση του εξοπλισμού και των επιφανειών φρούτων με αέριο όζοντος, αλλά οι δόσεις όζοντος που σκοτώνουν παθογόνους μύκητες μετά από τη συγκομιδή σε λίγες ώρες ή ημέρες είναι πολύ υψηλές και με τη χρήση τους απαιτούνται προϊόντα ανθεκτικά στο όζον, εγκαταστάσεις ανθεκτικές στη διάβρωση που περιέχουν το αέριο (Toti *et al.*, 2017).

Η έκθεση σε όζον σε σύντομο χρονικό διάστημα απαιτεί υψηλή συγκέντρωση όζοντος (για παράδειγμα, η συγκέντρωση όζοντος, δηλ. 200 ppm για 1 ώρα στους 5° C και 95% RH) προκειμένου να καταστρέψουν αποτελεσματικά τα σπόρια *P. digitatum*, *P. italicum* και *Geotrichum citri-auranti*. Ωστόσο, η εφαρμογή αυτής της υψηλής συγκέντρωσης όζοντος τραυμάτισε περισσότερα από 60 φρέσκα προϊόντα, περιορίζοντας τον ταχύ έλεγχο μικροβίων. Ο Smilanick ανέφερε τη διαφορετική ανθεκτικότητα στην παραγωγή έναντι κατεργασιών με όζον μετά από 1 εβδομάδα αποθήκευσης: εσπεριδοειδή, πεπόνια, κερωμένα μήλα και ακτινίδια δεν προσβλήθηκαν, ενώ μπανάνες, ακέρωτα μήλα και αχλάδια τραυματίστηκαν σοβαρά.

Η ανθεκτικότητα έναντι του όζοντος επηρεάζεται από τον τύπο του προϊόντος (π.χ. εσπεριδοειδή), το που εφαρμόζεται (κερωμένα, ακέρωτα μήλα), τις θερμοκρασιακές συνθήκες αποθήκευσης και την ευαισθησία των εμπορευμάτων κατά την αποθήκευση (μήλα με μεγάλη διάρκεια αποθήκευσης έναντι φρούτων με μικρή αποθηκευτική ικανότητα). Αρκετές εκθέσεις έχουν συνοψίσει την αποτελεσματικότητα του αερίου όζοντος για μια σειρά φρέσκων προϊόντων, με



έμφαση στις αντιμικροβιακές δραστηριότητές του (Guzel-Seydim *et al.*, 2004; Xu, 1999; Skog & Chu, 2001; Suslow, 2004; Rice, 2002; Toti *et al.*, 2017; Karaca & Velioglu, 2007; Horvitz & Cantalejo, 2013) και τις λιγότερες επιπτώσεις στην ποιότητα των προϊόντων (Tzortzakis *et al.*, 2007; Kells *et al.*, 2001; Bialka & Demirci, 2007; Spalding, 1968; Singh *et al.*, 2002). Το όζον μείωσε επιτυχώς την ανάπτυξη μυκήτων σε φρούτα όπως στα μήλα (Sharpe *et al.*, 2009).

#### 4.2.1. Μούρα

Η εφαρμογή όζοντος σε αέρια μορφή είναι πιο αποτελεσματική για τη διατήρηση των καρπών, κυρίως λόγω των περιορισμών της επιφάνειας του προϊόντος και της ευαισθησίας στα φρούτα / βλάβες του δέρματος. Μελέτες που διεξήχθησαν από τους Ewell (1953) & Kuprianoff (1953) δείχνουν, ότι η διάρκεια ζωής των φραουλών και των σμέουρων μπορεί να διπλασιαστεί εάν διατηρηθούν σε 2,0-3,0 ppm αερίου όζοντος για μερικές ώρες την ημέρα. Οι Barth *et al.* (1995) ανέφεραν ότι ο εμπλουτισμός με όζον (0.3 ppm O<sub>3</sub> στους 2° C) ανέστειλε την ανάπτυξη του παθογόνου (*B. cinerea*) κατά την αποθήκευση των βατόμουρων.

Η εφαρμογή του όζοντος ήταν αποτελεσματική, επέκτεινε την εμπορία των καρπών και διατηρούσε κόκκινα τα βατόμουρα μέχρι και 12 ημέρες αποθήκευσης στους 2° C. Οι ίδιοι συντάκτες διαπίστωσαν, ότι η ποιότητα των καρπών και η περιεκτικότητα σε ανθοκυάνες δεν επηρεάστηκαν από την εφαρμογή του όζοντος. Η αποτελεσματικότητα του όζοντος στις φράουλες ως μέσο συντήρησης κατά της αλλοίωσης εξετάστηκε σε αρκετές μελέτες με αντιπαραβαλλόμενα αποτελέσματα, κυρίως λόγω της συγκέντρωσης και του μήκους εφαρμογής.

Η αποτελεσματικότητα του υπερήχου (30 Watt) σε συνδυασμό με το όζον (0.075 mg / L) και το διοξείδιο του χλωρίου (6 mg / L) εξετάστηκε με την επέκταση της διάρκειας αποθήκευσης φράουλας (Aday *et al.*, 2014a; Aday & Caner, 2014b). Ωστόσο, η επεξεργασία μόνο με όζον προκάλεσε λεύκανση των καρπών. Οι επεξεργασίες υπερήχων σε συνδυασμό με το όζον και το διοξείδιο του χλωρίου ήταν πιο ευεργετικές για ποιοτικούς παράγοντες όπως το pH, τα ολικά διαλυτά στερεά, την ηλεκτρική αγωγιμότητα και την υφή συγκριτικά με την ατομική θεραπεία ή τα μη επεξεργασμένα φρούτα. Έτσι, προτάθηκαν συνδυασμοί υπερήχων με όζον και

διοξειδίου του χλωρίου να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παράταση της διάρκειας ζωής των φραουλών (Aday *et al.*, 2014a; Aday & Caner, 2014b).

Οι Allende *et al.* (2007) παρατήρησαν, ότι οι φράουλες που φυλάσσονται για 12 ημέρες σε ατμόσφαιρα που περιέχει 5000 mg O<sub>3</sub> / L δεν διέφεραν στις τελικές μετρήσεις των μεσοφιλικών και ψυχοφιλικών βακτηρίων και της μούχλας και των ζυμομυκήτων σε σύγκριση με τα μη επεξεργασμένα φρούτα. Ομοίως, ο Spalding (1968) διαπίστωσε, ότι φράουλες που έχουν υποστεί επεξεργασία με όζον 0.5 ppm για 7 ημέρες είχαν παρόμοιο ποσοστό *Botrytis* ή *Rhizopus*. Επιπλέον, οι Perez *et al.* (1999) ανέφεραν, ότι οι φράουλες που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με 0,35 ppm O<sub>3</sub> για τρεις ημέρες στους 2°C και αποθηκεύτηκαν στους 20°C για δύο ημέρες παρουσίασαν κατά 15% λιγότερη μυκητιακή αποσύνθεση, αλλά αυτή η διαφορά δεν ήταν εμφανής μετά από 4 ημέρες αποθήκευσης σε θερμοκρασία δωματίου.

Έτσι, η αποτελεσματικότητα του όζοντος μειώνεται λόγω της περιόδου αποθήκευσης, εάν το εμπόρευμα αποθηκεύεται σε θερμοκρασία δωματίου, ενώ η υψηλότερη θερμοκρασία ενισχύει πραγματικά τον δευτερογενή μεταβολισμό και τη γήρανση του φρούτου. Οι Nadas *et al.* (2003) ανέφεραν, ότι το όζον σε 1,5 μL O<sub>3</sub> / L μείωσε τη φθορά της γκρι μούχλας σε φράουλες μετά από τρεις ημέρες έκθεσης σε σύγκριση με τα μη επεξεργασμένα φρούτα. Σε μια άλλη σειρά μελετών, οι Bialka & Demirci (2007) και οι Bialka *et al.* (2008) ανέφεραν, ότι το όζον αέριας μορφής που εφαρμόζεται για 64 λεπτά ήταν αποτελεσματικό στη μείωση των πληθυσμών του *E. coli* O157:H7 (1.8 log CFU/g) και της *Salmonella* (0.9 CFU/g) σε εμβολιασμένες φράουλες.

Οι Tuffi *et al.* (2012) ανέφεραν, ότι οι φράουλες που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία συνεχώς με 0,5 ppm O<sub>3</sub> στους 2° C, με 95% RH για 15 ημέρες, είχαν χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης ασθένειας *B. cinerea* και *P. expansum* στους τεχνητά εμβολιασμένους καρπούς. Η επίπτωση της προσβολής μειώθηκε σημαντικά και ο σχηματισμός των σπορίων αναστέλλεται πλήρως. Το μυκητοστατικό αποτέλεσμα εξαφανίστηκε, όταν τα φρούτα απομακρύνθηκαν από την ατμόσφαιρα με εμπλουτισμένους οξειδωτικούς παράγοντες. Αρκετά ερευνητικά αποτελέσματα έχουν επισημάνει την αντιπαθογόνο δράση του όζοντος (Nadas *et al.*, 2003; Tzortzakis *et al.*, 2007). Ωστόσο, οι επιπτώσεις του όζοντος στα χαρακτηριστικά ποιότητας των φρούτων έχουν αντιφατικά αποτελέσματα.

Για παράδειγμα, οι Perez *et al.* (1999) ανέφεραν ότι οι φράουλες που εκτέθηκαν σε 0,35 ppm O<sub>3</sub> στους 2° C για τρεις ημέρες εμφάνισαν χαμηλότερη

περιεκτικότητα σε γλυκόζη και φρουκτόζη, αλλά τριπλάσια περιεκτικότητα σε βιταμίνη C από το φυσιολογικό. Αυτές οι αλλαγές μπορεί να σχετίζονται με την ενεργοποίηση ενός αντιοξειδωτικού μηχανισμού, που προήγαγε τη βιοσύνθεση της βιταμίνης C από τα αποθέματα υδατανθράκων των φρούτων ως απόκριση στην υψηλή οξειδωτική ικανότητα του O<sub>3</sub> (Horvitz & Cantalejo, 2013; Pérez *et al.*, 1999).

Αντίθετα ευρήματα αναφέρθηκαν από τους Kute *et al.* (2011), οι οποίοι δεν βρήκαν διαφορές στη συνολική δραστικότητα ασκορβικού οξέος στις φράουλες που είχαν εκτεθεί σε 0,3 και 0,7 ppm O<sub>3</sub>, ενώ τα φρούτα που είχαν υποστεί επεξεργασία με όζον είχαν υψηλότερα διαλυτά στερεά περιεχόμενα μετά από επτά ημέρες ψυχρής αποθήκευσης (Pérez *et al.*, 1999). Η υψηλή περιεκτικότητα σε όζον (5000 mg O<sub>3</sub> / L) μείωσε την περιεκτικότητα σε βιταμίνη C μετά από 12 ημέρες αποθήκευσης (Allende *et al.*, 2007). Όταν οι φράουλες υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με έως 8 ppm όζοντος, διαπιστώθηκε ότι η έκθεση σε 4 ppm του αερίου θα μπορούσε να αναστείλει τη μείωση του ασκορβικού οξέος και τις δραστηριότητες υπεροξειδίου και καταλάσης. Επίσης, παρατηρήθηκε μείωση της απώλειας βάρους, ρυθμών αναπνοής και περιεκτικότητας σε μαλονιοδιαλδεΰδη (MDA).

Έτσι, η συγκέντρωση αυτού του όζοντος θεωρήθηκε κατάλληλη για τη διατήρηση της ποιότητας και την παράταση της διάρκειας ζωής των φραουλών. Φυτείες κατεργασμένες με όζον (150 mg / h για 15 λεπτά), που αποθηκεύτηκαν για 7 ημέρες στους 4°C, είχαν υψηλότερη περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ στους ελέγχους των φρούτων, υποστηρίζοντας τη χρησιμότητα αυτών των επεξεργασιών για τη διατήρηση της ποιότητας των φρούτων και της θρεπτικής αξίας κατά την αποθήκευση, ενώ ήταν εμφανής η συνεργιστική επίδραση συνδυασμένων απολυμαντικών (150 χλστγρ. / h, O<sub>3</sub> για 15 λεπτά με εμβάπτιση διαλύματος 1 mM σαλικυλικού οξέος) (Štolfa *et al.*, 2014).

