



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Σ. ΛΕΒΕΙΔΙΩΤΟΥ - ΣΤΕΦΑΝΟΥ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ
ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΗΝ
ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΟΡΟΤΥΠΟΥ
ESCHERICHIA COLI 0157:H7
ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

ΙΩΑΝΝΑ Α. ΑΠΟΣΤΟΛΟΥ
ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2004



ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000336966



Αρ. εισ.:.....11062/.....2003..





ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟΣ - ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΕΠΙΚ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ Σ. ΛΕΒΕΙΔΙΩΤΟΥ - ΣΤΕΦΑΝΟΥ

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΗΣ
ΗΛΕΚΤΡΟΜΑΓΝΗΤΙΚΗΣ ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑΣ ΣΤΗΝ
ΚΑΤΑΣΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΠΑΘΟΓΟΝΟΥ ΟΡΟΤΥΠΟΥ
ESCHERICHIA COLI 0157:H7
ΣΕ ΤΡΟΦΙΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

ΙΩΑΝΝΑ Α. ΑΠΟΣΤΟΛΟΥ
ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2004



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».



ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΙΤΗΣΕΩΣ: 11/6/1999

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 390α /12/10/1999

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπουσα:

Χρυσάνθη Παπαδοπούλου

Επ. Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

Μέλη:

Δημήτριος Στεφάνου

Αναπλ Καθηγητής Παθολογικής Ανατομίας

Σταματίνα Λεβειδιώτου-Στεφάνου

Επ Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

ΑΝΑΣΥΣΤΑΣΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 395α /21/12/1999

ΜΕΛΗ ΝΕΑΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Επιβλέπουσα:

Χρυσάνθη Παπαδοπούλου

Επ. Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

Μέλη:

Κωνσταντίνος Ιωαννίδης

Επ. Καθηγητής Πυρηνικής Φυσικής,

Σχολής Θετικών Επιστημών

Σταματίνα Λεβειδιώτου-Στεφάνου

Επ Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΘΕΜΑΤΟΣ: 10/2/2000

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΚΑΤΑΘΕΣΕΩΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: 24/5/2004

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ: Καθηγητής Επαμεινώνδας Τσιάνος

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Νίκη Αγνάντη

Καθηγητής Παθολογικής Ανατομίας

Μωσής Ελισάφ

Καθηγητής Παθολογίας

Αγαθοκλής Τσατσούλης

Καθηγητής Παθολογίας

Χρυσάνθη Παπαδοπούλου

Επ. Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

Κωνσταντίνος Ιωαννίδης

Επ. Καθηγητής Πυρηνικής Φυσικής,

Σχολής Θετικών Επιστημών

Σταματίνα Λεβειδιώτου-Στεφάνου

Επ. Καθηγήτρια Μικροβιολογίας

Γεωργία Βρυώνη

Λέκτορας Μικροβιολογίας

Η διδακτορική διατριβή έγινε αποδεκτή με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ»

Η Γραμματέας της Σχολής

Ευαγγελία Τσαγγαλά



Στον άνδρα μου, Γιώργο
και στους γονείς μου,
Ανδρέα και Χαρίκλεια



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Καθημερινά, χιλιάδες εστιατόρια (ταχείας και συμβατικής εστίασης) και νοικοκυριά χρησιμοποιούν το φούρνο μικροκυμάτων για την αναθέρμανση προμαγειρευμένων γευμάτων, για το μαγείρεμα νωπών και για την απόψυξη κατεψυγμένων τροφίμων. Ο σύγχρονος τρόπος ζωής επιβάλλει ταχύτητα σε όλους τους τομείς, ακόμη και στην προετοιμασία του φαγητού. Η χρήση της ενέργειας των μικροκυμάτων με σκοπό την παραγωγή θερμότητας έχει βρει εφαρμογή, εκτός από την ταχεία παρασκευή γευμάτων και σε άλλους τομείς επεξεργασίας των τροφίμων, όπως στην παστερίωση, την αποστείρωση, την απολύμανση, την ξήρανση, την παράταση της ζωής ενός τροφίμου (shelf-life increase), την αδρανοποίηση ενζύμων που προκαλούν αλλοιώσεις στα τρόφιμα, καθώς και στην καταστροφή των εντόμων σε διάφορα τρόφιμα (π.χ. δημητριακά, όσπρια).

Τα μικροκύματα είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με συχνότητα, η οποία κυμαίνεται μεταξύ 300 MHz και 300 GHz, όμως οι συχνότητες, που χρησιμοποιούνται στην επεξεργασία τροφίμων είναι αυτές των 915 MHz και 2450 MHz. Παρόλο που η χρήση των μικροκυμάτων στην θερμική επεξεργασία των τροφίμων έχει συμπληρώσει ήδη σαράντα χρόνια, η μικροβιολογική ασφάλεια των γευμάτων που θερμαίνονται σε φούρνους μικροκυμάτων αποτελεί ακόμη πεδίο έρευνας και διχογνωμίας. Υπάρχουν μελέτες, οι οποίες αναφέρουν ότι η θερμική δράση των μικροκυμάτων δεν είναι αρκετή ώστε να φονεύσει τους παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι είναι δυνατόν να έχουν επιμολύνει τα τρόφιμα. Οι μελέτες αυτές αφορούν συγκεκριμένα είδη μικροοργανισμών όπως *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Toxoplasma gondii* και *Anisakis anisakis*, τα οποία βρέθηκε ότι



επιβιώνουν της θέρμανσης σε φούρνους μικροκυμάτων. Όμως στην σχετική βιβλιογραφία δεν αναφέρονται μελέτες σχετικά με την επιβίωση του βεροτοξινογόνου ορότυπου *E. coli* O157:H7.

Σκοπός της πειραματικής αυτής εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην επιβίωση της *E. coli* O157:H7, ενός αναδυόμενου τροφιογενούς παθογόνου, για το οποίο δεν υπάρχουν σχετικές μελέτες. Ειδικότερα ελέγχθηκε η επίδραση των μικροκυμάτων στην επιβίωση της *E. coli* O157:H7, σε καθαρό καλλιέργημα, σε γάλα, σε μπιφτέκια από μοσχαρίσιο κρέμα, σε μερίδες κοτόπουλου και σε ολόκληρα κοτόπουλα, ενώ έγινε και σύγκριση της επιβίωσης της μετά από θέρμανση με μικροκύματα και μετά από συμβατική θέρμανση (βρασμός με υγραέριο).

Η πειραματική αυτή μελέτη πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, υπό την επίβλεψη της Επίκουρου Καθηγήτριας κ. Χρυσάνθης Παπαδοπούλου.

Επιθυμώ να εκφράσω τις ευχαριστίες, αλλά και την ευγνωμοσύνη μου, στην επιβλέπουσα Επίκουρο Καθηγήτρια κ. Χρυσάνθη Παπαδοπούλου, τόσο για την ανάθεση της συγκεκριμένης πειραματικής μελέτης, όσο και για τις σημαντικές υποδείξεις της, την πολύτιμη καθοδήγηση και την αμέριστη βοήθειά της σε όλα τα στάδια εκπόνησης της παρούσας διατριβής.

Εκφράζω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στα μέλη της τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, στον Επίκουρο Καθηγητή Πυρηνικής Φυσικής της Σχολής Θετικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Κωνσταντίνο Ιωαννίδη, για την πολύτιμη συμβολή του στην πραγματοποίηση των πειραμάτων και στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων και στην Επίκουρο Καθηγήτρια Μικροβιολογίας κ. Σταματίνα Λεβειδιώτου-Στεφάνου για το αμέριστο ενδιαφέρον



που επέδειξε κατά την διάρκεια εκτέλεσης της διατριβής, αλλά και για την ουσιαστική συμβολή της στη συγγραφή του τελικού κειμένου.

Επίσης, εκφράζω τις θερμές ευχαριστίες μου στα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής, Καθηγητές κ. Νίκη Αγνάντη, κ. Μωυσή Ελισάφ και κ. Αγαθοκλή Τσατσούλη και τη Λέκτορα κ. Γεωργία Βρυώνη για το ενδιαφέρον τους, την προθυμία τους να συμμετάσχουν στην 7μελή εξεταστική επιτροπή και τις πολύτιμες υποδείξεις τους.

Επίσης, εκφράζω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στο Ίδρυμα Γεωργίου Σταύρου, για τη χορήγηση υποτροφίας σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της διατριβής, καθώς και στην Επιτροπή Ερευνών του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων για την χρηματοδότηση της παρούσας έρευνας μέσω εγκριθέντος Προγράμματος του Ειδικού Λογαριασμού της ΕΕΠ (Πρόγραμμα «Σωτήρης Δάκαρης»).

Τέλος εκφράζω τις ευχαριστίες μου σε όλο το επιστημονικό και τεχνικό προσωπικό του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής και, ιδιαίτερα, στην Τεχνολόγο Ιατρικών Εργαστηρίων κ. Οικονόμου Βασιλική για τη συμβολή της στην παρασκευή των θρεπτικών υλικών.



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	19
1. ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ	21
1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	23
1.2. ΑΡΧΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ	26
1.3. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΙΔΡΟΥΝ ΣΤΗ ΘΕΡΜΑΝΣΗ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ	28
1.3.1. Διηλεκτρικές ιδιότητες των τροφίμων	28
1.3.2. Περιεκτικότητα ενός τροφίμου σε υγρασία και άλατα	28
1.3.3. Φυσικές ιδιότητες των τροφίμων	29
α) Μάζα	29
β) Πυκνότητα	29
γ) Σχήμα	30
δ) Ειδική θερμότητα	30
1.3.4. Θερμοκρασία	30
1.3.5. Χαρακτηριστικά συσκευής	31
1.3.6. Συχνότητα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας	31
1.4. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΒΙΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΕΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ	32
1.5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ	41
1.5.1. Θέρμανση	42
1.5.2. Αφυδάτωση	43
1.5.3. Μαγείρεμα (σε βιομηχανική κλίμακα)	43
1.5.4. Συντήρηση	44
1.5.5. Χρήσεις στην αρτοζαχαροπλαστική	44



1.5.6. Παστερίωση και αποστείρωση	44
1.5.7. Οικιακή χρήση	45
1.6. ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ	46
2. <i>ESCHERICHIA COLI</i> O157:H7	49
2.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	51
2.2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ <i>E. COLI</i> O157:H7	54
2.3. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ-ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ	55
2.4. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ	56
• Τροφιμογενής-Υδατογενής μετάδοση	56
• Μετάδοση από άτομο σε άτομο	58
• Μετάδοση στον άνθρωπο από ζώα-φορείς	58
2.5. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ-ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ	59
2.6. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΣ ΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ <i>E. COLI</i> O157: H7 ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ	60
2.6.1. Ασυμπτωματική μόλυνση ή μη αιμορραγική διάρροια	61
2.6.2. Αιμορραγική κολίτιδα	61
2.6.3. Αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο	61
2.6.4. Θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα	62
2.7. ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΙΣ ΤΗΣ <i>E. COLI</i> O157:H7 ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	62
2.8. <i>E. COLI</i> O157:H7 ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΑ	64
2.8.1. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ <i>E. COLI</i> O157:H7 ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ	64
α) Απομόνωση της <i>E. coli</i> O157:H7 με τη μέθοδο της κλασικής καλλιέργειας	64
β) Απομόνωση της <i>E. coli</i> O157:H7 με τη μέθοδο του	