Στην οργανοληπτική εξέταση των φραουλών, αρκετές μελέτες ανέφεραν ότι δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές μεταβολές στη γλυκύτητα των καρπών, τη σταθερότητα, το χρώμα και το χυμό των φραουλών που έχουν υποστεί επεξεργασία με όζον και των δειγμάτων ελέγχου (Nadas *et al.*, 2003; Allende *et al.*, 2007) και η προσέγγιση των παραμέτρων πρέπει να ικανοποιεί τις απαιτήσεις των καταναλωτών. Το άρωμα είναι μια σημαντική παράμετρος που σχετίζεται με την ποιότητα των φραουλών για την επιλογή του καταναλωτή.

Οι Perez *et al.* (1999) ανέφεραν ότι η επεξεργασία με όζον (0,35 ppm O<sub>3</sub>) μείωσε την εκπομπή πτητικών εστέρων στις φράουλες στους 2° C κατά τη διάρκεια

της αποθήκευσης. Ομοίως, οι Nadas *et al.* (2003) θεωρούν, ότι οι απώλειες αρώματος φρούτων θα μπορούσαν να ανιχνευθούν αμέσως μετά την εφαρμογή του O<sub>3</sub>, κατά τη διάρκεια της ψυχρής αποθήκευσης. Έτσι, το άρωμα των φρούτων δεν θα μπορεί να μειωθεί μετά την εφαρμογή του όζοντος. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές σε κανένα από τα ένζυμα που σχετίζονται με τη βιοσύνθεση αρωμάτων (LOX), δραστηριότητες υδρολυπεροξειδίου λυάσης (HPL) και δραστηριότητες αλκοολικής ακυλοτρανσφεράσης (AAT) μεταξύ των φρούτων που έχουν υποστεί επεξεργασία με O<sub>3</sub> (Nadas *et al.*, 2003; Pérez *et al.*, 1999) μετά τη συγκομιδή.

Η εφαρμογή 0,7 ppm όζοντος στα βακκίνια κατά τη διάρκεια των 4 ημερών και στη συνέχεια η μετέπειτα αποθήκευση για 4 εβδομάδες στους 0° C σε ελεγχόμενη ατμόσφαιρα θα μπορούσε να διατηρήσει την υψηλότερη εμπορευσιμότητα μειώνοντας τα σάπια φρούτα (Song *et al.*, 2003). Αυτή η επεξεργασία μπορεί να προκαλέσει κάποια πίεση στα φρούτα όπως μείωση της σύνθεσης μεθανόλης, αιθανόλης και 2-εννεανόνης, στο επεξεργασμένο φρούτο, υποδεικνύοντας ότι το όζον μπορεί να προκαλέσει άγχος στα φρούτα και / ή να μεταβάλει το μεταβολισμό τους.

Ωστόσο, ούτε η παραγωγή αιθυλενίου ούτε η περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνες και φαινολικές ενώσεις επηρεάστηκαν από τη θεραπεία με όζον, υποδεικνύοντας ότι το όζον δεν προκαλεί σημαντικό οξειδωτικό στρες για να μεταβάλει ή να αρχίσει εναλλακτικό μεταβολισμό και ωρίμανση των ίδιων των καρπών. Στην ίδια μελέτη, αναφέρθηκε σημαντική διακύμανση της περιεκτικότητας σε ανθοκυανίνες σε διαφορετικούς χρόνους συγκομιδής, γεγονός που δείχνει ότι η κατάσταση προ της συγκομιδής μπορεί επίσης να επηρεάσει τους φαινολικούς μεταβολισμούς ή / και να επηρεάσει την αποτελεσματικότητα των απολυμαντικών.

Δεν διαπιστώθηκαν διαφορές στην εμπορία φρούτων κατά την επεξεργασία με όζον μετά από 7 ημέρες στους 10° C, υποδηλώνοντας τη σημασία της θερμοκρασίας που θα μπορούσε να εξουδετερώσει την αποτελεσματικότητα του O<sub>3</sub> ως μεθόδου συντήρησης μετά τη συγκομιδή. Ο συνδυασμός διαφορετικών εφαρμογών του όζοντος, όπως η συνεχιζόμενη έκθεση στο αέριο για 64 λεπτά με επιπλέον 64 λεπτά σε πεπιεσμένο O<sub>3</sub>, μπορεί να αποτελέσει αποτελεσματικό μέσο απολύμανσης για τα σμέουρα. Ωστόσο, σε εμπορική κλίμακα, πρέπει να ληφθεί υπόψη και η σχέση κόστους-αποτελεσματικότητας. Επιπρόσθετα, απαιτείται περαιτέρω αξιολόγηση σχετικά με τις επιδράσεις του O<sub>3</sub> στη σταθερότητα των καρπών και στη διαρροή των χυμών πριν από την εμπορευματοποίηση (Bialka & Demirci, 2007; Bialka *et al.*, 2008).

Οι Norton *et al.* (1968) ανέφεραν, ότι τα βακκίνια που εκτέθηκαν σε 0.27 ppm O<sub>3</sub> κατά τη διάρκεια 8 εβδομάδων αποθήκευσης σε 4.4° C είχαν σαν αποτέλεσμα αυξημένη απώλεια βάρους φρούτων και η εφαρμογή του όζοντος δεν ήταν αποτελεσματική για τη μείωση του ποσοστού στα σαπισμένα βακκίνια. Οι ίδιοι ερευνητές προσπάθησαν να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα του O<sub>3</sub> αυξάνοντας τη συγκέντρωση (0,60 ppm O<sub>3</sub>) και τη θερμοκρασία (15° C) χωρίς επιτυχία, καθώς η φθορά των φρούτων και η απώλεια βάρους αυξήθηκαν. Αυτό σχετίστηκε με τη μείωση της περιεκτικότητας σε λιπίδια (έως και 25%) στην επιδερμίδα των φρούτων που είχαν υποστεί επεξεργασία σε σύγκριση με εκείνα που δεν είχαν, επηρεάζοντας την υποβάθμιση της επιδερμίδας και αυξάνοντας τη μυκητολογική προσβολή.

Η ακατάλληλη θερμοκρασία αποθήκευσης, καθώς η θερμοκρασία των 15° C είναι πολύ υψηλότερη από τη συνιστώμενη για τα μούρα, μπορεί να έχει ενισχύσει την υποβάθμιση των καρπών. Τα σταφύλια, που είναι και αυτά ευπαθή προϊόντα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, έχουν προσελκύσει ερευνητικά ενδιαφέροντα, συμπεριλαμβανομένων των ερευνών για τα αποτελέσματα του O<sub>3</sub>. Η εφαρμογή του όζοντος στα σταφύλια κατά την αποθήκευση ήταν αποτελεσματική έναντι της φυσικής επιφανειακής μικροχλωρίδας, αλλά δεν ήταν αποτελεσματική όταν οι μικροοργανισμοί είχαν εμβολιαστεί ή είχαν ήδη προσβάλει τους καρπούς.

Έτσι, η αποτελεσματικότητα του όζοντος μπορεί να επηρεαστεί από την απουσία ανταγωνιστικής μικροχλωρίδας και από ένα υψηλότερο μικροβιακό φορτίο των παθογόνων-στόχων, όταν τα φρούτα ενοφθαλμιστούν τεχνητά (Horvitz & Cantalejo, 2013). Οι Cayuela *et al.* (2009) ανέφεραν ότι μετά από 72 ημέρες σε 5° C, η αποσύνθεση των σταφυλιών μειώθηκε μετά την έκθεση σε 2 ppm αέριων O<sub>3</sub>, είτε εφαρμόζονταν συνεχώς ή διακεκομμένα, για 12 ώρες (συνολικά) την ημέρα, σε σύγκριση με τα φρούτα που αποθηκεύονταν χωρίς επεξεργασία. Επίσης, οι Sarig *et al.* (Sarig *et al.*, 1996; Sarig *et al.*, 1997) ανέφεραν, ότι η έκθεση του όζοντος (8 mg O<sub>3</sub> / λεπτό) είναι ένα αποτελεσματικό μέσο για τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού του *R. stolonifer* και του *B. cinerea* στα σταφύλια.

Επιπλέον, το O<sub>3</sub> προκάλεσε παραγωγή φυτοαλεξινών, ρεσβερατρόλης και πτεροστιλβενίου, που συνέβαλαν στην αποτελεσματικότητα της αέριας εφαρμογής όζοντος για τον έλεγχο της αποσύνθεσης. Ωστόσο, αυτά τα αποτελέσματα δεν αναπαράχθηκαν κατά τη διάρκεια παρόμοιων πειραμάτων που εκτελέστηκαν από τους Spalding (1968), Shimizu *et al.* (1982), Palou *et al.* (2002) και Artes-Hernandez *et al.* (2007). Τα φτωχά αποτελέσματα για τον έλεγχο της, μετά από την συγκομιδή,

γκρι μούχλας στις μελέτες αυτές, ήταν επειδή χρησιμοποιήθηκαν χαμηλές δόσεις όζοντος ή ασυνήθιστες συνθήκες αποθήκευσης θερμοκρασίας, δηλαδή 15,6° C στις μελέτες Spalding (1968) καθώς τα σταφύλια απαιτούσαν υψηλή δόση όζοντος και χαμηλή θερμοκρασία (0-1° C), για τον έλεγχο μυκητολογικών προσβολών.

Χαμηλές δόσεις όζοντος ή 0,1 ppm συνεχώς ή 8 ppm επί 30 λεπτά κάθε 2,5 ώρες αποδείχθηκε ότι είναι αναποτελεσματικό για τον έλεγχο της γκρίζας μούχλας μετά τη συγκομιδή στα σταφύλια και οι έρευνες επικεντρώθηκαν στην επεξήγηση των αντιφατικών αποτελεσμάτων (Palou *et al.*, 2002; Artés-Hernández *et al.*, 2007; Artés-Hernández *et al.*, 2004). Έτσι, οι Mlikota-Gabler *et al.* (2010) διαπίστωσαν, ότι για την επιτυχή υγιεινή των σταφυλιών κατά τη διάρκεια της προ-ψύξης απαιτείται ένας συνδυασμός υψηλής συγκέντρωσης O<sub>3</sub> (5000 μL / L) και σύντομης περιόδου (60 λεπτά) επεξεργασίας σε χαμηλή θερμοκρασία (0,5° C). Αυτοί οι συγγραφείς πρότειναν επίπεδα δόσης όζοντος (2500 ή 5000 μL / L x ώρες) καθώς ήταν εξίσου αποτελεσματικά σε μείωση κατά 50% του *B. Cinerea* μετά από 7 ημέρες αποθήκευσης στους 15° C ή μετά από 28 ημέρες στους 0,5° C μετά από εφαρμογή αέριου όζοντος.

Επιπροσθέτως, οι ποικιλίες των σταφυλιών ενδέχεται να έχουν διαφορετική φυσική αντοχή στο *B. cinerea*, οι οποίες πρέπει να ληφθούν υπόψη κατά την εφαρμογή του όζοντος για τον προσδιορισμό της αποτελεσματικότερης δόσης απόκρισης του όζοντος. Όσον αφορά την ποιότητα των φρούτων, η συνολική περιεκτικότητα σε πολυφαινόλες αυξήθηκε κατά 22,8%, οι συνολικές συγκεντρώσεις ανθοκυανίνης και φλαβονόλης διατηρήθηκαν και δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην απώλεια βάρους, τη σταθερότητα, τα συνολικά σάκχαρα και την περιεκτικότητα σε οργανικό οξύ (Artés-Hernández *et al.*, 2007).

#### 4.2.2. Μηλοειδή

Είναι αξιοσημείωτο πως λίγες πρόσφατες μελέτες έχουν διερευνήσει το αέριο όζον για την απολύμανση σε μηλοειδή φρούτα, είτε λόγω της μικρότερης αποτελεσματικότητας υψηλότερων συγκεντρώσεων όζοντος για μακρά αποθήκευση είτε λόγω της καθιερωμένης μακράς περιόδου αποθήκευσης (δύο μήνες) που επιτυγχάνεται με άλλα μέσα μετά τη συγκομιδή. Επιπρόσθετα, αυτά τα φρούτα συνδυάζουν συχνά βρώσιμες εφαρμογές επίστρωσης για βελτίωση της ποιότητας και

επέκταση της διάρκειας ζωής, γεγονός που μπορεί να περιορίσει την εφαρμογή του όζοντος. Η εφαρμογή του όζοντος μείωσε την ανάπτυξη των προσβολών των *B. cinerea* και *S. sclerotiorum* σε μήλα (Sharpe *et al.*, 2009) που εκτέθηκαν σε αέριο όζον 0,45 ppm για 2 ημέρες.

Οι Smock & Watson (1941) διαπίστωσαν, ότι μετά από 5 μήνες αποθήκευσης στους 4.4°C με ημερήσια εφαρμογή όζοντος (2-4 ppm O<sub>3</sub> για αρκετές ώρες), παρατηρήθηκαν μειωμένη προσβολή μυκήτων και διατήρηση σταθερότητας φρούτων σε σύγκριση με τα δείγματα ελέγχου. Επιπλέον, ο Bazarova (1982) ανέφερε αλλοίωση των καρπών και απώλεια βάρους στα μήλα μετά από έκθεση σε 0,006 ppm (για 4 ώρες / ημέρα) και ήταν δυνατό να επιτευχθεί επέκταση διατήρησης διάρκειας αρκετών εβδομάδων. Εντούτοις, όταν η συγκέντρωση του όζοντος αυξήθηκε στα 10 ppm, τα μήλα υπέστησαν βλάβη εξαιτίας σοβαρής οξειδωτικής έκρηξης (Kuprianoff, 1953).

Στα αχλάδια, η εφαρμογή όζοντος 0,4 μL / L για 107 ημέρες στους 0° C μείωσε τα επίπεδα αιθυλενίου που παράγονται από τα φρούτα (Skog & Chu, 2001). Εντούτοις, η αποτελεσματικότητα του όζοντος εξαλείφθηκε ύστερα από τρεις ημέρες αποθήκευσης στους 20°C. Έτσι, η σταθερότητα των αχλαδιών και τα ολικά διαλυτά στερεά δεν διέφεραν στα φρούτα που έχουν υποστεί επεξεργασία με O<sub>3</sub>. Δεν υπήρχαν συμπτώματα βλάβης του όζοντος στα αχλάδια, και αυτό οφείλεται στη χαμηλή συγκέντρωση όζοντος που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή τη μελέτη. Οι Zhao *et al.* (2013) ανέφεραν, ότι η εφαρμογή όζοντος (2.14-6.42-21.4 mg / m<sup>3</sup>) σε θερμοκρασία δωματίου κάθε μέρα για 1 ώρα, θα μπορούσε να διατηρήσει την ποιότητα των αχλαδιών. Η μέτρια θεραπεία O<sub>3</sub> (6,42 mg / m<sup>3</sup>) θα μπορούσε να ενισχύσει την αντιοξειδωτική ικανότητα και να διατηρήσει την ποιότητα των φρούτων.

### 4.2.3. Πυρηνόκαρπα

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η επιφάνεια και ο τύπος των φρούτων απαιτεί βελτιστοποίηση στην εφαρμογή του όζοντος, προκειμένου να επιτευχθεί αντιμικροβιακή δραστηριότητα και συντήρηση ποιότητας φρούτων. Μετά την έκθεση ροδάκινων εμβολιασμένων με σπόρια του *M. fructicola* ή *Rhizopus sp.* σε όζον 0,5 και 1 ppm για 24 ώρες, οι Ridley & Sims (1995) παρατήρησαν μείωση του αριθμού

των σαπισμένων φρούτων καθώς και της εξάπλωσης της νόσου σε σύγκριση με τον μη υποβληθέντα σε αγωγή έλεγχο (Horvitz & Cantalejo, 2013).

Αντίθετα αποτελέσματα αναφέρθηκαν από τον Spalding (1968), ο οποίος παρατήρησε ότι 0,5 ppm O<sub>3</sub> ήταν αναποτελεσματικά έναντι του *Rhizopus sp.* και του *M. fructicola* μετά από επτά ημέρες ψυχρής αποθήκευσης. Αυτά τα αντιφατικά αποτελέσματα μπορούν να αποδοθούν εν μέρει στη διαφορετική ημερομηνία αξιολόγησης. Έτσι, οι Ridley & Sims (1995) εξέτασαν τα ροδάκινα αμέσως μετά τις επεξεργασίες με το όζον, ενώ ο Spalding (1968) εξέτασε τα φρούτα που είχαν υποστεί επεξεργασία με όζον μετά από επτά ημέρες αποθήκευσης.

Επιπλέον, οι Palou *et al.* (2002) ανέφεραν ότι η έκθεση των εμβολιασμένων ροδάκινων με *M. fructicola*, *B. cinerea*, *M. piriformis* ή *P. expansum* σε 0,3 ppm O<sub>3</sub> για τέσσερις εβδομάδες σε 5°C μείωσαν την ανάπτυξη αλλοιώσεων και σποριογένεση όλων των παθογόνων που ελέγχθηκαν. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν την συνεργιστική επίδραση μεταξύ οζονισμένου αέρα (0,3 ppm) και χαμηλής θερμοκρασίας (5° C) στην πρόληψη της εναέριας μυκηλιακής ανάπτυξης, της εξάπλωσης της προσβολής και της σποριοποίησης, αλλά δεν μπορεί να υποτεθεί παρόμοιο όφελος σε υψηλότερη θερμοκρασία.

Τα δαμάσκηνα ενοφθαλμίστηκαν με διαφορετικό φορτίο εμβολίου ( $2 \times 10^7$ ,  $2 \times 10^5$  ή  $2 \times 10^3$  σπόρια) *Botrytis cinerea*, μεταφέρθηκαν σε ψυχρή αποθήκευση (13°C) και εκτέθηκαν σε καθαρό αέρα για 8 ημέρες (Tzortzakis *et al.*, 2007). Η επεξεργασία με όζον δεν είχε αποτελέσματα στην ανάπτυξη των αλλοιώσεων στα δαμάσκηνα, αν και υπήρχε στατιστικώς σημαντική σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του εμβολίου και της ανάπτυξης των συμπτωμάτων. Η παραγωγή σπορίων ήταν μειωμένη κατά περίπου 20% σε δαμάσκηνα επεξεργασμένα με όζον. Χαμηλή αποτελεσματικότητα του όζοντος μπορεί να αποδοθεί στη χαμηλή συγκέντρωση αερίου και στη σχετικά υψηλή θερμοκρασία αποθήκευσης που χρησιμοποιείται.

#### 4.2.4. Εσπεριδοειδή

Παρά τις λίγες μελέτες επεξεργασίας με υγρό όζον, αρκετές μελέτες αναφέρουν μειωμένη ανάπτυξη μυκήτων όταν εφαρμοστεί επεξεργασία με αέριο όζον. Για παράδειγμα, οι Krause & Weidensaul (1978) ανέφεραν, ότι η θεραπεία με όζον (0,3 ppm για δύο περιόδους 6 ωρών σε διαδοχικές ημέρες) ανέστειλε σημαντικά



τη σπορογένεση και τη βλάστηση κατά τη διάρκεια *in vitro* μελετών για το *B. cinerea*. Η μείωση της αναπαραγωγικής φάσης των μυκήτων (παραγωγή σπορίων και βιωσιμότητα σπορίων) έχει μεγάλο ενδιαφέρον, για την εξάλειψη της εξάπλωσής τους είτε μεταξύ των προϊόντων, είτε κατά την αποθήκευση και τη μεταφορά των συσκευασιών.

Επιπλέον, *in vitro* μελέτες των Margosan & Smilanick (2000) και Smilanick *et al.* (2002) ανέφεραν, ότι η βλάστηση σπορίων *B. cinerea*, *M. fructicola*, *P. digitatum* και *R. stolonifer* μειώθηκε με εμπλουτισμό αερίου με όζον 200 ppm υπό σχετικές υγρές συνθήκες και 4000 ppm υπό σχετικές ξηρές συνθήκες. Είναι σαφές, ότι η αποτελεσματικότητα του αερίου όζοντος αυξάνεται σε υψηλότερη σχετική υγρασία, καθώς απαιτούνται χαμηλότερες συγκεντρώσεις όζοντος κατά τη διάρκεια των συνθηκών αποθήκευσης φρέσκων προϊόντων. Έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες σχετικά με την αποτελεσματικότητα του όζοντος όσον αφορά τη διατήρηση των πορτοκαλιών.

Οι Palou *et al.* (2001) έδειξαν, ότι η παραγωγή σπορίων σε φρούτα πορτοκαλιού μολυσμένα με *P. digitatum* (πράσινη μούχλα) και *Penicillium italicum* (μπλε μούχλα) μειώθηκε με έκθεση σε όζον (0,3 ppm O<sub>3</sub>, στους 5°C για 4 εβδομάδες). Ως συνέπεια, η καταστολή της μυκηλιακής αύξησης είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής σπορίων. Λόγω αυτής της ανικανότητας του όζοντος να ελέγχει τους παθογόνους οργανισμούς στις πτυχές του φρούτου, το αέριο δεν θα μπορούσε να υποκαταστήσει τα συνθετικά μυκητοκτόνα που εφαρμόζονται επί του παρόντος στα εσπεριδοειδή.

Στην ίδια μελέτη, η έκθεση των πορτοκαλιών στο όζον ( $1,0 \pm 0,05$  ppm στους 10° C για 2 εβδομάδες) καθυστέρησε την ανάπτυξη των *P. digitatum* και *P. italicum* και μείωσε τον ρυθμό πολλαπλασιασμού και των δύο μυκητολογικών προσβολών. Σε άλλη μελέτη των Palou *et al.* (2003), αναφέρθηκε, ότι η αποτελεσματικότητα του όζοντος σχετίζεται με την καλή κυκλοφορία του όζοντος και τη διανομή του στους χώρους αποθήκευσης, καθώς και στο υλικό συσκευασίας. Σε αυτή τη μελέτη, τα *P. digitatum* και *P. italicum* εμβολιάζονται σε φρούτα εκτεθειμένα σε συγκέντρωση όζοντος 0,72 ppm για 14 ημέρες, είτε χωρίς συσκευασία (γυμνά), είτε με σάκους (σε σάκους από πολυαιθυλένιο ή σε χαρτόνι Masterboard). Επιπλέον, η εκπομπή αιθυλενίου από τα πορτοκάλια μειώθηκε σε μια εμπλουτισμένη με όζον ατμόσφαιρα, καθυστερώντας τη διαδικασία ωρίμανσης φρούτων και αύξησε το ρυθμό

καταστροφής του αιθυλενίου σε αυξημένες συγκεντρώσεις O<sub>3</sub> (Palou *et al.*, 2001; Kuprianoff, 1953).

Το όζον σε χαμηλή συγκέντρωση μπορεί να καθυστερήσει την ωρίμανση και τη γήρανση των φρούτων καθώς ο ρυθμός αναπνοής και η παραγωγή αιθυλενίου επιβραδύνουν. Ωστόσο, η υψηλή συγκέντρωση όζοντος μπορεί να προκαλέσει οξειδωτική έκρηξη, αλλάζοντας το μεταβολισμό των φρούτων με φυσιολογικές βλάβες. Η χαμηλή ή υψηλή αποτελεσματικότητα της συγκέντρωσης του όζοντος εξαρτάται από το εμπόρευμα. Οι Palou *et al.* (2001) ανέφεραν, ότι η συχνότητα εμφάνισης μπλε μούχλας καθυστέρησε σε λεμόνια μετά από έκθεση σε 0,3 ppm O<sub>3</sub>, που εφαρμόστηκε σε κύκλο ημέρας-νύχτας για εννέα εβδομάδες και αποθηκεύτηκε στους 4,5° C.