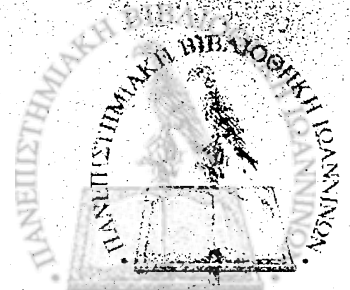
ανοσομαγνητικού διαχωρισμού	65
2.8.2. E. COLI O157:H7 ΚΑΙ ΜΕΤΡΑ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΣΤΗ	
ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ	67
α) Θερμοκρασία	67
β) pH	68
γ) Τροποποιημένη ατμόσφαιρα	69
δ) Οξέα-Συντηρητικά	69
ε) Χλωριούχο νάτριο	69
στ) Ζύμωση- Ξήρανση	70
ζ) Ακτινοβολία	70
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	71
3. ΣΚΟΠΟΣ	73
4. ΥΛΙΚΟ	74
4.1. Φούρνος μικροκυμάτων	74
4.2. Μικροβιακό στέλεχος	74
4.3. Θερμόμετρα	75
4.4. Ζυγός	75
4.5. Νωπά προϊόντα	75
4.6. Συσκευές- Υάλινα- Αναλώσιμα	76
4.7. Θρεπτικά υλικά	77
4.7.1 Ζωμοί	77
4.7.2 Στερεά υποστρώματα	78
5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	81
5.1. 1 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων και του βρασμού σε καθαρό καλλιέργημα <i>E. coli</i> O157:H7	



5.2. 2 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων και του βρασμού σε γάλα μολυσμένο με <i>E. coli</i> O157:H7	82
5.3. 3 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε μερίδες κοτόπουλου μολυσμένες με <i>E. coli</i> O157:H7	84
5.4. 4 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε κιμά από κρέας μόσχου μολυσμένο με <i>E. coli</i> O157:H7	86
5.5. 5 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε ολόκληρο κοτόπουλο, μικρού μεγέθους, μολυσμένο με <i>E. coli</i> O157:H7	88
6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	91
6.1. 1 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων και του βρασμού σε καθαρό καλλιέργημα <i>E. coli</i> O157:H7	91
6.2. 2 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων και του βρασμού σε γάλα μολυσμένο με <i>E. coli</i> O157:H7	100
6.3. 3 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε μερίδες κοτόπουλου μολυσμένες με <i>E. coli</i> O157:H7	106
6.4. 4 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε κιμά από κρέας μόσχου μολυσμένο με <i>E. coli</i> O157:H7	110
6.5. 5 ^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε ολόκληρο κοτόπουλο, μικρού μεγέθους, μολυσμένο με <i>E. coli</i> O157:H7	114
7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	115
8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	135
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	139
SUMMARY	143
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	147



ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ



1. ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ

Faint, illegible text in the upper section of the page, possibly describing the scope or objectives of the document.

1. ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ

Faint, illegible text in the lower section of the page, continuing the document's content.



1.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Ο φούρνος μικροκυμάτων πρωτοεμφανίστηκε το 1946, όταν οι εταιρίες General Electric και Raytheon παρουσίασαν τον πρόδρομο των σημερινών οικιακών συσκευών (Decageau, 1985). Η γέννηση της ιδέας χρησιμοποίησης των μικροκυμάτων στην επεξεργασία των τροφίμων τοποθετείται στα μέσα της δεκαετίας του '40 και ουσιαστικά υπήρξε αποτέλεσμα της ανάπτυξης της τεχνολογίας των radar κατά τη διάρκεια του 2^{ου} Παγκόσμιου Πολέμου. Ο Percy Spencer, μηχανικός τότε της Raytheon, συνέδεσε το φαινόμενο της παραγωγής θερμότητας από την κεραία του radar με τη δυνατότητα εφαρμογής του στην ταχεία θέρμανση τροφίμων. Η μαζική παραγωγή των συσκευών μικροκυμάτων για βιομηχανική και οικιακή χρήση άρχισε το 1955 από την αμερικάνικη εταιρία Tarron.

Τα μικροκύματα είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με συχνότητα, η οποία κυμαίνεται μεταξύ 300 MHz και 300 GHz και μία από τις πιο κοινές εφαρμογές τους αποτελεί ο φούρνος μικροκυμάτων οικιακής ή βιομηχανικής χρήσης. Οι συχνότητες, που χρησιμοποιούνται σε αυτήν την εφαρμογή είναι αυτές των 915 MHz και 2450 MHz. Σήμερα, η χρήση των φούρνων μικροκυμάτων στην επεξεργασία των τροφίμων επεκτείνεται σε πάρα πολλούς τομείς. Εκτός από την οικιακή χρήση, για απόψυξη κατεψυγμένων τροφίμων, αναθέρμανση και μαγείρεμα γευμάτων, οι χρήσεις των μικροκυμάτων στη βιομηχανία τροφίμων, περιλαμβάνουν την παστερίωση, την αφυδάτωση προϊόντων (π.χ. ζυμαρικών, λαχανικών, snacks), τη συμπύκνωση



υδαρών τροφίμων (π.χ. χυμών, σιροπιών, αλκοολούχων ποτών), τη λυοφιλοποίηση, την αδρανοποίηση ενζύμων, που προκαλούν αλλοιώσεις (Schiffmann, 1992), καθώς και στην καταστροφή των εντόμων σε διάφορα τρόφιμα όπως δημητριακά, όσπρια κ.ά. (Giese, 1992, Datta και Davidson, 2001).

Είναι φανερό, λοιπόν, ότι η χρήση των μικροκυμάτων στην θερμική επεξεργασία των τροφίμων είναι ευρέως διαδεδομένη, διότι είναι πολλά τα πλεονεκτήματα τους σε σύγκριση με τις κλασικές μεθόδους θέρμανσης των τροφίμων. Η εφαρμογή τους αποφέρει εξοικονόμηση ενέργειας, καθώς θερμαίνεται μόνο το τρόφιμο και όχι ο χώρος που το περιβάλλει, ταχύτητα, ακριβή έλεγχο της διαδικασίας και μικρότερους χρόνους διάρκειας της διαδικασίας θέρμανσης (Decareau, 1985). Εξάλλου η ταχύτητα αποτελεί το πρωταρχικό πλεονέκτημα των φούρνων μικροκυμάτων. Καθώς η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία εισχωρεί μέσα στο τρόφιμο και δεν θερμαίνει απλώς την επιφάνειά του, η θέρμανση επιτυγχάνεται πολύ πιο γρήγορα. Η ταχεία αυτή θέρμανση αποφέρει ένα ποιοτικότερο τελικό προϊόν σε ό,τι αφορά τη γεύση, την υφή και τη θρεπτική του αξία. Όμως η χρήση των φούρνων μικροκυμάτων έχει και ορισμένα μειονεκτήματα που προβληματίζουν τους ερευνητές. Παρόλο που η χρήση των μικροκυμάτων στην θερμική επεξεργασία των τροφίμων έχει συμπληρώσει ήδη σαράντα χρόνια, η μικροβιολογική ασφάλεια των γευμάτων που θερμαίνονται σε φούρνους μικροκυμάτων αποτελεί ακόμη πεδίο έρευνας και διχογνωμίας. Υπάρχουν αρκετές μελέτες, οι οποίες αναφέρουν ότι η θερμική δράση των μικροκυμάτων δεν είναι αρκετή για να φονεύσει τους παθογόνους μικροοργανισμούς, σε τρόφιμα που είναι πειραματικά ή φυσικά μολυσμένα και τα οποία μαγειρεύονται ή αναθερμαίνονται σε φούρνους μικροκυμάτων (Heddleson και Doores, 1994, Datta και Davidson, 2001). Οι μικροοργανισμοί, οι οποίοι δοκιμάστηκαν πειραματικά (in vitro) ή απομονώθηκαν από τροφιμογενή περιστατικά



ή επιδημίες, που αποδόθηκαν σε κατανάλωση μικροκυματισμένων γευμάτων ανήκουν στα είδη *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Clostridium* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia coli* (Papadopoulou et al, 1995, Heddleson et al, 1996) και στα παράσιτα *Toxoplasma gondii* (Lunden και Uggl, 1992) και *Anisakis simplex* (Adams et al, 1999).

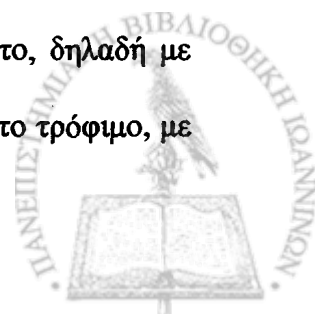


1.2. ΑΡΧΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ

Τα μικροκύματα είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με μήκος κύματος ανάμεσα σε αυτό των ραδιοκυμάτων και της υπέρυθρης ακτινοβολίας και η συχνότητά τους κυμαίνεται από 300 MHz έως 300 GHz (Metaxas και Metedith, 1988, Metaxas, 1996, Roussy και Pearce, 1995, Datta και Davidson, 2001). Διαδίδονται σε ευθεία γραμμή, αντανακλώνται από τα μέταλλα, διαπερνούν τον αέρα, ενώ απορροφώνται από τα συστατικά των τροφίμων και από το νερό. Όταν αντανακλώνται δεν αυξάνουν τη θερμοκρασία, ενώ όταν απορροφώνται η θερμοκρασία ενός μέσου αυξάνεται στο μέτρο του βαθμού απορρόφησής τους (Γεωργάκης, 1986).

Πηγή παραγωγής των μικροκυμάτων είναι η λυχνία Μάγνητρον (Magnetron), η οποία είναι μια καθοδική λυχνία, που μετατρέπει την ηλεκτρική ενέργεια σε ηλεκτρομαγνητικά κύματα. Οι συχνότητες, που συνηθέστερα χρησιμοποιούνται είναι αυτές των 915 και 2450 MHz, ενώ τα μήκη κύματος που συνήθως χρησιμοποιούνται είναι μεταξύ $0,25 \times 10^9$ Å και $7,5 \times 10^9$ Å αντίστοιχα (Γεωργάκης, 1986). Στη βιομηχανία τροφίμων χρησιμοποιούνται και οι δύο παραπάνω συχνότητες, ενώ στους οικιακούς φούρνους μικροκυμάτων χρησιμοποιείται η συχνότητα των 2450 MHz.