Σε αυτή τη μελέτη, είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι η εμφάνιση μπλε μούχλας καθυστέρησε αλλά δεν μειώθηκε, λόγω της επεξεργασίας του όζοντος κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα του όζοντος δεν ήταν μακροχρόνια, καθώς τόσο τα δείγματα ελέγχου όσο και τα δείγματα που υπέστησαν επεξεργασία με όζον είχαν 100% επίπτωση μετά από επτά εβδομάδες αποθήκευσης. Οι κλημεντίνες που εμβολιάστηκαν με σπόρια *B. cinerea* αποθηκεύτηκαν για οκτώ ημέρες στους 13° C και 95% RH σε ατμόσφαιρα εμπλουτισμένη με όζον (0,1 ppm). Τόσο η ανάπτυξη των μυκήτων, όσο και η παραγωγή σπορίων μειώθηκαν σημαντικά από την επεξεργασία με O<sub>3</sub> σε σύγκριση με τα φρούτα που είχαν αποθηκευτεί σε αέρα χωρίς την παρουσία όζοντος.

Η επεξεργασία με όζον καταστέλλει την παραγωγή σπορίων σε κλημεντίνες έως και 95% σε σύγκριση με τα φρούτα, που δεν εφαρμόστηκε όζον. Παρά τη χαμηλή συγκέντρωση όζοντος που χρησιμοποιείται και τη σχετικά υψηλή θερμοκρασία για την αποθήκευση κλημεντίνης, η αποτελεσματικότητα του όζοντος μπορεί να αποδοθεί στη συνεχή εφαρμογή αερίου κατά την αποθήκευση. Η συνδυασμένη εφαρμογή ηλεκτρολυμένου ύδατος (EW) για 8 και 16 λεπτά με όζον (0,2 ppm) στα μανταρίνια καταστέλλει το *P. digitatum* μετά από 28 ημέρες αποθήκευσης, ενώ δεν παρατηρήθηκαν δυσμενείς επιδράσεις στα χαρακτηριστικά ποιότητας των καρπών (Whangchai *et al.*, 2010).

Η εφαρμογή ηλεκτρολυμένου ύδατος (EW) για μικρότερο χρονικό διάστημα (δηλ. 4 λεπτών) σε συνδυασμό με 0,2 ppm όζον δεν ήταν αποτελεσματικό στον έλεγχο του *P. digitatum* στα φρούτα, καθώς η επίπτωση της νόσου αυξήθηκε σταδιακά μετά από 14 ημέρες αποθήκευσης. Σε αυτή τη μελέτη, η οποία είναι η μόνη

μελέτη για τα μανταρίνια, δεν υπάρχουν πληροφορίες σχετικά με την ίδια την αποτελεσματικότητα του όζοντος, προκειμένου να αξιολογηθεί ολοκληρωτικά μόνο το όζον.

Συγκεντρώσεις όζοντος παρόμοιες με 0,2 ppm έχουν εφαρμοστεί επιτυχώς σε άλλα προϊόντα εσπεριδοειδών. Ωστόσο, δεν συνιστάται άμεση εφαρμογή με 0,2 ppm του O<sub>3</sub>, λόγω της διαφορετικής σύνθεσης των καρπών και απαιτείται περαιτέρω μελέτη για τα μανταρίνια. Λαμβάνοντας υπόψη την εφαρμογή πλύσης σε εσπεριδοειδή, μπορεί να επηρεαστεί η δομή της επιφανείας και οι ιδιότητες του φλοιού (δηλαδή περιεκτικότητα σε κερί και αιθέριο έλαιο), όπως αναφέρθηκε προηγουμένως κατά την εφαρμογή υγρού όζοντος στα εσπεριδοειδή.

#### 4.2.5. Τροπικά φρούτα

Τα τροπικά και υποτροπικά φρούτα αποτελούνται κυρίως από μπανάνες, ακτινίδια, παπάγια, μάνγκο και λωτούς, με μικρή διάρκεια ζωής 1 έως 2 εβδομάδων. Επιπλέον, οι βέλτιστες θερμοκρασίες αποθήκευσης θεωρούνται οι υψηλές, κυμαινόμενες από 10-15° C (με εξαίρεση το ακτινίδιο στους 0° C για μερικούς μήνες) και αυτό μπορεί να μειώσει την αποτελεσματικότητα του όζοντος ως εργαλείο απολύμανσης σε τροπικά φρούτα. Οι Ong *et al.* (2012) εξέτασαν το αέριο όζον σε διάφορες συγκεντρώσεις (0, 0,04, 1,6 και 4 ppm) και για διάφορες διάρκειες έκθεσης (48, 96 και 144 ώρες) ως πιθανό αντιμυκητιασικό συντηρητικό για την αντιμετώπιση της ασθένειας που προκαλείται από το *Colletotrichum gloeosporioides* στην παπάγια μετά από 28 ημέρες αποθήκευσης σε 12 ± 1° C και 80% RH.

Η επεξεργασία της παπάγιας με όζον με 1,6 ppm για 96 ώρες καθυστέρησε και ταυτόχρονα μείωσε τη συχνότητα εμφάνισης της νόσου στο 40%. Το όζον (4 ppm) αναστέλλει τη δομή των σπορίων, αλλά δεν επηρεάζει την επιδερμίδα του φρούτου, υποδεικνύοντας τη διαφορετική αποτελεσματικότητα του όζοντος σε σπόρια μυκήτων και φρούτα. Εξετάζοντας την επίδραση του όζοντος στην ποιότητα της παπάγιας, οι Ong *et al.* (2014) εξέθεσαν τα φρούτα σε αέριο όζον (0, 1,5, 2,5, 3,5 και 5,0 ppm) για 96 ώρες πριν την έκθεση στον αέρα αποθήκευσης της συσκευασίας 25 ± 3° C με 70 ± 5% RH για 10 επιπλέον ημέρες.

Τα φρούτα που επεξεργάστηκαν με έως 3,5 ppm όζοντος είχαν χαμηλότερο ρυθμό αναπνοής και καθυστέρησε η ωρίμανσή τους σε σύγκριση με τα μη

επεξεργασμένα, ενώ η υψηλότερη συγκέντρωση όζοντος (> 3,5 ppm) παρήγαγε περισσότερο αιθυλένιο και προκάλεσε βλάβη στον ιστό των καρπών. Παρόμοια ευρήματα παρατηρήθηκαν όταν φρέσκια παπάγια εκτέθηκε σε όζον (9.2  $\mu\text{L} / \text{L}$ ) για μέχρι 30 λεπτά, αυξάνοντας την περιεκτικότητα σε φαινόλη, αλλά η περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ και ο αριθμός βακτηριδίων μειώθηκαν (Yeoh *et al.*, 2014).

Η εμφάνιση σήψης στο εμβολιασμένο ακτινίδιο καθυστέρησε σχεδόν ένα μήνα, όταν ο καρπός αποθηκεύτηκε σε ατμόσφαιρα που περιείχε 0,3  $\mu\text{L} / \text{L}$   $\text{O}_3$  (Minas *et al.*, 2010). Μετά από περίοδο αποθήκευσης τεσσάρων μηνών, η θεραπεία με όζον μείωσε την εμφάνιση της ασθένειας έως και 56% και ανέστειλε τα σπόρια των μυκήτων. Παρόμοια ευρήματα διαπιστώθηκαν και στα ακτινίδια όπως αποδείχθηκε σε μια άλλη σειρά πειραμάτων από την ίδια ερευνητική ομάδα. Η αύξηση των φαινολικών ενώσεων που παρατηρήθηκαν στα φρούτα που έχουν υποστεί επεξεργασία με όζον μπορεί να προκαλέσει αμυντική αντίσταση στα ακτινίδια κατά της προσβολής από *Botrytis* (Minas *et al.*, 2014). Η εφαρμογή του όζοντος εμποδίζει την παραγωγή αιθυλενίου (Minas *et al.*, 2014), την καθυστερημένη ωρίμανση και τις αντιοξειδωτικές δραστηριότητες των φρούτων, καταστέλλοντας σύνολο υποψήφιων πρωτεϊνών των ακτινιδίων, που σχετίζονται με την ωρίμανση που είναι ευαίσθητες στην καρβονυλίωση (Minas *et al.*, 2012).

Ομοίως, οι Barboni *et al.* (2010) ανέφεραν ότι το όζον (4 mg / h) καθυστέρησε την ανάπτυξη του *B. cinerea*, καθώς η σήψη που προκλήθηκε από αυτόν τον μύκητα ανιχνεύθηκε μετά από 21 εβδομάδες αποθήκευσης, σε αποθηκευμένους καρπούς ακτινιδίων με μικρές επιδράσεις στα χαρακτηριστικά ποιότητας των καρπών. Οι Whangchai *et al.* (2005) εξέτασαν την αποτελεσματικότητα του αερίου όζοντος (200  $\mu\text{L} / \text{L}$ ) σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης (15-30-60-120 λεπτά), για τον έλεγχο του *Lasioidiplodia sp.* και του *Cladosporium sp.* σε φρούτα Longan, επιτυγχάνοντας τα καλύτερα αποτελέσματα μετά από 60 λεπτά θεραπείας.

Όταν ο χρόνος έκθεσης του όζοντος ήταν μεγαλύτερος, μέχρι 120 λεπτά, βρέθηκε μόνο μια ελαφρά μείωση της νόσου, σε σύγκριση με τα δείγματα ελέγχου. Έτσι, η μεγαλύτερη έκθεση σε όζον μπορεί να προκαλέσει βλάβη, γεγονός που καθιστά τους καρπούς πιο ευαίσθητους στην αποσύνθεση με μικρότερη περίοδο μετά την συγκομιδή. Οι κατάλληλες συνθήκες αποθήκευσης (θερμοκρασία, σχετική υγρασία) με δόση όζοντος (συγκέντρωση x χρόνος) θα μπορούσαν να παρέχουν τις

βέλτιστες συνθήκες για τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα του όζοντος στα φρούτα Longan.

Σε μια άλλη σειρά πειραμάτων (Whangchai *et al.*, 2006), η εφαρμογή αερίου όζοντος (200  $\mu\text{L} / \text{L}$ ) για 60 λεπτά σε Longan, ήταν επίσης αποτελεσματική στη μείωση πληθυσμών μούχλας και ζυμομυκήτων στην επιφάνεια των καρπών αμέσως μετά την εφαρμογή και για τρεις ημέρες αποθήκευσης στους 25° C και 75% RH. Η αποτελεσματικότητα της νόσου του όζοντος αυξήθηκε, όταν το O<sub>3</sub> συνδυάστηκε με όξινο διάλυμα (για 5 λεπτά 5% κιτρικό ή οξαλικό οξύ). Οι Salvador *et al.* (2006) μελέτησαν την επίδραση της έκθεσης σε αέριο όζον (0,15 ppm) για 30 ημέρες στους 15° C και 90% RH (συν 7 ημέρες στους 20° C και 90% RH) στην ποιότητα των φρούτων του λωτού, που συλλέχθηκαν σε 2 διαφορετικές ημερομηνίες συγκομιδής.

Αυτοί οι ερευνητές διαπίστωσαν, ότι το O<sub>3</sub> δεν επηρέασε ούτε διατηρούσε τη σταθερότητα των καρπών, αλλά αύξησε την απώλεια βάρους και τη διαρροή ηλεκτρολυτών. Αυτή η επίδραση σχετίζεται με τη ζημία της επιδερμίδας, που προκαλείται από την έκθεση στο αέριο. Επιπλέον, στην ίδια μελέτη, τα χαρακτηριστικά ποιότητας των καρπών (χρώμα, συνολικά διαλυτά στερεά, pH, παραγωγή αιθανόλης και ακεταλδεΐδης) δεν επηρεάστηκαν σημαντικά από την επεξεργασία με O<sub>3</sub>. (Salvador *et al.*, 2006)

Η αναποτελεσματικότητα του όζοντος στην ποιότητα των καρπών λωτού μπορεί να οφείλεται στην υψηλότερη θερμοκρασία αποθήκευσης, καθώς η βέλτιστη θερμοκρασία για την αποθήκευσή του είναι  $0 \pm 1^\circ \text{C}$ . Οι Tran *et al.* (2015) εξέτασαν την επίδραση του αερίου όζοντος (2  $\mu\text{L} / \text{L}$  για 20 λεπτά ή 10  $\mu\text{L} / \text{L}$  για 10 λεπτά) πριν από την αποθήκευση σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (25° C) και μετά από τρεις ημέρες αποθήκευσης. Σε αυτή τη μελέτη, το όζον στα 10  $\mu\text{L} / \text{L}$  μείωσε σημαντικά το ρυθμό αναπνοής την ημέρα 4 και 6 σε σύγκριση με το μάρτυρα. Επιπλέον, το όζον μειώνει σημαντικά την παραγωγή αιθυλενίου αμέσως μετά την εφαρμογή.