Μέσα στη λυχνία Magnetron δημιουργείται ένα εναλλασσόμενο ηλεκτρομαγνητικό πεδίο, του οποίου η διεύθυνση αντιστρέφεται, ανάλογα με τη συχνότητά του, από 915 έως 2450 εκατομμύρια φορές το δευτερόλεπτο (το κοινό εναλλασσόμενο ρεύμα αλλάζει κατεύθυνση 50 φορές το δευτερόλεπτο, δηλαδή με συχνότητα 50 Hz). Στο εναλλασσόμενο αυτό το πεδίο παρεμβάλλεται το τρόφιμο, με



αποτέλεσμα τα μοριακά δίπολα και τα ιόντα που περιέχει (μόρια του νερού, ιόντα υδατοδιαλυτών αλάτων, π.χ. κοινό αλάτι) να υποχρεώνονται να ακολουθήσουν τις συνεχείς αλλαγές διεύθυνσης του ηλεκτρικού πεδίου. Καθώς ταλαντώνονται, η κινητική τους ενέργεια μετατρέπεται σε θερμότητα λόγω της μοριακής τριβής, απελευθερώνοντας θερμότητα στο σύνολο της μάζας του τροφίμου. Η παραπάνω διαδικασία θέρμανσης είναι τουλάχιστον 10-20 φορές ταχύτερη από τη συμβατική μέθοδο (Van Zante, 1973). Επιπλέον, αυξάνει τη θερμοκρασία σε όλη τη μάζα του τροφίμου καθώς τα κύματα το διαπερνούν, σε αντίθεση με τη συμβατική μέθοδο, στην οποία το τρόφιμο θερμαίνεται προοδευτικά από την εξωτερική επιφάνεια προς το εσωτερικό του. Το τρόφιμο περιβάλλεται από αέρα, ο οποίος λειτουργεί αφενός ως μονωτής θερμότητας και αφετέρου ως μέσο απομάκρυνσης των σχηματιζόμενων υδρατμών (Schiffmann, 1992).

Τέλος πρέπει να επισημανθεί, ότι η διαπερατότητα των διαφόρων περιεκτών τροφίμων από τα μικροκύματα δεν είναι η ίδια και για αυτό το λόγο ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες: σε διαφανείς περιέκτες (από κεραμικό, γυαλί, χαρτί), ενισχυτικούς περιέκτες (από ορισμένα συνθετικά υλικά) και αδιαφανείς περιέκτες (από μέταλλο, αλουμινόχαρτο), (Decareau, 1992). Ενδείκνυται η χρήση των δύο πρώτων κατηγοριών υλικών. Οι αδιαφανείς περιέκτες πρέπει να αποφεύγονται, επειδή σκιάζουν ορισμένες περιοχές του τροφίμου και αποτελούν κίνδυνο για τη λυχνία Magnetron, λόγω των αντανάκλασεων. Η χρήση του αλουμινόχαρτου ενδείκνυται για την κάλυψη μεγάλων προεξοχών ορισμένων τεμαχίων τροφίμων, τα οποία κινδυνεύουν να υπερθερμανθούν και να αφυδατωθούν κατά την επεξεργασία τους (Decareau, 1992).



1.3. ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΠΟΥ ΕΠΙΔΡΟΥΝ ΣΤΗ ΘΕΡΜΑΝΣΗ ΤΩΝ

ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΜΕ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ

1.3.1. Διηλεκτρικές ιδιότητες των τροφίμων

Οι σημαντικότερες παράμετροι που περιγράφουν τις διηλεκτρικές ιδιότητες ενός τροφίμου είναι η διηλεκτρική σταθερά και ο παράγοντας απώλειας (loss factor). Η πρώτη σχετίζεται με την ικανότητα του τροφίμου να συσσωρεύει ηλεκτρική ενέργεια, ενώ η δεύτερη με την ικανότητα να μετατρέπει την ενέργεια αυτή σε θερμότητα (Tinga, 1970). Τρόφιμα με μεγάλο παράγοντα απώλειας θερμαίνονται πολύ γρήγορα με μικροκύματα. Επιπλέον, ο παράγοντας απώλειας μεταβάλλεται με τη συχνότητα της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, αλλά και τη θερμοκρασία, το ποσοστό υγρασίας και το ποσοστό χλωριούχου νατρίου των τροφίμων (Tinga, 1970).

1.3.2. Περιεκτικότητα των τροφίμων σε υγρασία και άλατα

Η περιεκτικότητα των τροφίμων σε νερό (υγρασία) επηρεάζει τόσο τον τρόπο, όσο και την ταχύτητα θέρμανσης τους με μικροκύματα. Η υγρασία των περισσότερων τροφίμων κυμαίνεται μεταξύ 50 και 90% (Ohlsson, 1983). Αυξημένα ποσοστά υγρασίας συντελούν σε μεγαλύτερη απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας από το τρόφιμο, αλλά μειώνουν το βαθμό διείσδυσης της σε αυτό. Γενικά, όταν το ποσοστό υγρασίας είναι μεγάλο, το προϊόν θερμαίνεται αποτελεσματικά εξαιτίας του μεγαλύτερου παράγοντα απώλειας (Schiffmann, 1986). Όμως, και τρόφιμα με λιγότερη υγρασία μπορούν να θερμανθούν εξίσου καλά, εξαιτίας της μικρότερης ειδικής θερμότητας, και του γεγονότος ότι όσο η υγρασία



μειώνεται κατά τη θέρμανση, τόσο ο βαθμός διείσδυσης των μικροκυμάτων αυξάνεται (Mudgett, 1982).

Όσον αφορά την περιεκτικότητα των τροφίμων σε άλατα, όσο αυτή αυξάνεται, τόσο μικρότερη είναι η διείσδυση των μικροκυμάτων σε αυτό (Swami και Mudgett, 1981).

1.3.3. Φυσικές ιδιότητες των τροφίμων

α) Μάζα

Το μέγεθος της μάζας ενός τροφίμου επιδρά άμεσα στον τρόπο και τον χρόνο θέρμανσης του. Έχει βρεθεί ότι όσο μεγαλύτερη είναι η μάζα του τροφίμου, τόσο περισσότερη ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία απορροφάται. Ωστόσο, ογκωδέστερα τρόφιμα απαιτούν περισσότερο χρόνο να θερμανθούν σε φούρνο μικροκυμάτων, επειδή είναι μεγαλύτερος ο χρόνος εξισορρόπησης της διαφοράς θερμοκρασίας μέσα στο τρόφιμο, λόγω αγωγής (Heddleson και Doores, 1994).

β) Πυκνότητα

Η αποτελεσματικότητα θέρμανσης ενός τροφίμου είναι ανάλογη της πυκνότητάς του, στο μέτρο που η διηλεκτρική σταθερά αυξάνεται γραμμικά με την πυκνότητα. Η παρουσία αέρα μέσα σε ένα τρόφιμο το καθιστά καλό μονωτή και επιπλέον, επιφέρει μείωση της διηλεκτρικής σταθεράς του (Schiffmann, 1990). Όσο μεγαλύτερος είναι ο βαθμός διείσδυσης των μικροκυμάτων στο τρόφιμο, τόσο μικρότερος είναι ο χρόνος ψησίματος. Τα παραπάνω έρχονται σε αντίθεση με ό,τι συμβαίνει στον κλασικό τρόπο ψησίματος, όπου η πυκνότητα είναι αντιστρόφως ανάλογη με το χρόνο μαγειρέματος.



γ) Σχήμα

Το σχήμα των τροφίμων επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τον τρόπο θέρμανσης σε φούρνο μικροκυμάτων. Τρόφιμα με γωνίες (π.χ. 90°) έχουν την τάση να παρουσιάζουν εστίες υπερθέρμανσης. Σε τρόφιμα όπου η διείσδυση των μικροκυμάτων είναι μειωμένη, το φαινόμενο αυτό είναι πιο έντονο (Zhang et al, 1999). Το φαινόμενο των τοπικών υπερθερμάνσεων είναι μοναδικό και συναντάται μόνο στη θερμική επεξεργασία με ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Σε ό,τι αφορά το ιδανικό σχήμα, που πρέπει να έχουν τα μικροκυματιζόμενα τρόφιμα, το στρογγυλό σχήμα θεωρείται το καλύτερο, ακολουθούμενο από το κυλινδρικό (Decareau, 1992).

δ) Ειδική θερμότητα

Η ειδική θερμότητα είναι το σύνολο της θερμότητας, που απορροφάται ή αποβάλλεται από τη μονάδα μάζας ενός τροφίμου, ώστε να επιτευχθεί αύξηση ή μείωση αντίστοιχα της θερμοκρασίας του κατά ένα βαθμό, χωρίς να μεταβληθεί η κατάσταση του. Η ειδική θερμότητα ενός συστατικού των τροφίμων επιτρέπει στο συστατικό αυτό να αυξήσει τη θερμοκρασία του, παρόλο που έχει μικρή εσωτερική ικανότητα να την αυξήσει, δηλαδή μικρό παράγοντα απώλειας (Heddleson και Doores, 1994). Το πιο κοινό παράδειγμα που μπορεί να αναφερθεί είναι αυτό των μαγειρικών ελαίων, τα οποία παρόλο που έχουν μικρές διηλεκτρικές απώλειες, θερμαίνονται καλά σε φούρνο μικροκυμάτων, επειδή χρειάζονται μικρά ποσά ενέργειας για να αυξήσουν τη θερμοκρασία τους.

1.3.4. Θερμοκρασία

Η θερμοκρασία, που επιτυγχάνεται μέσα σε ένα τρόφιμο μετά από ορισμένο χρόνο θέρμανσης με μικροκύματα, επηρεάζει άμεσα τις ηλεκτρικές ιδιότητες του.



Καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται, η εξάτμιση που επέρχεται μειώνει το ποσοστό υγρασίας του τροφίμου. Το φαινόμενο αυτό επιδρά στις ηλεκτρικές ιδιότητες του τροφίμου, δηλαδή στη διηλεκτρική σταθερά και στον παράγοντα απώλειας (Heddleson και Doores, 1994). Ο Ohlsson (1983) παρατήρησε ότι στο νερό, καθώς η θερμοκρασία αυξάνεται, η απορρόφηση της ενέργειας των μικροκυμάτων μειώνεται.

1.3.5. Χαρακτηριστικά συσκευής

Οι διαστάσεις, η γεωμετρία, η χωρητικότητα του φούρνου μικροκυμάτων επηρεάζουν σημαντικά το μέγεθος αλλά και την κατανομή της απορροφώμενης ενέργειας από ένα τρόφιμο (Zhang et al, 1999). Επιπλέον, η παρουσία ή απουσία διαφόρων εξαρτημάτων, όπως της περιστρεφόμενης βάσης (όπου τοποθετούνται τα τρόφιμα) ή των αναδευτήρων (στην περίπτωση που θερμαίνονται υγρά) επιδρά σημαντικά στην κατανομή της θερμοκρασίας. Τέλος, η ενέργεια που παράγεται από τη λυχνία Magnetron μεταβάλλεται, όταν η ίδια η λυχνία θερμαίνεται.