Ωστόσο, αυτή η επίδραση δεν παρέμεινε καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης, καθώς η παραγωγή αιθυλενίου αυξήθηκε την 4<sup>η</sup> και 6<sup>η</sup> ημέρα μέσω του οξειδωτικού στρες και οδήγησε σε χαμηλότερο χρώμα στις φλούδες την ημέρα 4, χαμηλότερο χρώμα στον πολτό, υψηλότερη γωνία απόχρωσης και απώλεια βάρους την ημέρα 6 σε σχέση με άλλες εφαρμογές. Η σταθερότητα του φρούτου, η διαλυτή στερεή περιεκτικότητα και η τιτλοδοτούμενη οξύτητα δεν επηρεάστηκαν σημαντικά και αυτό μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή θερμοκρασία αποθήκευσης που χρησιμοποιήθηκε σε αυτή τη μελέτη.

# Συμπεράσματα

---

Τα φρούτα, όπως το μήλο, το αχλάδι, το σταφύλι, η φράουλα, τα εσπεριδοειδή, η μπανάνα και το μάνγκο συμβάλλουν επί του παρόντος στο μεγαλύτερο μέρος της συνολικής παγκόσμιας παραγωγής. Περίπου τα δύο τρίτα των φρούτων που παράγονται παγκοσμίως καταναλώνονται ως φρέσκα φρούτα. Η Κίνα και οι ΗΠΑ είναι οι κορυφαίοι παραγωγοί μήλων στον κόσμο (69 εκατομμύρια τόνοι μήλων παγκοσμίως). Η Ελλάδα το 2012 παρήγαγε 4,6 εκατομμύρια τόνους, με σημαντικότερα είδη φρούτων να είναι τα εσπεριδοειδή (πορτοκάλια, μανταρίνια, λεμόνια), τα σταφύλια, τα πυρηνόκαρπα (ροδάκινα, νεκταρίνια, βερίκοκα και κεράσια), τα μηλοειδή (μήλα και αχλάδια), τα καρπούζια και τα πεπόνια.

Λαμβάνοντας υπόψη το μέγεθος της βιομηχανίας προϊόντων φρούτων και τον μεγάλο αριθμό ατόμων που μπορεί να έρθουν σε επαφή με μολυσμένα φρούτα, ο έλεγχός τους είναι ζωτικής σημασίας. Τα ευρέως χρησιμοποιούμενα απολυμαντικά, όπως το χλώριο, παρουσιάζουν κάποια μειονεκτήματα, λόγω των περιορισμένων αποτελεσμάτων τους στη μείωση των μικροοργανισμών και των ανησυχιών για τις πιθανές επιπτώσεις τους στην υγεία των ανθρώπων. Ως εκ τούτου, η βιομηχανία τροφίμων αναζητά εφαρμογές, που θα υποκαταστήσουν αυτούς τους παράγοντες.

Μόνο τα νωπά προϊόντα που ικανοποιούν τις προσδοκίες του καταναλωτή είναι αποδεκτά. Επομένως, είναι ζωτικής σημασίας να εκτιμηθούν οι επιπτώσεις των ενδεχομένως καινοτόμων πρακτικών στις αισθητικές και οργανοληπτικές ιδιότητες των οπωροκηπευτικών. Η μεγαλύτερη έρευνα επικεντρώνεται στη διατήρηση των νωπών προϊόντων και στα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την ποιότητα, καθώς είναι απαραίτητη για την παράταση της αποθήκευσης φρούτων όπως και για την πρόκληση αμυντικού μηχανισμού αυτών.

Το όζον έχει αποδειχθεί επιτυχώς ως ένας πιθανός υποψήφιος χημικός παράγοντας, για τη συντήρηση φρούτων παρέχοντας αντιμικροβιακή, αντιοξειδωτική (δηλαδή αυξημένες δραστηριότητες βιταμίνης C και φαινολικής περιεκτικότητας) και αντιμυκητιακή προστασία. Η απολύμανση των προϊόντων από το όζον εξαρτάται από τον αριθμό και το είδος των μολυσματικών μικροοργανισμών, τη φυσιολογία του προϊόντος, το σύστημα εφαρμογής όζοντος, τη θερμοκρασία, το pH και άλλους παράγοντες. Ωστόσο, στη βιβλιογραφία υπάρχουν μεγάλες διαφορές αποτελεσμάτων

λόγω του μεγάλου αριθμού μεταβλητών που μπορεί να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα του όζοντος, για τη διατήρηση των φρούτων. Αυτές περιλαμβάνουν τη μέθοδο παραγωγής και εφαρμογής O<sub>3</sub>, τη συγκέντρωση και το χρόνο διάρκειας του O<sub>3</sub>, τη μέθοδο έκθεσης σε O<sub>3</sub>, τις συνθήκες αποθήκευσης, τα προϊόντα και τα μικρόβια.

Η μελέτη αυτή αναφέρει την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του αερίου και του υγρού όζοντος ως μικροβιοκτόνων έναντι κάποιων μυκήτων. Μέσω της βιβλιογραφικής ανασκόπησης, διερευνήθηκε η επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων υγρού και αερίου όζοντος στην ανάπτυξη, στην αναπαραγωγή και στη βλάστηση ορισμένων μυκήτων. Γενικά, η εφαρμογή υγρού όζοντος στα μούρα είχε ως αποτέλεσμα την καταστροφή των σπορίων του *Aspergillus niger*, στα μηλοειδή επηρεάστηκε η αναπαραγωγική φάση του *B. cinerea*, ενώ στα εσπεριδοειδή επηρεάστηκε η αναπαραγωγική φάση του *P. expansum* και παρατηρήθηκε αναστολή της βιωσιμότητας των σπορίων του.

Η εφαρμογή αερίου όζοντος στα μούρα, ανέστειλε την ανάπτυξη του παθογόνου *B. cinerea* κατά την αποθήκευση των βατόμουρων και αποδείχτηκε αποτελεσματικό μέσο για τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού του *R. stolonifer* και του *B. cinerea* στα σταφύλια. Τέλος, η επίπτωση της προσβολής μειώθηκε σημαντικά και ο σχηματισμός των σπορίων αναστάλθηκε πλήρως στις φράουλες που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία και είχαν χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης *B. cinerea* και *P. expansum*. Στα μηλοειδή, η εφαρμογή του όζοντος μείωσε την ανάπτυξη των προσβολών των *B. cinerea* και *S. sclerotiorum* σε μήλα.

Στα πυρηνόκαρπα, μετά από έκθεση ροδάκινων σε σπόρια των *M. fructicola* και *Rhizopus sp.*, παρατηρήθηκε μείωση του αριθμού των σαπισμένων φρούτων και της εξάπλωσης της προσβολής. Επιπλέον, η βλάστηση σπορίων *B. cinerea*, *M. fructicola*, *P. digitatum* και *R. stolonifer* μειώθηκε με εμπλουτισμό αερίου όζοντος. Στα εσπεριδοειδή, αναφέρθηκε σημαντική αναστολή στη σπορογένεση και στη βλάστηση για τους μύκητες *B. cinerea*, *P. digitatum* και *R. stolonifer*. Τέλος, παρατηρήθηκε καθυστέρηση ανάπτυξης των *P. digitatum* και *P. italicum* μειώνοντας ταυτόχρονα και τις των δύο μυκητολογικές προσβολές.

Συνοψίζοντας, το όζον είναι φιλικό προς το περιβάλλον, δεν αφήνει υπολείμματα και η σύγχρονη τεχνολογία επιτρέπει την ασφαλή εφαρμογή του στη βιομηχανία των οπωροκηπευτικών. Όμως, ως πολύ ισχυρό οξειδωτικό μέσο, το όζον είναι επικίνδυνο για τον άνθρωπο και προκαλεί ανεπανόρθωτες βλάβες στο

αναπνευστικό του σύστημα. Για το λόγο αυτό έχουν θεσπιστεί ανώτερα επιτρεπτά όρια έκθεσης των εργαζομένων στους χώρους εφαρμογής του τα οποία θα πρέπει να τηρούνται αυστηρά και επιπλέον όπου εφαρμόζεται το όζον θα πρέπει να εγκαθίστανται συστήματα ανίχνευσης και προειδοποίησης. Γι' αυτό πριν από την εμπορική κυκλοφορία του O<sub>3</sub> για ένα συγκεκριμένο προϊόν, είναι σημαντικό να προσδιοριστεί η σωστή συγκέντρωση και ο χρόνος έκθεσης, καθώς οι υπερβολικές δόσεις μπορούν να προκαλέσουν επιβλαβείς επιδράσεις τόσο στους εργαζόμενους και στα επεξεργασμένα προϊόντα όσο και στους καταναλωτές.



# Βιβλιογραφία

---

- Achen, M. and Yousef, A. (2001). Efficacy of Ozone Against Escherichia coli O157:H7 on Apples. *Journal of Food Science*, 66(9), pp.1380-1384.
- Aday, M. and Caner, C. (2014a). Individual and combined effects of ultrasound, ozone and chlorine dioxide on strawberry storage life. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), pp.344-351.
- Aday, M., Büyükcan, M., Temizkan, R. and Caner, C. (2014b). Role of Ozone Concentrations and Exposure Times in Extending Shelf Life of Strawberry. *Ozone: Science & Engineering*, 36(1), pp.43-56.
- Agrios, G. (2009). *Plant pathology*. Amsterdam [u.a.]: Elsevier Acad. Press.
- Akbas, M. and Ölmez, H. (2007). Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(14), pp.2609-2616.
- Alexandre, E., Santos-Pedro, D., Brandão, T. and Silva, C. (2011). Influence of aqueous ozone, blanching and combined treatments on microbial load of red bell peppers, strawberries and watercress. *Journal of Food Engineering*, 105(2), pp.277-282.
- Allende, A., Marín, A., Buendía, B., Tomás-Barberán, F. and Gil, M. (2007). Impact of combined postharvest treatments (UV-C light, gaseous O<sub>3</sub>, superatmospheric O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub>) on health promoting compounds and shelf-life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 46(3), pp.201-211.
- Allende, A., Selma, M., López-Gálvez, F., Villaescusa, R. and Gil, M. (2008). Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1), pp.155-163.
- Alothman, M., Kaur, B., Fazilah, A., Bhat, R. and Karim, A. (2010). Ozone-induced changes of antioxidant capacity of fresh-cut tropical fruits. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(4), pp.666-671.
- American Cancer Society (2012). *Oxygen Therapy*. [online] Web.archive.org. Available at: <https://web.archive.org/web/20120321213742/http://www.cancer.org/Treatment/TreatmentsandSideEffects/ComplementaryandAlternativeMedicine/PharmacologicalandBiologicalTreatment/oxygen-therapy> [Accessed 15 May 2018].
- Antoniou, M. and Andersen, H. (2012). Evaluation of pretreatments for inhibiting bromate formation during ozonation. *Environmental Technology*, 33(15), pp.1747-1753.
- Aoyama, K. and Nakaki, T. (2015). Glutathione in Cellular Redox Homeostasis: Association with the Excitatory Amino Acid Carrier 1 (EAAC1). *Molecules*, 20(5), pp.8742-8758.
- Ariza, M., Larsen, T., Duus, J. and Barrero, A. (2002). Penicillium digitatum Metabolites on Synthetic Media and Citrus Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(22), pp.6361-6365.
- Artés-Hernández, F., Aguayo, E. and Artés, F. (2004). Alternative atmosphere treatments for keeping quality of ‘Autumn seedless’ table grapes during long-term cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 31(1), pp.59-67.