1.3.6. Συχνότητα ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας

Η συχνότητα, που χρησιμοποιείται στους οικιακούς φούρνους μικροκυμάτων, είναι αυτή των 2450 MHz, ενώ στη βιομηχανία τροφίμων συναντάται κι αυτή των 915 MHz. Γενικά, όσο μεγαλύτερο είναι το μήκος κύματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, δηλαδή όσο μικρότερη είναι η συχνότητά της, τόσο αυξάνεται ο βαθμός διείσδυσης της στα τρόφιμα. Επιπλέον η συχνότητα επηρεάζει τον παράγοντα απώλειας. Ειδικότερα, ο παράγοντας απώλειας των υγρών είναι μικρότερος σε μικρότερες συχνότητες. Όμως δεν συμβαίνει το ίδιο και με τα διαλύματα ιόντων, όπου ο παράγοντας απώλειας είναι μεγαλύτερος σε μικρότερες συχνότητες (Schiffmann, 1990). Τέλος, η συχνότητα επηρεάζει το βαθμό της επιφανειακής



θέρμανσης των τροφίμων, ο οποίος είναι μεγαλύτερος στα 2450 MHz παρά στα 915 MHz (Mudgett, 1989).

1.4. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΝΕΡΓΕΙΑ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ

Πολλοί ερευνητές έχουν ασχοληθεί με το μηχανισμό δράσης της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στους μικροοργανισμούς. Ουσιαστικά, έχουν προταθεί δύο θεωρίες μηχανισμού δράσης και η καθεμία έχει τους δικούς της υποστηρικτές.

Σύμφωνα με την μία θεωρία, η ενέργεια των μικροκυμάτων μειώνει το μικροβιακό φορτίο των τροφίμων αποκλειστικά και μόνον εξαιτίας της θερμότητας που αναπτύσσεται μέσα στο τρόφιμο. Η θερμότητα προκαλεί μη αναστρέψιμες βλάβες σε συστατικά των μικροβιακών κυττάρων, που είναι ζωτικά για το μεταβολισμό και την αναπαραγωγή τους, όπως ένζυμα, πρωτεΐνες και νουκλεϊνικά οξέα, με αποτέλεσμα οι βλάβες αυτές να επιφέρουν τον θάνατο των κυττάρων (Heddleson et al, 1994).

Σύμφωνα με δεύτερη θεωρία, υπάρχει μια μη-θερμική μικροβιοκτόνος δράση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Οι υποστηρικτές αυτής της άποψης έχουν αναπτύξει συνολικά τέσσερις θεωρίες, που στηρίζουν και επεξηγούν το φαινόμενο της μη θερμικής μικροβιοκτόνου δράσης ή «ψυχρής παστερίωσης»: την θεωρία της επιλεκτικής θερμότητας, την θεωρία της δημιουργίας πόρων στην κυτταρική μεμβράνη (electroporation), την θεωρία της ρήξης της κυτταρικής μεμβράνης και την θεωρία της σύζευξης του μαγνητικού πεδίου (Kozempel et al, 1998).



Η θεωρία της επιλεκτικής θερμότητας υποστηρίζει, ότι οι μικροοργανισμοί απορροφούν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία επιλεκτικά. Οι μικροοργανισμοί γίνονται θερμότεροι από το περιβάλλον υγρό, αποκτώντας μεγάλες θερμοκρασίες ικανές να τους φονεύσουν, ενώ το περιβάλλον υγρό παραμένει σε χαμηλότερη θερμοκρασία.

Οι θεωρίες της δημιουργίας πόρων και της ρήξης της κυτταρικής μεμβράνης είναι παρόμοιες. Σύμφωνα με την πρώτη, το ηλεκτρικό πεδίο προκαλεί τη δημιουργία πόρων στην εξασθενημένη μεμβράνη, με αποτέλεσμα την κυτταρική λύση (Kinosita και Tsong, 1977). Σύμφωνα με τη δεύτερη, η ηλεκτροκινητική δύναμη η οποία εφαρμόζεται στην κυτταρική μεμβράνη επιφέρει την καταστροφή της, με συνέπεια το θάνατο του μικροοργανισμού (Zimmermann et al, 1974).

Τέλος η θεωρία της σύζευξης του μαγνητικού πεδίου εξηγεί την κυτταρική λύση με τη σύζευξη του ηλεκτρομαγνητικού πεδίου με σημαντικά μόρια μέσα στο κύτταρο, όπως οι πρωτεΐνες ή το DNA (Mertens και Kopp, 1992, Pothakamury et al, 1993).

Οι ερευνητές, οι οποίοι έχουν ασχοληθεί με τη μη-θερμική μικροβιοκτόνο δράση της ενέργειας των μικροκυμάτων είναι αρκετοί (Culkin και Fung, 1975, Dreyfuss και Chipley, 1980, Khalil και Villota, 1986, Khalil και Villota, 1988, Sun et al, 1988). Συγκεκριμένα, οι Culkin και Fung (1975) πραγματοποίησαν μελέτη, κατά την οποία τοποθέτησαν μέσα σε κυλινδρικά δοχεία τοματόσουπα, σούπα λαχανικών και ζωμό βοδινού, τα οποία μόλυναν με *Escherichia coli* και *Salmonella typhimurium* και στη συνέχεια τα θέρμαναν σε φούρνο μικροκυμάτων συχνότητας 915 MHz. Χρησιμοποιώντας θερμοαισθητες ταινίες χάρτου, διαπίστωσαν ότι οι θερμοκρασίες ήταν μεγαλύτερες στο μέσο του κυλίνδρου που περιείχε τις σούπες και μικρότερες στην κορυφή, ενώ στον πυθμένα οι τιμές ήταν ενδιάμεσες. Επιπλέον, κάνοντας



δειγματοληψία σε διάφορα βάθη του κυλίνδρου, παρατήρησαν ότι το μεγαλύτερο ποσοστό των μικροοργανισμών, που επιβίωναν, απομονώνονταν στην κορυφή του κυλίνδρου, όπου η θερμοκρασία παρουσίαζε τις χαμηλότερες τιμές. Έτσι κατέληξαν λοιπόν στη διαπίστωση, ότι τα μικροκύματα φονεύουν τα βακτήρια με ένα μηχανισμό διαφορετικό από αυτό της θέρμανσης.

Οι Heddleson και Doores (1994), σχολιάζοντας την παραπάνω εργασία, θεωρούν ότι το θερμαινόμενο υγρό δεν παραμένει στάσιμο και ότι αντίστοιχα οι μικροοργανισμοί που φονεύονται ή επιβιώνουν σε ορισμένο σημείο, δεν μπορεί να παραμένουν στο σημείο αυτό. Επιπλέον όταν το μέσο είναι υγρό, δεν είναι εφικτή η ακριβής δειγματοληψία και επιπλέον οι θερμοαίσθητες ταινίες χάρτου δεν θεωρούνται ιδιαίτερα αξιόπιστες για τις θερμομετρήσεις.

Οι Khalil και Villota (1986), χρησιμοποιώντας ένα τροποποιημένο φούρνο μικροκυμάτων με συχνότητα 2450 MHz, ικανό να διατηρεί τη θερμοκρασία σταθερή, συνέκριναν την καταστροφή των σπόρων του *Bacillus stearothermophilus*, μετά από θέρμανση σε φούρνο μικροκυμάτων και σε συμβατικό φούρνο. Υπολογίζοντας τα διαγράμματα επιβίωσης των σπόρων και την τιμή D (ίση με το χρόνο της θέρμανσης σε ορισμένη θερμοκρασία, που απαιτείται για να θανατωθεί το 90% των σπόρων ή των κυττάρων ενός βακτηριακού πληθυσμού) στους 100°C, διαπίστωσαν ότι το ποσοστό θανάτωσης είναι πολύ μεγαλύτερο στο φούρνο μικροκυμάτων, ανεξάρτητα από το μέσο που χρησιμοποιήθηκε (υδατικό διάλυμα, διάλυμα χλωριούχου νατρίου ή σουκρόζης). Ωστόσο, είναι πιθανόν η χαμηλότερη τιμή D, που παρατηρήθηκε κατά τον μικροκυματισμό, να οφείλεται στην αποτελεσματικότερη διείσδυση των μικροκυμάτων στο δείγμα, σε σύγκριση με το βαθμό διείσδυσης της θερμότητας κατά τη θέρμανση στο συμβατικό φούρνο (Heddleson και Doores, 1994).



Σε μεταγενέστερη εργασία τους, οι Khalil και Villota (1988) παρατήρησαν, ότι υπό τις ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας, τα κύτταρα του *S. aureus* στρεσάρονται περισσότερο κατά τη θέρμανση με ηλεκτρομαγνητική ενέργεια παρά με τη συμβατική θέρμανση (π.χ βρασμό). Το γεγονός αυτό αποδεικνύεται από το μεγαλύτερο χρόνο, που απαιτείται για να επανακτήσουν τα κύτταρα την ικανότητα να συνθέτουν την εντεροτοξίνη. Θεωρώντας ότι τα ριβοσωμάτια είναι ο πρώτος στόχος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας, οι Khalil και Villota (1989) συνέκριναν τη λύση τους κατά τη διάρκεια του μικροκυματισμού και της κλασικής θέρμανσης. Το τμήμα 23S του ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA) του *S. aureus* υφίσταται βλάβη μόνο σε διαλύματα που μικροκυματίζονται. Επιπλέον τα κύτταρα αυτά απαιτούν περισσότερο χρόνο για να συνθέσουν εκ νέου το τμήμα αυτό του ριβονουκλεϊκού οξέος.

Οι Dreyfuss και Chipley (1980) εξέτασαν τη δραστηριότητα διαφόρων ενζύμων του *S. aureus*, όταν το βακτήριο θερμαίνεται με βρασμό και με μικροκύματα. Διαπίστωσαν λοιπόν, ότι η ενέργεια των μικροκυμάτων επιδρά με διαφορετικό τρόπο από ό,τι η κλασική θερμότητα στη λειτουργία των ενζύμων. Ενδεχομένως στις ίδιες θερμοκρασίες, κατά το βρασμό και την έκθεση στα μικροκύματα, το εναιώρημα των κυττάρων να μην απορρόφησε την ίδια ποσότητα θερμότητας, γεγονός που μεταφράζεται σε διαφορετική λειτουργία αυτών των ενζύμων.

Ωστόσο, πρέπει να επισημανθεί, ότι οι παραπάνω εργασίες πραγματοποιήθηκαν πριν την εισαγωγή του οπτικού θερμομέτρου (fluoroptic), οπότε είναι λογικό οι θερμομετρήσεις να μην ήταν ακριβείς. Τα οπτικά θερμομέτρα επιτρέπουν τη θερμομέτρηση σε ορισμένο σημείο με ακρίβεια 0,1- 0,2°C (Berek και Wickershein, 1988, Wickersheim, 1989). Καθώς οι θερμοκρασίες μέσα σε ένα



μικροκυματιζόμενο υλικό μπορεί να διαφέρουν έως και 20°C σε απόσταση του 1cm, είναι λογικό να απαιτούνται θερμομέτρα μεγάλης ακρίβειας.

Οι Sun και συν. (1988) μελέτησαν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στην υδρόλυση του φωσφοανυδρικού δεσμού στο RNA και τη συνέκριναν με τη δράση της συμβατικής θερμότητας. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα μικροκύματα επιτυγχάνουν μεγαλύτερο ποσοστό υδρόλυσης από ό,τι η συμβατική θερμότητα και απέδωσαν σε αυτά μία μη θερμική ικανότητα. Όμως ήδη από το 1972 ο Rosen απέδειξε ότι η ενέργεια των μικροκυμάτων δεν είναι αρκετή για τη δημιουργία ιόντων, συνεπώς είναι ανίκανη να διασπά χημικούς δεσμούς και θεωρεί ότι η πιο αποτελεσματική θέρμανση από τα μικροκύματα προκαλεί ταχεία υδρόλυση των δεσμών.

Σε όλες τις παραπάνω εργασίες αντιπαρατίθεται ένας μεγάλος αριθμός ερευνητών που υποστηρίζουν την παραγωγή απλής θερμότητας, ως το μόνο μηχανισμό δράσης των μικροκυμάτων (Goldblith και Wang, 1967, Lechowich et al, 1969, Vela και Wu, 1979, Jahngen et al, 1990).

Οι Jahngen και συν. (1990) αρνούνται τα αποτελέσματα των Sun και συν. (1988), επειδή τα θεωρούν μη επαναλήψιμα και πιστεύουν, ότι η ανακριβής θερμομέτρηση κατά τον μικροκυματισμό οδηγεί σε λανθασμένα συμπεράσματα. Στους δικούς τους πειραματισμούς χρησιμοποιώντας οπτικό θερμομέτρο, εξέτασαν την υδρόλυση του ATP, που προκαλείται από την ενέργεια των μικροκυμάτων και από την κλασική θερμότητα και δεν διαπίστωσαν καμία διαφορά.

Οι Vela και Wu (1979), προσεγγίζοντας με μοναδικό τρόπο το πρόβλημα του προσδιορισμού των μη θερμικών ιδιοτήτων της ενέργειας των μικροκυμάτων, χρησιμοποίησαν μικροοργανισμούς σε λυόφιλη κατάσταση. Διάφορα είδη βακτηρίων, μυκήτων και ζυμών εκτέθηκαν σε ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία



συχνότητας 2450 MHz για χρονική περίοδο μεγαλύτερη των 3 ωρών. Οι μικροοργανισμοί βρίσκονταν και σε λυόφιλη μορφή και σε υδατικό διάλυμα. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι δεν παρουσιάστηκε καμία μείωση του πληθυσμού, όταν οι μικροοργανισμοί βρισκόταν σε λυόφιλη μορφή. Συμπέραναν, λοιπόν, ότι το νερό απορροφά την ενέργεια και όχι τα συστατικά των κυττάρων, ότι «τα μικροκύματα φονεύουν τους μικροοργανισμούς μόνο μέσω της θερμότητας, ότι η μη-θερμική ιδιότητά τους είναι ανύπαρκτη και ότι αν υπάρχει δεν είναι σίγουρα βακτηριοκτόνος».

Οι Lechowich και συν. (1969) κατασκεύασαν έναν τροποποιημένο φούρνο μικροκυμάτων, στον οποίο η θερμοκρασία των δειγμάτων παρέμενε σταθερή. Αυτό το επέτυχαν με τη χρήση, γύρω από τα δείγματα, κεροζίνης-υλικό που δεν απορροφά καθόλου ενέργεια. Οι ερευνητές δεν διαπίστωσαν καμία διαφορά στον πληθυσμό των κυττάρων που μικροκυματίστηκαν, με τον πληθυσμό εκείνων που θερμάνθηκαν με τη συμβατική θερμότητα και συμπέραναν ότι η κυτταρική βλάβη επέρχεται μόνο εξαιτίας της παραγωγής θερμότητας. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν οι Goldblith και Wang (1967) κάνοντας πειραματισμούς με καλλιεργήματα *E. coli* και *Bacillus subtilis*.

Παρόμοιες είναι και οι διαπιστώσεις των Welt και συν. (1994), οι οποίοι απέδειξαν ότι δεν υπάρχει καμία διαφορά μεταξύ μικροκυμάτων και συμβατικής θερμότητας, σε ό,τι αφορά την αδρανοποίηση του σπορογόνου βακτηρίου *Clostridium sporogenes* PA3679 στις θερμοκρασίες των 90, 100 και 110°C. Επιπλέον, εναιώρημα των σπόρων που εκτέθηκε στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία και στη συνέχεια ψύχθηκε μέσα σε σωλήνα σιλικόνης δεν παρουσίασε καμία μείωση του πληθυσμού του. Επίσης οι Fujikawa και συν. (1992) δεν μπόρεσαν να



διαπιστώσουν κάποια διαφορά στην καταστροφή της *E. coli* σε αλατούχο διάλυμα, είτε αυτό το μικροκυμάτιζαν, είτε το θέρμαιναν με βρασμό.

Άλλο ενδιαφέρον πεδίο έρευνας, που σχετίζεται με τα μικροκύματα, είναι η σχέση τους με τη μετάλλαξη των κυττάρων. Οι Meltz και συν. (1989) μελέτησαν κατά πόσο η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία είναι δυνατόν να προκαλέσει μετάλλαξη στα κύτταρα των θηλαστικών και κατά πόσο μπορεί να χρησιμοποιηθεί, μαζί με τη χημειοθεραπεία, στη θεραπεία του καρκίνου. Συμπέραναν όμως ότι τα μικροκύματα στη συχνότητα των 2450 MHz δεν προκαλούν μετάλλαξη, ούτε υποβοηθούν στη θεραπεία του καρκίνου.

Επίσης οι Saghiranti και συν. (1987) διερεύνησαν κατά πόσο η ενέργεια των μικροκυμάτων επιδρά στο πλασμιδιακό DNA. Κατέληξαν στη διαπίστωση ότι, παρουσία σιδήρου η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία αυξάνει σημαντικά τον αριθμό των δεσμών του DNA, που διασπώνται. Οι μεταβολές της θερμοκρασίας δεν καταμετρήθηκαν, αλλά το παραπάνω φαινόμενο δεν είναι δυνατόν να θεωρηθεί ως απόρροια της επίδρασης της θερμότητας. Ωστόσο, το πείραμα αυτό πραγματοποιήθηκε σε συχνότητα πολύ διαφορετική από αυτή των 2450 MHz και, επομένως, δεν συσχετίζεται με την λειτουργία των οικιακών φούρνων μικροκυμάτων.

Οι Kazbekon και Vyacheslavon (1987), εξάλλου, προσέγγισαν το μηχανισμό δράσης των μικροκυμάτων από διαφορετική άποψη. Χρησιμοποιώντας κύτταρα *E. coli* και *B. subtilis*, προσπάθησαν να καθορίσουν την επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας στη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης. Παρόλο που η συχνότητα, η οποία επιλέχθηκε δεν συναντάται στο χώρο των τροφίμων (38.462-50.000 MHz), η εργασία παρουσιάζει ενδιαφέρον. Μελετήθηκε η πρόσληψη της θειαμίνης και θυμιδίνης, ο δεσμός των ιόντων καλίου και η πρόσληψη του DNA από τα συστατικά του κυττάρου. Δεν παρουσιάστηκε καμία αλλαγή στη



πρόσληψη της θειαμίνης και της θυμιδίνης μετά την επίδραση των μικροκυμάτων. Επιπλέον, οι δεσμοί των ιόντων καλίου αυξήθηκαν, και η πρόσληψη του DNA από τα συστατικά των κυττάρων αυξήθηκε κατά δύο (2) έως τέσσερις (4) φορές σε σύγκριση με τα διαλύματα-μάρτυρες. Όλα τα παραπάνω αποτελέσματα θεωρήθηκαν ότι είναι απόρροια της θερμικής δράσης των μικροκυμάτων.

Οι Kozempel και συν. (1998) σχεδίασαν ένα σύστημα σωλήνων μέσα στο οποίο διάφορα διαλύματα μικροκυματίζονταν (με ενέργεια 5,0-5,4 kW) και στη συνέχεια ψύχονταν έως τη θερμοκρασία των 40°C. Τα διαλύματα μολύνονταν με το βακτήριο *Pedococcus* (στέλεχος NRRL B-2354), πριν την έκθεσή τους στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία. Το μεγαλύτερο ποσοστό μείωσης του μικροβιακού φορτίου παρατηρήθηκε στο χυμό μήλου (πάνω από 4,6 log₁₀ σε κάθε διέλευση από το σύστημα), ενώ το μικρότερο (λιγότερο από 0,7 log₁₀ σε μία διέλευση) στο υδατικό διάλυμα και στο διάλυμα 10% γλυκόζης. Ο βαθμός μείωσης της συγκέντρωσης του μικροοργανισμού δεν ήταν σταθερός σε κάθε διέλευση σε ορισμένα υλικά, μειώνονταν μετά την πρώτη διέλευση, ενώ σε άλλα δεν παρατηρήθηκε καμία μεταβολή της μικροβιακής συγκέντρωσης, όπως στο άπαχο γάλα, στο χυμό αχλαδιού, στο μηλίτη, στον τοματοχυμό και στην μπίρα. Οι ερευνητές δεν μπόρεσαν να συσχετίσουν αυτό το φαινόμενο με κάποιο εσωτερικό χαρακτηριστικό των ζωμών, όπως pH, αδιάλυτα στερεά, αγωγιμότητα. Ωστόσο, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι σε ορισμένα διαλύματα, σημαντικοί αριθμοί μικροοργανισμών θανατώνονται με την ενέργεια των μικροκυμάτων, ακόμη και σε χαμηλές θερμοκρασίες.

Σε μία άλλη εργασία, οι Kozempel και συν. (2000) σχεδίασαν ένα καινούριο σύστημα, ικανό να διαχωρίσει τη θερμική από τη μη-θερμική ιδιότητα των μικροκυμάτων. Το σύστημα αποτελούνταν από ένα διπλό σωλήνα, που επέτρεπε να εισέρχεται η ενέργεια των μικροκυμάτων και συγχρόνως να απομακρύνεται με κρύο



νερό η θερμότητα. Με το σύστημα αυτό δεν διαπιστώθηκε καταστροφή βακτηρίων όπως ο *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Listeria innocua*, *Pediococcus* spp. Τα βακτήρια αυτά βρίσκονταν σε διάφορα διαλύματα, όπως νερό, λεύκωμα αυγού, ολόκληρο αυγό, χυμό τομάτας και μπύρα. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι απουσία στρες (pH ή θερμότητας), η ενέργεια των μικροκυμάτων δεν έχει μικροβιοκτόνο δράση. Ωστόσο, θεωρούν ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία υποβοηθά ή ενισχύει τη θερμική επίδραση, που εξασκεί η ίδια στους μικροοργανισμούς.