- Artés-Hernández, F., Aguayo, E., Artés, F. and Tomás-Barberán, F. (2007). Enriched ozone atmosphere enhances bioactive phenolics in seedless table grapes after prolonged shelf life. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(5), pp.824-831.
- Baggio, J., Gonçalves, F., Lourenço, S., Tanaka, F., Pascholati, S. and Amorim, L. (2015). Direct penetration of *Rhizopus stolonifer* into stone fruits causing rhizopus rot. *Plant Pathology*, 65(4), pp.633-642.
- Banerjee, S. and Mudd, J. (1992). Reaction of ozone with glycophorin in solution and in lipid vesicles. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 295(1), pp.84-89.
- Barboni, T., Cannac, M. and Chiaramonti, N. (2010). Effect of cold storage and ozone treatment on physicochemical parameters, soluble sugars and organic acids in *Actinidia deliciosa*. *Food Chemistry*, 121(4), pp.946-951.
- Barceló, D. (2007). *Fuel oxygenates*. Berlin: Springer.
- Barth, M., Zhou, C., Mercier, J. and Payne, F. (1995). Ozone Storage Effects on Anthocyanin Content and Fungal Growth in Blackberries. *Journal of Food Science*, 60(6), pp.1286-1288.
- Barth, M., Zhou, C., Mercier, J. and Payne, F. (1995). Ozone Storage Effects on Anthocyanin Content and Fungal Growth in Blackberries. *Journal of Food Science*, 60(6), pp.1286-1288.
- Bazarova, V. (1982). Use of ozone in storage of apples. *Journal of Food Science*, 14(11).
- Bazarova, V. (1982). Use of ozone in storage of apples. *Journal of Food Science*, 14, p.11.
- Berlett, B. and Stadtman, E. (1997). Protein Oxidation in Aging, Disease, and Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), pp.20313-20316.
- Beuchat, L., Nail, B., Adler, B. and Clavero, M. (1998). Efficacy of Spray Application of Chlorinated Water in Killing Pathogenic Bacteria on Raw Apples, Tomatoes, and Lettuce. *Journal of Food Protection*, 61(10), pp.1305-1311.
- Bialka, K. and Demirci, A. (2007). Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on Blueberries Using Ozone and Pulsed UV-Light. *Journal of Food Science*, 72(9), pp.M391-M396.
- Bialka, K., Demirci, A. and Puri, V. (2008). Modeling the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on raspberries and strawberries resulting from exposure to ozone or pulsed UV-light. *Journal of Food Engineering*, 85(3), pp.444-449.
- Block, J. (1982). Removal of bacteria and viruses by ozonation. In: W. Masschelein, ed., *Ozonization Manual for Water and Wastewater Treatment*. New York: Wiley Interscience, pp.66-68.
- Boer, H., van Elzelingen-Dekker, C., van Rheenen-Verberg, C. and Spanjaard, L. (2006). Use of Gaseous Ozone for Eradication of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* From the Home Environment of a Colonized Hospital Employee. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 27(10), pp.1120-1122.
- Bowman, S. and Free, S. (2006). The structure and synthesis of the fungal cell wall. *BioEssays*, 28(8), pp.799-808.
- Brackett, R. (1999). Incidence, contributing factors, and control of bacterial pathogens in produce. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3), pp.305-311.
- Brown, T. and Lemay, H. (2003). *Chemistry*. Upper Saddle River, NJ: Pearson Education.
- Bruns, T. (2006). A kingdom revised. *Nature*, 443(7113), pp.758-761.
- Brunton, L. (2010). *The Practitioner: A Journal of Therapeutics and Public Health*. Nabu Press.
- Campbell, N. and Reece, J. (2002). *Biology*. San Francisco, Calif.: Addison-Wesley/Benjamin Cummings.

- Cayuela, J., Vázquez, A., Pérez, A. and García, J. (2009). Control of Table Grapes Postharvest Decay by Ozone Treatment and Resveratrol Induction. *Food Science and Technology International*, 15(5), pp.495-502.
- Celio, G., Padamsee, M., Dentinger, B., Bauer, R. and McLaughlin, D. (2006). Assembling the Fungal Tree of Life: constructing the Structural and Biochemical Database. *Mycologia*, 98(6), pp.850-859.
- Charisiadis, P., Andra, S., Makris, K., Christodoulou, M., Christophi, C., Kargaki, S. and Stephanou, E. (2013). Household Cleaning Activities as Noningestion Exposure Determinants of Urinary Trihalomethanes. *Environmental Science & Technology*, 48(1), pp.770-780.
- colostate.edu (2018). Precursor Era Contributors to Meteorology. [online] Rammb.cira.colostate.edu. Available at: <http://rammb.cira.colostate.edu/dev/hillger/precursor.htm#schonbein> [Accessed 9 May 2018].
- Crowe, K., Bushway, A., Bushway, R., Davis-Dentici, K. and Hazen, R. (2007). A comparison of single oxidants versus advanced oxidation processes as chlorine-alternatives for wild blueberry processing (*Vaccinium angustifolium*). *International Journal of Food Microbiology*, 116(1), pp.25-31.
- Cuthbertson, C. and Cuthbertson, M. (1914). On the Refraction and Dispersion of the Halogens, Halogen Acids, Ozone, Steam, Oxides of Nitrogen and Ammonia. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 213(497-508), pp.1-26.
- Deacon, J. (2001). *Modern mycology*. Oxford: Blackwell Science.
- Delimpasis, K. (2009). *Ozone and Color Removal* | *OzoneSolutions.com*. [online] Ozonesolutions.com. Available at: <https://www.ozonesolutions.com/info/ozone-and-color-removal> [Accessed 15 May 2018].
- Desjardin, D., Perry, B., Lodge, D., Stevani, C. and Nagasawa, E. (2010). Luminescent *Mycena*: new and noteworthy species. *Mycologia*, 102(2), pp.459-477.
- Di Renzo, G., Altieri, G., D'Erchia, L., Lanza, G. and Strano, M. (2005). Effects of gaseous ozone exposure on cold stored orange fruit. *Acta Horticulturae*, (682), pp.1605-1610.
- Domsch, K., Gams, W. and Anderson, T. (1993). *Compendium of soil fungi*. Eching: IHW-Verl.
- Dooley, M. and Mudd, J. (1982). Reaction of ozone with lysozyme under different exposure conditions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 218(2), pp.459-471.
- Esau, K. (2006). *Anatomy of seed plants*. New York: John Wiley & Sons.
- Ewell, A. (1953). Ozone and its applications in food preservation. *Refrigerating Eng*, 58, pp.1-4.
- Farooq, S. and Akhlaque, S. (1983). Comparative response of mixed cultures of bacteria and virus to ozonation. *Water Research*, 17(7), pp.809-812.
- Ferreira da Costa, O., dos Santos Ferreira, D., Presti Mendonça, F. and Fernandes, M. (2004). Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalminae), to short-term exposure to nitrite. *Aquaculture*, 232(1-4), pp.627-636.
- Florabase (2014). *Glossary of Botanical Terms*. [online] Florabase.dpaw.wa.gov.au. Available at: <https://florabase.dpaw.wa.gov.au/help/glossary#B> [Accessed 22 May 2018].
- Forney, C., Fan, L., Hildebrand, P. and Song, J. (2001). Do negative air ions reduce decay of fresh fruits and vegetables?. *Acta Horticulturae*, (553), pp.421-424.
- Gabler, F., Mercier, J., Jiménez, J. and Smilanick, J. (2010). Integration of continuous biofumigation with *Muscodora albus* with pre-cooling fumigation with ozone or sulfur

- dioxide to control postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 55(2), pp.78-84.
- Goff, S. and Klee, H. (2006). Plant Volatile Compounds: Sensory Cues for Health and Nutritional Value?. *Science*, 311(5762), pp.815-819.
  - Gorman, B., Sofos, J., Morgan, J., Schmidt, G. and Smith, G. (1995). Evaluation of Hand-Trimming, Various Sanitizing Agents, and Hot Water Spray-Washing as Decontamination Interventions for Beef Brisket Adipose Tissue. *Journal of Food Protection*, 58(8), pp.899-907.
  - Graham, Δ. (1997). Use of ozone for food processing. *Food technology*, 51, pp.72-75.
  - Grimes, H., Perkins, K. and Boss, W. (1983). Ozone Degrades into Hydroxyl Radical under Physiological Conditions : A Spin Trapping Study. *PLANT PHYSIOLOGY*, 72(4), pp.1016-1020.
  - Gupta, P. (2006). *Genetics: Classical to Modern*. Rastogi Publications.
  - Guzel-Seydim, Z., Greene, A. and Seydim, A. (2004). Use of ozone in the food industry. *LWT - Food Science and Technology*, 37(4), pp.453-460.
  - Hamelin, C. (1985). Production of single- and double-strand breaks in plasmid dna by ozone. *International Journal of Radiation Oncology\*Biophysics*, 11(2), pp.253-257.
  - Han, Y., Floros, J., Linton, R., Nielsen, S. and Nelson, P. (2002). Response Surface Modeling for the Inactivation of Escherichia coli O157:H7 on Green Peppers (*Capsicum annuum*) by Ozone Gas Treatment. *Journal of Food Science*, 67(3), pp.1188-1193.
  - Hassenberg, K., Fröhling, A., Geyer, M., Schlüter, O. and Herppich, W. (2008). Ozonated Wash Water for Inhibition of *Pectobacterium carotovorum* on Carrots and the Effect on the Physiological Behaviour of Produce. *European Journal of Horticultural Science*, 73(1), pp.37-42.
  - Hawksworth, D. and Lücking, R. (2017). Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiology Spectrum*, 5(4).
  - HD - Hospital Development (2007). *HD - Hospital Development*. [online] Web.archive.org. Available at: <https://web.archive.org/web/20070929000438/http://www.hdmagazine.co.uk/story.asp?storyCode=2043080> [Accessed 15 May 2018].
  - Heitman, J. (2006). Sexual Reproduction and the Evolution of Microbial Pathogens. *Current Biology*, 16(17), pp.R711-R725.
  - Henshaw, S., Garman, S., Barbour, T., Thayer, J., Bangs, O. and Allen, G. (1912). Some Chinese vertebrates. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology*, 40(4), pp.108-245.
  - Hibbett, D., Binder, M., Bischoff, J., Blackwell, M., Cannon, P., Eriksson, O., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P., Lücking, R., Thorsten Lumbsch, H., Lutzoni, F., Matheny, P., McLaughlin, D., Powell, M., Redhead, S., Schoch, C., Spatafora, J., Stalpers, J., Vilgalys, R., Aime, M., Aptroot, A., Bauer, R., Begerow, D., Benny, G., Castlebury, L., Crous, P., Dai, Y., Gams, W., Geiser, D., Griffith, G., Gueidan, C., Hawksworth, D., Hestmark, G., Hosaka, K., Humber, R., Hyde, K., Ironside, J., Kõljalg, U., Kurtzman, C., Larsson, K., Lichtwardt, R., Longcore, J., Miądlikowska, J., Miller, A., Moncalvo, J., Mozley-Standridge, S., Oberwinkler, F., Parmasto, E., Reeb, V., Rogers, J., Roux, C., Ryvarden, L., Sampaio, J., Schüßler, A., Sugiyama, J., Thorn, R., Tibell, L., Untereiner, W., Walker, C., Wang, Z., Weir, A., Weiss, M., White, M., Winka, K., Yao, Y. and Zhang, N. (2007). A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research*, 111(5), pp.509-547.
  - Hill, A. and Rice, R. (1982). Historical, background, properties and applications. In: R. Rice and A. Netzer, ed., *Handbook of ozone technology and applications*. Michigan, USA: Ann. Arbor. Science, pp.1-37.

- Hill, L. and Flack, M. (1911). The Physiological Influence of Ozone. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 84(573), pp.404-415.
- Hoigné, J. (1998). Chemistry of aqueous ozone and transformation of pollutants by ozonation and advanced oxidation processes. In: J. Hrubec, ed., *The handbook of environmental chemistry: Quality and treatment of drinking water II*. Berlin Heidelberg Germany: Springer-Verlag, pp.83-141.
- Horvath, M., Bilitzky, L. and Hüttner, J. (1985). Fields of utilization of ozone. In: K. Becker, ed., *Ozone*. New York: Elsevier Science publishing, pp.257-316.
- Horvitz, S. and Cantalejo, M. (2013). Application of Ozone for the Postharvest Treatment of Fruits and Vegetables. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54(3), pp.312-339.
- Hui, Y., Chen, F., Nollet, L. and Guiné, R. (2010). *Handbook of fruit and vegetable flavors*. Hoboken, N.J.: Wiley.
- Hwang, E., Cash, J. and Zabik, M. (2001). Postharvest Treatments for the Reduction of Mancozeb in Fresh Apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6), pp.3127-3132.
- Hynes, M. (1994). Regulatory circuits of the *madS* gene of *Aspergillus nidulans*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 65(3), pp.179-182.
- in Relation to Horticultural Product Quality. *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea* Sharpe, D., Fan, L., McRae, K., Walker, B., MacKay, R. and Doucette, C. (2009). Effects of Ozone Treatment on *Journal of Food Science*, 74(6), pp.M250-M257.
- Jerrett, M., Burnett, R., Pope, C., Ito, K., Thurston, G., Krewski, D., Shi, Y., Calle, E. and Thun, M. (2009). Long-Term Ozone Exposure and Mortality. *New England Journal of Medicine*, 360(11), pp.1085-1095.
- Jiang, Y., Zhu, X. and Li, Y. (2001). Postharvest Control of Litchi Fruit Rot by *Bacillus subtilis*. *LWT - Food Science and Technology*, 34(7), pp.430-436.
- Karaca, H. (2010). Use of Ozone in the Citrus Industry. *Ozone: Science & Engineering*, 32(2), pp.122-129.
- Karaca, H. and Velioglu, Y. (2007). Ozone Applications in Fruit and Vegetable Processing. *Food Reviews International*, 23(1), pp.91-106.
- Kells, S., Mason, L., Maier, D. and Woloshuk, C. (2001). Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. *Journal of Stored Products Research*, 37(4), pp.371-382.
- Ketteringham, L., Gausseres, R., James, S. and James, C. (2006). Application of aqueous ozone for treating pre-cut green peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Engineering*, 76(1), pp.104-111.
- Keutgen, A. and Pawelzik, E. (2008). Influence of pre-harvest ozone exposure on quality of strawberry fruit under simulated retail conditions. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1), pp.10-18.
- Khadre, M., Yousef, A. and Kim, J. (2001). Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review. *Journal of Food Science*, 66(9), pp.1242-1252.
- Kim, J. and Yousef, A. (2000). Inactivation Kinetics of Foodborne Spoilage and Pathogenic Bacteria by Ozone. *Journal of Food Science*, 65(3), pp.521-528.
- Kim, J., Yousef, A. and Chism, G. (1999). Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. *Journal of Food Safety*, 19(1), pp.17-34.
- Knee, M. (2002). *Fruit quality and its biological basis*. Sheffield: Sheffield Academic Press.
- Knight, K. and Mudd, J. (1984). The reaction of ozone with glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 229(1), pp.259-269.

- Korich, D., Mead, J., Madore, M., Sinclair, N. and Sterling, C. (1990). Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(5), pp.1423-1428.
- Koyuncu, M., Seydim, A., Dilmaçınal, T., Savran, H. and Taş, T. (2008). Effects of different precooling treatments with ozonated water on the quality of '0900 ziraat' sweet cherry fruit. *Acta Horticulturae*, (795), pp.831-836.
- Krause, C. (1978). Effects of Ozone on the Sporulation, Germination, and Pathogenicity of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology*, 68(2), p.195.
- Kuprianoff, J. (1953). The use of ozone in cold storage of fruits. *Kaltetechnik*, 10, pp.1-9.
- Langlais, B., Reckhow, D. and Brink, D. (1991). Practical application of ozone: Principle and case study. In: B. Langlais, D. Reckhow and D. Brink, ed., *Ozone in Water Treatment: Application and engineering cooperative research report*. Chlelsea, Michigan: Lewis Publishers, pp.133-136.
- Le Prestre, P., Reid, J. and Morehouse, E. (1998). Protecting the ozone layer. Boston: Kluwer Academic.
- Leštan, D., Hanc, A. and Finžgar, N. (2005). Influence of ozonation on extractability of Pb and Zn from contaminated soils. *Chemosphere*, 61(7), pp.1012-1019.
- Lewis, R. (2002). *CRC dictionary of agricultural sciences*. Boca Raton: CRC Press.
- Liew, C. and Prange, R. (1994). Effect of Ozone and Storage Temperature on Postharvest Diseases and Physiology of Carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, pp.563–567.
- Margosan, D. and Smilanick, J. (2000). Mortality of spores of *Botrytis cinerea*, *Monilinia*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* after exposure to ozone gas, and a survey of the tolerance of produce to sporicidal ozone doses. In: C. Davis, ed., *Proceedings of Postharvest Integrated Pest Management meeting*. California: Univ. of California.
- Mauseth, J. (2009). *Botany*. Boston: Jones and Bartlett Publishers.
- Mauseth, J., Scheckler, S., Hill, S. and Taylor, D. (2003). *Botany*. Boston: Jones and Bartlett Publishers.
- Miller, J., Flannigan, B. and Samson, R. (2001). *Microorganisms in home and indoor work environments*. London: Taylor & Francis.
- Minas, I., Karaoglanidis, G., Manganaris, G. and Vasilakakis, M. (2010). Effect of ozone application during cold storage of kiwifruit on the development of stem-end rot caused by *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, 58(3), pp.203-210.
- Minas, I., Tanou, G., Belghazi, M., Job, D., Manganaris, G., Molassiotis, A. and Vasilakakis, M. (2012). Physiological and proteomic approaches to address the active role of ozone in kiwifruit post-harvest ripening. *Journal of Experimental Botany*, 63(7), pp.2449-2464.
- Minas, I., Vicente, A., Dhanapal, A., Manganaris, G., Goulas, V., Vasilakakis, M., Crisosto, C. and Molassiotis, A. (2014). Ozone-induced kiwifruit ripening delay is mediated by ethylene biosynthesis inhibition and cell wall dismantling regulation. *Plant Science*, 229, pp.76-85.
- Montecalvo, J. and Williams, D. (2008). *Application of ozonation in sanitizing vegetable process washwaters*. [ebook] California: Department of Food Science and Nutrition - Department of Bioresource and Agricultural Engineering. Available at: [https://web.archive.org/web/20080528140629/http://www.cwtozone.com/files/articles/Food\\_Produce/Article%20-%20Veg.%20Process%20washwater.pdf](https://web.archive.org/web/20080528140629/http://www.cwtozone.com/files/articles/Food_Produce/Article%20-%20Veg.%20Process%20washwater.pdf) [Accessed 15 May 2018].
- Moore, G., Griffith, C. and Peters, A. (2000). Bactericidal Properties of Ozone and Its Potential Application as a Terminal Disinfectant. *Journal of Food Protection*, 63(8), pp.1100-1106.

- Moore-Landecker, E. (1972). *Fundamentals of the fungi*. Englewood Cliffs, N.J.: Prentice-Hall.
- Mudd, J., Dawson, P., Adams, J., Wingo, J. and Santrock, J. (1996). Reaction of Ozone with Enzymes of Erythrocyte Membranes. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 335(1), pp.145-151.
- Mudd, J., Dawson, P., Tseng, S. and Liu, F. (1997). Reaction of Ozone with Protein Tryptophans: Band III, Serum Albumin, and Cytochrome C. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 338(2), pp.143-149.
- Mueller, G. and Schmit, J. (2007). Fungal biodiversity: what do we know? What can we predict?. *Biodiversity and Conservation*, 16(1), pp.1-5.
- Nadas, A., Olmo, M. and Garcia, J. (2003). Growth of *Botrytis cinerea* and Strawberry Quality in Ozone-enriched Atmospheres. *Journal of Food Science*, 68(5), pp.1798-1802.
- Noble, A. and Summerfelt, S. (1996). Diseases encountered in rainbow trout cultured in recirculating systems. *Annual Review of Fish Diseases*, 6, pp.65-92.
- Norton, J., Charig, A. and Demoranville, I. (1968). The effect of ozone on storage of cranberries. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 93, pp.792-796.
- Notermans, S., Dufrenne, J., Wijnands, L. and Engel, H. (1988). Human serum antibodies to extracellular polysaccharides (EPS) of moulds. *Medical Mycology*, 26(1), pp.41-48.
- O'Connell, S. (2009). The science behind that fresh seaside smell. [online] Telegraph.co.uk. Available at: <https://www.telegraph.co.uk/news/science/6044238/The-science-behind-that-fresh-seaside-smell.html> [Accessed 9 May 2018].
- Ong, K., Cash, J., Zabik, M., Siddiq, M. and Jones, A. (1996). Chlorine and ozone washes for pesticide removal from apples and processed apple sauce. *Food Chemistry*, 55(2), pp.153-160.
- Ong, M., Ali, A., Alderson, P. and Forney, C. (2014). Effect of different concentrations of ozone on physiological changes associated to gas exchange, fruit ripening, fruit surface quality and defence-related enzymes levels in papaya fruit during ambient storage. *Scientia Horticulturae*, 179, pp.163-169.
- Ong, M., Kazi, F., Forney, C. and Ali, A. (2012). Effect of Gaseous Ozone on Papaya Anthracnose. *Food and Bioprocess Technology*, 6(11), pp.2996-3005.
- Oshikata, C., Tsurikisawa, N., Saito, A., Watanabe, M., Kamata, Y., Tanaka, M., Tsuburai, T., Mitomi, H., Takatori, K., Yasueda, H. and Akiyama, K. (2013). Fatal pneumonia caused by *Penicillium digitatum*: a case report. *BMC Pulmonary Medicine*, 13(1).
- Ozone-Information.com (2008). *Oxidation Potential of Ozone*. [online] Web.archive.org. Available at: [https://web.archive.org/web/20080419034421/http://www.ozone-information.com/Oxidation\\_Potential\\_Ozone.html](https://web.archive.org/web/20080419034421/http://www.ozone-information.com/Oxidation_Potential_Ozone.html) [Accessed 15 May 2018].
- Page, T., Harris, R. and Epstein, S. (1976). Drinking water and cancer mortality in Louisiana. *Science*, 193(4247), pp.55-57.
- Painter, J., Hoekstra, R., Ayers, T., Tauxe, R., Braden, C., Angulo, F. and Griffin, P. (2013). Attribution of Foodborne Illnesses, Hospitalizations, and Deaths to Food Commodities by using Outbreak Data, United States, 1998–2008. *Emerging Infectious Diseases*, 19(3), pp.407-415.
- Palou, L., Crisosto, C., Smilanick, J., Adaskaveg, J. and Zoffoli, J. (2002). Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 24(1), pp.39-48.
- Palou, L., Crisosto, C., Smilanick, J., Adaskaveg, J. and Zoffoli, J. (2002). Effects of continuous 0.3 ppm ozone exposure on decay development and physiological responses of