Τέλος, έχοντας υπόψη διάφορα πειράματα που πραγματοποίησαν σε χυμό μήλου μολυσμένο με *Saccharomyces* και *Lactobacillus plantarum*, ο Ramaswamy και συν. (2000), κατέληξαν ότι η μη-θερμική ιδιότητα των μικροκυμάτων στις χαμηλές θερμοκρασίες είναι αμελητέα και απέδειξαν ότι στις ίδιες θερμοκρασίες, τα μικροκύματα ενισχύουν την καταστροφή των μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα, απέδειξαν ότι, σε ένα σύστημα συνεχόμενης παροχής ηλεκτρομαγνητικής ενέργειας, η τιμή D για την *E. coli* K-12 είναι σημαντικά χαμηλότερη (12,98 sec στους 55°C, 6,31 sec στους 60°C, 0,78 sec στους 65°C) με τη χρήση μικροκυμάτων, σε σχέση με την παροχή θερμότητας μέσω ζεστού νερού (44,7 sec στους 55°C, 26,8 sec στους 60°C, 2,00 sec στους 65°C), ή αέρα (72,71 sec στους 55°C, 15,61 sec στους 60°C, 2,98 sec στους 60°C). Συμπέραναν ότι, ενώ δεν υπάρχει μη-θερμική ιδιότητα των μικροκυμάτων, υπάρχει μία ουσιαστική ενίσχυση της μικροβιοκτόνου δράσης τους.



1.5. ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ

Η εφαρμογή των μικροκυμάτων στη βιομηχανία των τροφίμων ξεκίνησε με δειλά βήματα στη δεκαετία του '60 (Ayoub et al, 1974). Τα συστήματα, που επινοήθηκαν και αναπτύχθηκαν για να εξυπηρετήσουν τη γρήγορη παραγωγή προϊόντων, βασίζονται σε δύο αρχές λειτουργίας (Decareau, 1985).

Σύμφωνα με την πρώτη, το προϊόν διέρχεται από σταθερό ηλεκτρομαγνητικό πεδίο, ενώ βάσει της δεύτερης το πεδίο αυτό δεν είναι σταθερό, αλλά ενεργοποιείται με την παρουσία του τροφίμου, το οποίο περνά κάθετα προς τη διεύθυνση του κύματος της ακτινοβολίας. Και στα δύο παραπάνω συστήματα, η ενέργεια που παράγεται από τη λυχνία Magnetron, μεταφέρεται μέσω κυματαγωγών στο χώρο όπου μικροκυματίζονται τα τρόφιμα. Το γεγονός αυτό επιτρέπει την εγκατάσταση της λυχνίας Magnetron μακριά από το φούρνο και, επομένως, την καλύτερη καθαριότητά της.

Οι συχνότητες που, κυρίως, χρησιμοποιούνται είναι αυτές των 2450 MHz και 915 MHz. Πολλά από τα συστήματα που λειτουργούν με την πρώτη συχνότητα, έχουν εγκατεστημένες περισσότερες από μία μονάδες Magnetron, ισχύος 2,5 μέχρι 3,0 kW, ενώ όσα λειτουργούν με τη δεύτερη συχνότητα απασχολούν μία μονάδα Magnetron ισχύος 25-50 kW (Decareau, 1985).

Πολλά από τα εφαρμοζόμενα συστήματα χρησιμοποιούν συνδυασμό ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και συμβατικής θερμότητας. Η συμβατική θερμότητα, εξαρτώμενη βέβαια από τον τύπο του τροφίμου, βοηθά στο σχηματισμό επιφάνειας τραγανής-καστανού χρώματος (κρούστα), στην αφυδάτωση και στη μείωση του επιφανειακού μικροβιακού φορτίου (Giese, 1992).



Το είδος του συστήματος, που χρησιμοποιείται κάθε φορά, εξαρτάται από τη χρήση που προορίζεται (αφυδάτωση, μαγείρεμα, θέρμανση κ.τ.λ.). Επομένως, τα πλεονεκτήματα σχετίζονται άμεσα με το είδος της εφαρμογής και, ασφαλώς, με τα ανταγωνιζόμενα συστήματα. Σε γενικές γραμμές, τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα είναι η οικονομία ενέργειας, η αύξηση της παραγωγής και η ποιότητα του προϊόντος.

1.5.1. Θέρμανση

Στη βιομηχανία των τροφίμων συχνά απαιτείται η αύξηση της θερμοκρασίας των καταψυγμένων τροφίμων από τους -30°C ή -40°C στους -2 έως -4°C , δηλαδή σε θερμοκρασία λίγο χαμηλότερη του σημείου τήξης του πάγου,. Σε αυτό το στάδιο το προϊόν είναι έτοιμο για περαιτέρω μεταποίηση (Giese, 1992). Με τη συμβατική μέθοδο απόψυξης, η παραπάνω διαδικασία ολοκληρώνεται σε χρονικό διάστημα δύο-πέντε (2-5) ημερών, μέσα σε ειδικά διαμορφωμένους θαλάμους. Με τη χρήση μικροκυμάτων, αυτό επιτυγχάνεται σε ελάχιστα λεπτά και, μάλιστα, χωρίς να αποσυσκευάζονται τα τρόφιμα. Παράλληλα, ελαχιστοποιείται η μικροβιακή ανάπτυξη και η αλλοίωση στην επιφάνεια των τροφίμων (εξάλλου, αυτό αποτελεί και το μεγάλο μειονέκτημα της συμβατικής μεθόδου απόψυξης, κατά την οποία η επιφάνεια του τροφίμου εκτίθεται σε θερμοκρασία $>0^{\circ}\text{C}$ για μεγάλο χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα την επιφανειακή αλλοίωση και την αύξηση του μικροβιακού του φορτίου). Επιπροσθέτως, τα μικροκύματα ελαχιστοποιούν τις απώλειες βάρους του προϊόντος, αυξάνουν τη συγκέντρωση των χυμών των τροφίμων, μειώνουν το pH του κρέατος, μειώνουν τον απαιτούμενο χώρο (1/10 σε σχέση με εκείνον που απαιτείται στις συμβατικές τεχνικές) και μειώνουν το φόρτο εργασίας (Rosenberg και Bögl, 1987α).



Τα περισσότερα συστήματα θέρμανσης με ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία χρησιμοποιούν τη συχνότητα των 915 MHz, εξαιτίας της ικανότητάς της να διεισδύει περισσότερο στα τρόφιμα. Υπάρχουν, βεβαίως, και συστήματα που χρησιμοποιούν τη συχνότητα των 2450 MHz, ωστόσο, απαιτείται η εφαρμογή ψυχρού αέρα για να αποφευχθεί η επιφανειακή υπερθέρμανση του τροφίμου (Decareau, 1986).

1.5.2. Αφυδάτωση

Είναι αρκετές οι βιομηχανίες ζυμαρικών, που χρησιμοποιούν την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία στην αφυδάτωση της πάστας των ζυμαρικών. Το σύστημα είναι, ουσιαστικά, συνδυασμός συμβατικής θερμότητας και ενέργειας των μικροκυμάτων. Η διαδικασία αφυδάτωσης με αυτό τον τρόπο επιταχύνεται (από 8 ώρες σε 0,5 ώρα), ενώ το τελικό προϊόν αναβαθμίζεται (Mudgett, 1992).

Αφυδάτωση με μικροκύματα εφαρμόζεται, ακόμη, στην επεξεργασία των τοματοπολτών, του ρυζιού, των snacks, του μπέικον και των καρυκευμάτων, όπως, για παράδειγμα, του σκόρδου, (Sharma και Prasad, 2001).

1.5.3. Μαγείρεμα (σε βιομηχανική κλίμακα)

Το μαγείρεμα με μικροκύματα χρησιμοποιείται, σήμερα, ευρύτατα στις βιομηχανίες τροφίμων (π.χ. προμαγειρεμένο μπέικον, τμήματα κρέατος και πουλερικών). Η μέθοδος παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα, όπως αύξηση της παραγωγής (για το μπέικον 25-38%), μείωση της πιθανότητας υπερθέρμανσης και κατά συνέπεια καταστροφής του προϊόντος, μείωση του χρόνου και του κόστους παραγωγής, βελτίωση της ποιότητας του προϊόντος (IFT, 1989).



1.5.4. Συντήρηση

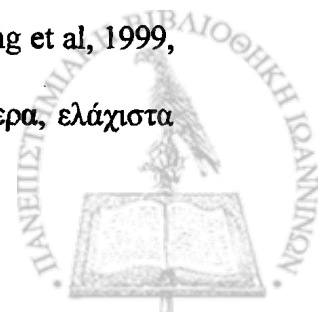
Τα μικροκύματα έχουν την ικανότητα να αδρανοποιούν ένζυμα ναπών τροφίμων, όπως φρέσκων λαχανικών και φρούτων, που οδηγούν στην ταχεία ωρίμανση και σήψη τους κατά τη συντήρησή τους υπό συνθήκες ψύξης. Ωστόσο, δεν έχει αποδειχθεί το πλεονέκτημα της χρήσης των μικροκυμάτων σε σχέση με τη συμβατική θερμότητα στον τομέα αυτό (Decareau, 1986, IFT, 1989). Το αν υπερτερεί η μία ή άλλη μέθοδος εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως το είδος του λαχανικού ή του φρούτου, το μέγεθός του, η ποσότητα, το σχήμα του (Ramesh et al, 2002). Βέβαια, έχει διαπιστωθεί πως ο συνδυασμός μικροκυμάτων-βραστού νερού εξουδετερώνει το ένζυμο υπεροξειδάση στις πατάτες σε χρόνο 4-5 min, χρόνος σημαντικά μικρότερος από τα 15 min που απαιτούνται με τη μέθοδο του βραστού νερού (Mudgett, 1992).

1.5.5. Χρήσεις στην αρτοζαχαροπλαστική

Στις ΗΠΑ, αρκετοί παραγωγοί ψωμιού και ντόνατς κάνουν χρήση συσκευών μικροκυμάτων σε συνδυασμό με τη συμβατική τεχνολογία θέρμανσης, πετυχαίνοντας σημαντική μείωση του χρόνου ψησίματος (για το ψωμί από 18-22 min, σε 6-8 min), (Rosenberg και Bögl, 1987α).

1.5.6. Παστερίωση και αποστείρωση

Η ιδέα της βιομηχανικής χρήσης των μικροκυμάτων για την παστερίωση και την αποστείρωση τροφίμων έχει διατυπωθεί εδώ και 30 χρόνια (Jeppson και Harper, 1967, Mudgett και Schwartzberg, 1982, Decareau, 1985, Kudra et al, 1991, Schlegel, 1992, Harlfinger, 1992, Anonymous 1996, Casasnovas et al., 1994, Zhang et al, 1999, Tops, 2000), όμως παρόλη τη γνώση που έχει συσσωρευτεί μέχρι σήμερα, ελάχιστα



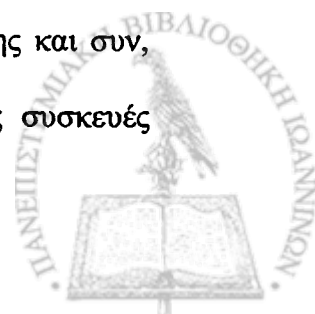
έχει εφαρμοστεί στη βιομηχανία τροφίμων, κυρίως εξαιτίας της έλλειψης επαρκών δεδομένων όσον αφορά τον προσδιορισμό της θερμοκρασίας στο πιο ψυχρό σημείο του προϊόντος.

Μία από τις ελάχιστες εταιρίες που χρησιμοποιούν τα μικροκύματα για παστερίωση τροφίμων εδρεύει στις ΗΠΑ και παράγει ετησίως 13 εκατομμύρια γεύματα (Tops, 2000). Το σύστημα είναι αυτοματοποιημένο και η ακτινοβολία των γευμάτων γίνεται μέσα σε σήραγγα υπό πίεση. Η διαδικασία θέρμανσης με μικροκύματα ακολουθείται από μία περίοδο εξισορρόπησης της θερμοκρασίας μέσα στο τελικό προϊόν. Η συσκευασία των γευμάτων γίνεται από ειδικά υλικά, διαπερατά από την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, ανθεκτικά στην πίεση, αλλά και σχήματος κατάλληλου για μικροκυματισμό.

Επιπλέον, έχει αναφερθεί η χρήση των μικροκυμάτων στην παστερίωση χυμού μήλου (Tajchakavit et al, 1998, Cañumir et al, 2002,) σπαραγγιών τουρσί (Lau και Tang, 2002), καθώς και στην παστερίωση λευκού και μαύρου πιπεριού (Plessi et al, 2002).

1.5.7. Οικιακή χρήση

Την τελευταία εικοσαετία, οι οικιακές συσκευές μικροκυμάτων αποτελούν πλέον συνήθη εξοπλισμό των κατοικιών των αναπτυγμένων χωρών. Η ευχρηστία τους αφενός (ταχύτητα, εύκολη χρήση, καθαριότητα, οικονομία) και οι ταχύτατοι ρυθμοί της ζωής του δυτικού ανθρώπου αφετέρου, καθιέρωσαν τη χρήση τους. Τα παραπάνω είχαν ως αποτέλεσμα τη στροφή των περισσότερων μεγάλων βιομηχανιών τροφίμων προς την παραγωγή και συσκευασία τροφίμων κατάλληλων να υποστούν επεξεργασία (θέρμανση, μαγείρεμα, απόψυξη) σε συσκευές μικροκυμάτων (Τσελεπίδης και συν, 1995). Εξάλλου, οι κατασκευαστές έχουν καταφέρει να εξελίξουν τις συσκευές



μικροκυμάτων. Έτσι, π.χ. με το συνδυασμό συμβατικού φούρνου με grill και μικροκυμάτων ξεπεράστηκε το σημαντικότερο ίσως μειονέκτημα των φούρνων μικροκυμάτων, δηλαδή της απουσίας κρούστας (τραγανής-καστανού χρώματος επιφάνειας) των μικροκυματισμένων τροφίμων, επειδή στους απλούς φούρνους μικροκυμάτων το χαμηλής θερμοκρασίας ρεύμα αέρα που κυκλοφορεί δεν επιτρέπει την εμφάνιση των παραπάνω χαρακτηριστικών (Schffmann, 1992). Ομοίως, με τη χρησιμοποίηση ειδικών μηχανισμών διασποράς της ακτινοβολίας επιτεύχθηκε σε μεγάλο βαθμό η ομοιόμορφη θέρμανση των τροφίμων.

1.6. ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΟΓΕΝΗ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Για την αξιολόγηση οποιασδήποτε μεθόδου θερμικής επεξεργασίας τροφίμων καθοριστική παράμετρος είναι η βακτηριοκτόνος ή βακτηριοστατική ικανότητά της.

Πολλοί είναι οι ερευνητές που έχουν ασχοληθεί με την επίδραση της ενέργειας των μικροκυμάτων σε παθογόνους μικροοργανισμούς, οι οποίοι επιμολύνουν τα διάφορα τρόφιμα. Σειρά πειραματικών μελετών έχει δείξει, ότι μεγάλος αριθμός βακτηρίων φονεύεται από την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, όπως ο *Bacillus cereus*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp (Knutson et al, 1987, Rosenberg και Bögl, 1987, Heddleson και Doores, 1994), ακόμη και νηματέλμινθες όπως η *Trichinella spiralis* και ο *Anisakis anisakis* (Zimmerman, 1983). Επίσης έχει αποδειχθεί πειραματικά, η μικροβιοκτόνος δράση των μικροκυμάτων για ορισμένα είδη μικροοργανισμών που μολύνουν διάφορα



τρόφιμα ζωικής προέλευσης όπως πουλερικά, κρέας βοδινό, ψάρι, λουκάνικα χοιρινά, αυγά, γάλα.

Με βάση τα υπάρχοντα βιβλιογραφικά δεδομένα, είναι δύσκολο να συγκριθεί η αποτελεσματικότητα της βακτηριοκτόνου δράσης των μικροκυμάτων με αυτήν της συμβατικής θερμότητας. Αυτό οφείλεται στις διαφορετικές τεχνικές, που εφαρμόστηκαν στα διάφορα πειράματα, αλλά και στην ελλιπή περιγραφή των μεθόδων και υλικών που χρησιμοποιήθηκαν, ιδιαίτερα μάλιστα για τον έλεγχο των μεταβολών της θερμοκρασίας (Heddleson και Doores, 1994).

Επιπλέον πολλοί ερευνητές θεωρούν ότι η ανομοιογενής τελική θερμοκρασία των μικροκυματιζόμενων τροφίμων είναι δυνατόν να οδηγήσει στην επιβίωση διαφόρων παθογόνων μικροβίων, συμπεριλαμβανομένου της *Salmonella* spp και της *Listeria monocytogenes*, σε ορισμένα σημεία του προϊόντος (Datta και Davidson, 2001). Μάλιστα απέδειξαν, ότι υπάρχουν κύτταρα που ακόμη επιζούν, όταν το τρόφιμο θερμαίνεται μέχρι μία ορισμένη τελική (στο εσωτερικό) θερμοκρασία - ικανή θεωρητικά να καταστρέψει το σύνολο των μικροοργανισμών που τυχόν υπάρχουν στο προϊόν (Schnerpf και Barbeau, 1989). Για παράδειγμα, έχει αποδειχθεί πως η θερμομέτρηση της εσωτερικής θερμοκρασίας των πουλερικών δεν είναι ενδεικτική της καταστροφής όλων των κυττάρων της σαλμονέλλας, όταν η μόλυνση του τροφίμου είναι επιφανειακή και αυτό οφείλεται στη χαμηλότερη θερμοκρασία που παρατηρείται στην επιφάνεια του κοτόπουλου (Schnerpf και Barbeau, 1989).

Το 1994 καταγράφηκε στον Καναδά επιδημία σαλμονέλωσης, η οποία προκλήθηκε από κατανάλωση ψητού χοιρινού μαγειρευμένου σε κοινοτική γιορτή, κατά την οποία νόσησαν δέκα άτομα. Συγκεκριμένα, την επομένη της γιορτής 30 άτομα κατανάλωσαν υπολείμματα του ψητού χοιρινού. Από αυτά, τα 20 άτομα χρησιμοποίησαν συμβατικό φούρνο για να ξαναζεστάνουν το χοιρινό και τα υπόλοιπα



10 άτομα ξαναζέσταναν το χοιρινό σε φούρνο μικροκυμάτων και μόνον αυτοί εκδήλωσαν τα συμπτώματα της νόσου (Gessner και Beller, 1994). Σε άλλη επιδημία σαλμονέλλωσης τέσσερα μέλη της ίδιας οικογένειας νόσησαν μετά από κατανάλωση αυγών, που θερμάνθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων (Bates και Spencer, 1995). Επίσης αναφέρεται επιδημία σαλμονέλλωσης ύστερα από κατανάλωση σαλάτας που περιείχε ρύζι και αυγά, η οποία θερμάνθηκε σε φούρνο μικροκυμάτων. Σε αυτήν την επιδημία απομονώθηκε *S. enteritidis* (PT4) από τα κόπρανα όλων των συνδαιτυμόνων, που κατανάλωσαν τη συγκεκριμένη σαλάτα ρυζιού (Evans et al, 1995).

Συνεπώς, η χρήση των φούρνων μικροκυμάτων εμπεριέχει ορισμένους κινδύνους όσον αφορά την μικροβιολογική ασφάλεια των τροφίμων, που υφίστανται οποιαδήποτε θερμική επεξεργασία σε αυτούς, δεδομένου ότι η ανομοιογενής κατανομή της θερμοκρασίας στο τρόφιμο και ειδικά στην επιφάνειά του, οδηγεί στην επιβίωση αρκετών παθογόνων μικροοργανισμών ικανών να προκαλέσουν τροφιμογενή νοσήματα.



2. *ESCHERICHIA COLI* O157:H7



2.1. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Η ανακάλυψη των βεροτοξινογόνων στελεχών *E. coli* χρονολογείται από το 1977, όταν ο Kopowalchuk και οι συνεργάτες του απομόνωσαν για πρώτη φορά από διαρροϊκά στελέχη *Escherichia coli*, τοξίνες διαφορετικές από τις μέχρι τότε γνωστές τοξίνες των εντεροτοξινογόνων στελεχών *E. coli*. Επίσης οι ίδιοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι οι συγκεκριμένες τοξίνες είχαν κυτταροτοξική δράση στα νεφρικά κύτταρα (Vero κύτταρα) του πράσινου πιθήκου (Kopowalchuk et al, 1977), ενώ μερικά χρόνια αργότερα ο O'Brein και συν. (1992) διαπίστωσαν κυτταροτοξική δράση και στα επιθηλιακά κύτταρα του ανθρώπινου εγκεφάλου (HeLa). Εκτοτε τα στελέχη *E. coli* που παράγουν νερο-τοξίνες χαρακτηρίζονται ως βεροτοξινογόνα στελέχη και επειδή προκαλούν αιμορραγική διάρροια στον άνθρωπο ονομάζονται και εντεροαιμορραγικά (Enterohaemorrhagic-EHEC), ή στελέχη που παράγουν τοξίνη όμοια της σιγγέλας (Shiga-like toxin producing-SLTEC) (Tarr, 1995).

Στην παραπάνω κατηγορία στελεχών *E. coli* ανήκουν περισσότεροι από 100 ορότυποι, ωστόσο ο πιο σημαντικός είναι ο ορότυπος O157:H7 (Griffin, 1995), ο οποίος αναγνωρίστηκε για πρώτη φορά το 1972 (Furowicz και Orskov, 1972). Το 1977 απομονώθηκαν στην Αργεντινή τρία στελέχη του ορότυπου από νεαρά βοοειδή με διάρροια (Orskov et al, 1987), γεγονός ενδεικτικό του ότι ο συγκεκριμένος ορότυπος μπορεί να είναι αναδυόμενο τροφιμογενές παθογόνο.