- peaches and table grapes in cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 24(1), pp.39-48.
- Palou, L., Smilanick, J., Crisosto, C. and Mansour, M. (2001). Effect of Gaseous Ozone Exposure on the Development of Green and Blue Molds on Cold Stored Citrus Fruit. *Plant Disease*, 85(6), pp.632-638.
  - Palou, L., Smilanick, J., Crisosto, C., Mansour, M. and Plaza, P. (2003). Ozone gas penetration and control of the sporulation of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* within commercial packages of oranges during cold storage. *Crop Protection*, 22(9), pp.1131-1134.
  - Pandey, V. (2005). *Environmental education*. Delhi: Isha Books.
  - Pérez, A., Sanz, C., Ríos, J., Olías, R. and Olías, J. (1999). Effects of Ozone Treatment on Postharvest Strawberry Quality. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(4), pp.1652-1656.
  - Pirovani, M., Guemes, D., Di Pentima, J. and Tessi, M. (2000). Survival of *Salmonella hadar* after washing disinfection of minimally processed spinach. *Letters in Applied Microbiology*, 31(2), pp.143-148.
  - Pitt, J. and Hocking, A. (2009). *Fungi and food spoilage*. Dordrecht: Springer.
  - Plaue, J. and Czerwinski, K. (2003). The influence of ozone on ligand-assisted extraction of <sup>239</sup>Pu and <sup>241</sup>Am from Rocky Flats soil. *Radiochimica Acta*, 91(6).
  - Plewa, M., Wagner, E., Muellner, M., Hsu, K. and Richardson, S. (2008). Comparative Mammalian Cell Toxicity of N-DBPs and C-DBPs. *ACS Symposium Series*, pp.36-50.
  - Raghavan, V. (1997). *Molecular embryology of flowering plants*. Cambridge [England]: Cambridge University Press.
  - Restaino, L., Frampton, E., Hemphill, J. and Palnikar, P. (1995). Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(9), pp.3471-3475.
  - Rice, R. (2002). Century 21 - Pregnant with Ozone. *Ozone: Science & Engineering*, 24(1), pp.1-15.
  - Rice, R., Farquhar, J. and Bollyky, L. (1982). Review of the applications of ozone for increasing storage times of perishable foods. *Ozone Science and Engineering*, 4(3), pp.147-163.
  - Ritchie, D. (2000). Brown rot of stone fruits. *The Plant Health Instructor*.
  - Roberts, P. and Evans, S. (2011). *The book of fungi*. Chicago, Illinois: The University of Chicago Press.
  - Rodgers, S., Cash, J., Siddiq, M. and Ryser, E. (2004). A Comparison of Different Chemical Sanitizers for Inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in Solution and on Apples, Lettuce, Strawberries, and Cantaloupe. *Journal of Food Protection*, 67(4), pp.721-731.
  - Rost, T. and Weier, T. (1979). *Botany*. New York: Wiley.
  - Rubin, M. (2001). The history of ozone. The Schönbein period, 1839-1868. *Bulletin for the History of Chemistry - Journal*, 26, pp.40-56.
  - Salvador, A., Abad, I., Arnal, L. and Martínez-Jávega, J. (2006). Effect of Ozone on Postharvest Quality of Persimmon. *Journal of Food Science*, 71(6), pp.S443-S446.
  - Sarig, P., Zahavi, T., Zutkhi, Y., Yannai, S., Lisker, N. and Ben-Arie, R. (1996). Ozone for control of post-harvest decay of table grapes caused by *Rhizopus stolonifer*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 48(6), pp.403-415.
  - Sarig, P., Zutkhi, Y., Monjauze, A., Lisker, N. and Ben-Arie, R. (1997). Phytoalexin elicitation in grape berries and their susceptibility to *Rhizopus stolonifer*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 50(5), pp.337-347.



- Schlegel, R. (2003). *Encyclopedic dictionary of plant breeding and related subjects*. New York: The Food Products Press.
- Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J. and van Dijck, P. (2002). On the safety of *Aspergillus niger* - a review. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 59(4-5), pp.426-435.
- Shimizu, Y., Makinott, S., Sato, J. and Iwamoto, S. (1982). Preventing rot of 'Kyoho' grapes in cold storage with ozone. Research Bulletin of the Aichi-ken. *Agricultural Research Center*, 14, pp.225-238.
- Shoji, J., Arioka, M. and Kitamoto, K. (2006). Possible Involvement of Pleiomorphic Vacuolar Networks in Nutrient Recycling in Filamentous Fungi. *Autophagy*, 2(3), pp.226-227.
- Silar, P. (2016). *Protistes Eucaryotes*.
- Simpson, D. (1987). *Cassell's Latin-English, English-Latin dictionary*. London: Cassell.
- Singh, N., Singh, R., Bhunia, A. and Stroshine, R. (2002). Efficacy of Chlorine Dioxide, Ozone, and Thyme Essential Oil or a Sequential Washing in Killing *Escherichia coli* O157:H7 on Lettuce and Baby Carrots. *LWT - Food Science and Technology*, 35(8), pp.720-729.
- Sivapalasingam, S., Friedman, C., Cohen, L. and Tauxe, R. (2004). Fresh Produce: A Growing Cause of Outbreaks of Foodborne Illness in the United States, 1973 through 1997. *Journal of Food Protection*, 67(10), pp.2342-2353.
- Sjöström, E. (1993). *Wood chemistry*. San Diego: Academic Press.
- Skog, L. and Chu, C. (2001). Effect of ozone on qualities of fruits and vegetables in cold storage. *Canadian Journal of Plant Science*, 81(4), pp.773-778.
- Smock, R. and Watson, R. (1941). Ozone in apples storage. *Refrigerating engineering*, 42, pp.97-101.
- Sobsey, M. (1989). Inactivation of Health-Related Microorganisms in Water by Disinfection Processes. *Water Science & Technology*, 21(3), pp.179-195.
- Song, J., Fan, L., Forney, C., Jordan, M., Hildebrand, P., Kalt, W. and Ryan, D. (2003). Effect of ozone treatment and controlled atmosphere storage on quality and phytochemicals in highbush blueberries. *Acta Horticulturae*, (600), pp.417-423.
- Spalding, D. (1968). Effects of ozone atmospheres on spoilage of fruits and vegetables after harvest. *Marketing Research Report No.801*, pp.1-9.
- Spiegel-Roy, P. and Goldschmidt, E. (2008). *The biology of citrus*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Spotts, R. (1992). Effect of Ozonated Water on Postharvest Pathogens of Pear in Laboratory and Packinghouse Tests. *Plant Disease*, 76(3), p.256.
- Stoker, G. (1916). The surgical uses of ozone. *The Lancet*, 188(4860), p.712.
- Štolfa, I., Marić, S., Marić, S., Stanisavljević, A., Vuković, R., Špoljarić, D. and Varga, M. (2014). The impact of environmentally friendly postharvest treatments on the antioxidant activity of strawberry fruits during storage. *Poljoprivreda (Osijek)*, 20(2), pp.23-28.
- Streng, A. (1961). Tables of Ozone Properties. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 6(3), pp.431-436.
- Su, Y. and Chen, H. (2001). Enzone Bleaching Sequence and Color Reversion of Ozone-Bleached Pulp. *Taiwan Journal of Forest Science*, 16(2), pp.93-102.
- Suslow, T. (2004). *Ozone applications for postharvest disinfection of edible horticultural crops*. *Agriculture and Natural Resources*. [ebook] CA, USA: University of California, pp.1-7. Available at: <http://anrcatalog.ucanr.edu/pdf/8133.pdf> [Accessed 27 May 2018].

- Toti, M., Carboni, C. and Botondi, R. (2017). Postharvest gaseous ozone treatment enhances quality parameters and delays softening in cantaloupe melon during storage at 6 °C. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(2), pp.487-494.
- Tran, T., Aiamlar, S., Srilaong, V., Jitareerat, P., Wongs-Aree, C. and Uthairatanakij, A. (2015). Ozone fumigation to delay ripening of mango 'nam dok mai No. 4'. *Acta Horticulturae*, (1088), pp.103-106.
- Tuffi, R., Lovino, R., Canese, S., Cafiero, L. and Vitali, F. (2012). Effects of exposure to gaseous Ozone and Negative Air Ions on control of epiphytic flora and the development of *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* during cold storage of strawberries and tomatoes. *Italian Journal of Food Science*, 24(2), pp.102-114.
- Tyrrell, S. (1995). Inactivation of bacterial and viral indicators in secondary sewage effluents, using chlorine and ozone. *Water Research*, 29(11), pp.2483-2490.
- Tzortzakis, N., Borland, A., Singleton, I. and Barnes, J. (2007). Impact of atmospheric ozone-enrichment on quality-related attributes of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 45(3), pp.317-325.
- Tzortzakis, N., Borland, A., Singleton, I. and Barnes, J. (2007). Impact of atmospheric ozone-enrichment on quality-related attributes of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 45(3), pp.317-325.
- Tzortzakis, N., Singleton, I. and Barnes, J. (2007). Deployment of low-level ozone-enrichment for the preservation of chilled fresh produce. *Postharvest Biology and Technology*, 43(2), pp.261-270.
- Tzortzakis, N., Singleton, I. and Barnes, J. (2008). Impact of low-level atmospheric ozone-enrichment on black spot and anthracnose rot of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 47(1), pp.1-9.
- Tzortzakis, N., Taybi, T., Antony, E., Singleton, I., Borland, A. and Barnes, J. (2013). Profiling shifts in protein complement in tomato fruit induced by atmospheric ozone-enrichment and/or wound-inoculation with *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, 78, pp.67-75.
- Tzortzakis, N., Taybi, T., Roberts, R., Singleton, I., Borland, A. and Barnes, J. (2011). Low-level atmospheric ozone exposure induces protection against *Botrytis cinerea* with down-regulation of ethylene-, jasmonate- and pathogenesis-related genes in tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 61(2-3), pp.152-159.
- Vaupotic, T., Veranic, P., Jenoe, P. and Plemenitas, A. (2008). Mitochondrial mediation of environmental osmolytes discrimination during osmoadaptation in the extremely halotolerant black yeast *Hortaea werneckii*. *Fungal Genetics and Biology*, 45(6), pp.994-1007.
- Venta, M., Broche, S., Torres, I., Pérez, M., Lorenzo, E., Rodriguez, Y. and Cepero, S. (2010). Ozone Application for Postharvest Disinfection of Tomatoes. *Ozone: Science & Engineering*, 32(5), pp.361-371.
- von Gunten, U. (2003). Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation. *Water Research*, 37(7), pp.1443-1467.
- Webster, J. and Weber, R. (2007). *Introduction to fungi*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Whangchai, K., Saengnil, K. and Uthaibutra, J. (2005). Control of postharvest diseases in longan fruit by ozone. *Acta Horticulturae*, (682), pp.2121-2126.
- Whangchai, K., Saengnil, K. and Uthaibutra, J. (2006). Effect of ozone in combination with some organic acids on the control of postharvest decay and pericarp browning of longan fruit. *Crop Protection*, 25(8), pp.821-825.

- Whangchai, K., Saengnil, K., Singkamanee, C. and Uthaibutra, J. (2010). Effect of electrolyzed oxidizing water and continuous ozone exposure on the control of *Penicillium digitatum* on tangerine cv. 'Sai Nam Pung' during storage. *Crop Protection*, 29(4), pp.386-389.
- Whiteside, C. and Hassan, H. (1987). Induction and inactivation of catalase and superoxide dismutase of *Escherichia coli* by ozone. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 257(2), pp.464-471.
- Wickramanayake, G., Rubin, A. and Sproul, O. (1984). Inactivation of *Naegleria* and *Giardia* Cysts in Water. *Water Pollution Control Federation*, 56(8), pp.983-988.
- Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P. and Van Kan, J. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), pp.561-580.
- Wilson, C., Wisniewski, M., Biles, C., McLaughlin, R., Chalutz, E. and Droby, S. (1991). Biological control of post-harvest diseases of fruits and vegetables: alternatives to synthetic fungicides. *Crop Protection*, 10(3), pp.172-177.
- Xu, L. (1999). Use of ozone to improve the safety of fresh fruits and vegetables. *Food technology*, 53, pp.58-63.
- Yeoh, W., Ali, A. and Forney, C. (2014). Effects of ozone on major antioxidants and microbial populations of fresh-cut papaya. *Postharvest Biology and Technology*, 89, pp.56-58.
- Yuk, H., Yoo, M., Yoon, J., Marshall, D. and Oh, D. (2007). Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on enoki mushroom. *Food Control*, 18(5), pp.548-553.
- Yuk, H., Yoo, M., Yoon, J., Moon, K., Marshall, D. and Oh, D. (2006). Effect of Combined Ozone and Organic Acid Treatment for Control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on Lettuce. *Journal of Food Science*, 71(3), pp.M83-M87.
- Zabriskie, T. and Jackson, M. (2000). Lysine biosynthesis and metabolism in fungi. *Natural Product Reports*, 17(1), pp.85-97.
- Zhang, X., Zhang, Z., Wang, L., Zhang, Z., Li, J. and Zhao, C. (2011). Impact of ozone on quality of strawberry during cold storage. *Frontiers of Agriculture in China*, 5(3), pp.356-360.
- Zhao, Z., Xu, G., Han, Z., Li, Q., Chen, Y. and Li, D. (2013). Effect of Ozone on the Antioxidant Capacity of "Qiushui" Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Qiushui) during Postharvest Storage. *Journal of Food Quality*, 36(3), pp.190-197.