Για πρώτη φορά αποδείχθηκε ότι η *E. coli* O157:H7 είναι αίτιο τροφιμογενών λοιμώξεων, όταν προκάλεσε δύο επιδημίες αιμορραγικής κολίτιδας στις Η.Π.Α. το 1982 και συγκεκριμένα μία στο Όρεγκον με 26 περιστατικά και μία στο Μίσιγκαν με 21 περιστατικά. Και στις δύο περιπτώσεις η αναδρομική επιδημιολογική έρευνα έδειξε, ότι όλα τα θύματα είχαν καταναλώσει ατελώς ψημένα χάμπουργκερ από αλυσίδα ταχυφαγείων (fast-food), ενώ παράλληλα απομονώθηκε *E. coli* O157:H7 από ένα δείγμα χάμπουργκερ της ίδιας αλυσίδας στο Μίσιγκαν και από δείγματα κοπράνων των ασθενών (Riley et al, 1983). Λίγο αργότερα (1983) ο Karmali και οι συνεργάτες του βρήκαν ότι τα νεο-τοξινογόνα στελέχη *E. coli* μπορούν να προκαλέσουν αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο (Karmali et al, 1983). Μία 10ετία αργότερα, το 1993 στις Η.Π.Α. και πάλι, η κατανάλωση ατελώς ψημένων χάμπουργκερ οδήγησε στο νοσοκομείο περισσότερα από 700 άτομα (Griffin et al, 1994).

Το 1985 καταγράφηκε στην Μ. Βρετανία η πρώτη επιδημία αιμορραγικής κολίτιδας στην διάρκεια της οποίας νόσησαν 24 άτομα, εισήχθησαν σε νοσοκομεία 11 άτομα και ένα τελικά κατέληξε. Η εργαστηριακή διερεύνηση έδειξε, ότι η επιδημία προκλήθηκε από την κατανάλωση γεύματος με ψητές πατάτες μόνον και ότι οι πατάτες ήταν επιμολυσμένες με *E. coli* O157:H7 (Morgan et al, 1988). Η επιδημία αυτή αποτέλεσε το πρώτο περιστατικό τροφιμογενούς λοίμωξης συσχετιζόμενης με την *E. coli* O157:H7, η οποία προκλήθηκε από τρόφιμο φυτικής και όχι ζωικής προελεύσεως.

Η πιο πρόσφατη επιδημία εξαιτίας του ορότυπου *E. coli* O157:H7 καταγράφηκε στο Vancouver του Καναδά το 2002, στη διάρκεια της οποίας νόσησαν πέντε άτομα ύστερα από κατανάλωση γάλατος αιγός (McIntyre et al, 2002). Είναι, λοιπόν, φανερό ότι η *E. coli* O157:H7 αποτελεί ένα σημαντικό αναδυόμενο



παθογόνο, που μεταδίδεται τροφιμογενώς και πρέπει να υπάρξει συνεχής επαγρύπνηση των υγειονομικών υπηρεσιών, ώστε η πρόληψη να είναι αποτελεσματική, ιδιαίτερα σήμερα στην εποχή της μαζικοποίησης και της παγκοσμιοποίησης της διατροφής μας.



2.2. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΗΣ *E. COLI* O157:H7

Η *E. coli* O157:H7 περιλαμβάνεται στην ομάδα των παθογόνων οροτύπων της *E. coli*, που ονομάστηκαν «βεροτοξιγόνες» (verotoxigenic *E. coli*-VTEC) εξαιτίας της τοξικής τους δράσης πάνω στα νερο κύτταρα. Τα στελέχη αυτά, όπως έχει ήδη αναφερθεί, ονομάζονται και «εντεροαιμορραγικά» (enterohaemorrhagic *E. coli*-EHEC), διότι μπορεί να προκαλέσουν αιμορραγική διάρροια στον άνθρωπο, αλλά και «στελέχη που παράγουν τοξίνη όμοια με της σιγγέλας» (Shiga-like toxin producing-SLTEC) (Tarr, 1995).

Η *E. coli* O157:H7 έχει τις ίδιες βιοχημικές ιδιότητες με τα υπόλοιπα στελέχη της *E. coli*, διαφέρει ωστόσο στα παρακάτω χαρακτηριστικά: αδυναμία ζύμωσης της σορβιτόλης σε 24 ώρες (Wells et al, 1983, Farmer και Davis, 1985, Honish, 1986), αδυναμία παραγωγής β-γλουκουρονιδάσης, το οποίο υδρολύει το 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide (MUG) [αποτέλεσμα της υδρόλυσης αυτής είναι ο φθορισμός των αποικιών υπό την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας (UV)] (Feng και Hartman, 1982), αδυναμία ανάπτυξης του μικροβίου σε θερμοκρασίες από 44°C έως 45,5°C (Doyle και Schoeni, 1984), ζύμωση της ραφινόζης και της δουλιτοόλης (Ratnam et al, 1988) και η παραγωγή εντεροαιμολυσίνης, μιας πρωτεΐνης που κωδικοποιείται πλασμιδικά και προκαλεί μικρές ζώνες αιμόλυσης στο αιματούχο άγαρ ύστερα από επώαση στους 37°C για 27 ώρες (Beutin et al, 1989).

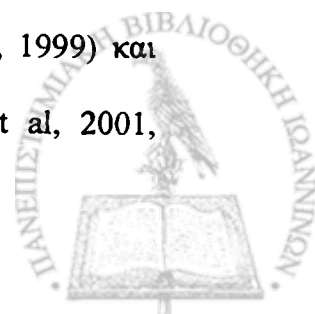


2.3. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ - ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Υπόδοχο στη φύση της *E. coli* O157:H7 αποτελούν τα υγιή βοοειδή, στον εντερικό σωλήνα των οποίων υπάρχει ο μικροοργανισμός, ο οποίος αποβάλλεται με τα κόπρανά τους, με αποτέλεσμα τη μόλυνση του κρέατος, του γάλατος αλλά και του περιβάλλοντος (Borzyck et al, 1987). Τα ενήλικα μολυσμένα βοοειδή αποβάλλουν το μικροοργανισμό μέχρι και 20 εβδομάδες, ενώ τα ανήλικα μέχρι και 14 εβδομάδες (Cray και Moon, 1995). Η επιμόλυνση του κρέατος γίνεται στο σφαγείο στη διάρκεια σφαγής των ζώων, ενώ το γάλα μολύνεται κατά την άμελξη (Anderson et al, 1992). Παράλληλα, τα κόπρανα των ζώων-φορέων της *E. coli* O157:H7 μολύνουν το περιβάλλον και ο μικροοργανισμός επιβιώνει στη κοπριά για περισσότερο από 50 ημέρες, στο χώμα για πάνω από 130 ημέρες, στα νερά των ποταμών για 27 ημέρες και σε μεταλλικές επιφάνειες για 60 ημέρες (Maule, 2000).

Η συχνότητα απομόνωσης της *E. coli* O157:H7 από τα κόπρανα βοοειδών ποικίλει από χώρα σε χώρα και κυμαίνεται από 0% έως 16,6% (Montenegro et al, 1990, Wells et al, 1991, Wilson et al, 1992, Blanco et al, 1993, Κανσουζίδου και συν, 1994, Dean-Nystrom, et al, 1997, Chapman et al, 1997, Albihn et al, 1997, Heuvelink et al, 1998α, Mattar και Vásquez, 1998, Vold et al, 1998, Miyao et al, 1998, Bonardi et al, 1999, Vuddhakul et al, 2000, Lahti et al, 2001, Leung et al, 2001, Lin et al, 2001, Osek et al, 2001, Kadu-Mulindw et al, 2001, Dontorou et al, 2004).

Η *E. coli* O157:H7 έχει απομονωθεί, επίσης, από πουλερικά (Schoemi και Doyle, 1994, Chapman et al, 1997, Heuvelink et al, 1999, Pilipcinec et al, 1999), χοίρους (Chapman et al, 1997, Nakazawa et al, 1999, Heuvelink et al, 1999) και αιγοπρόβατα (Kudva et al, 1996, Chapman et al, 1997, Chapman et al, 2001,



Dontorou, et al, 2004). Επιπλέον, έχει απομονωθεί από άλογα (Morris et al, 1987), γάτες (Abaas et al, 1989), σκύλους (Hammermueller et al, 1995) αλλά και από μύγες, οι οποίες επιμολύνουν τρόφιμα (Kobayashi et al, 1999).

Από τα παραπάνω στοιχεία είναι εμφανές ότι *E. coli* O157:H7, όπως, βέβαια, όλα τα στελέχη της *E. coli*, συναντάται συχνά στη φύση. Μπορεί να αποτελείσει μέρος της μικροβιακής χλωρίδας του εντέρου του ανθρώπου και των ζώων, απ' όπου αποβάλλεται και μολύνει το περιβάλλον και, κυρίως, τα επιφανειακά νερά. Η μόλυνση του ανθρώπου μπορεί να προκαλέσει νόσο, σε αντίθεση με τα ζώα, τα οποία παραμένουν ασυμπτωματικοί φορείς του μικροβίου.

2.4. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Η *E. coli* O157:H7 μεταδίδεται κυρίως τροφιμογενώς (ποσοστό 67%), δευτερευόντως υδατογενώς, από άτομο σε άτομο (22%) και απευθείας από μολυσμένα ζώα-φορείς σε ανθρώπους, κυρίως σε μικρά παιδιά (Chalmers et al, 1997, Griffin, 1998).

- **Τροφιμογενής- Υδατογενής μετάδοση**

Η *E. coli* O157:H7 μεταδίδεται κυρίως με τρόφιμα ζωικής προελεύσεως και σπάνια με τρόφιμα φυτικής προελεύσεως. Τα ζωικά προϊόντα που ως επί το πλείστον ενοχοποιούνται είναι: 1) το μοσχαρίσιο κρέας και διάφορα τρόφιμα που εμπεριέχουν το κρέας αυτό ως συστατικό τους, όπως π.χ. μπιφτέκια, κρεατόπιτες κ.τ.λ. (Riley et al, 1983, Ryan et al, 1986, Pavia et al, 1990, Roberts et al, 1995, Rodrigue et al, 1995), 2) το μη παστεριωμένο αγελαδινό γάλα, το οποίο μολύνεται



κατά τη διάρκεια της άμελης, όταν δεν τηρούνται οι απαραίτητοι κανόνες υγιεινής (Keene et al, 1997α, Mechie et al, 1997, Heuvelink et al, 1998β), 3) το σαλάμι (Center of Disease Control and Prevention, 1995), 4) το γιαούρτι (Morgan et al, 1993), 5) το ρολό γαλοπούλας (Salmon et al, 1989), 6) το γάλα αιγός και το τυρί (Deschenes et al, 1996, McIntyre et al, 2002), 7) τα λουκάνικα (WHO Surveillance Programme, 1996), 8) τα σάντουιτς κρεατικών (McDonnell, 1997), και 9) το κρέας ελαφιού (Keene et al, 1997β). Οι Doyle και Schoeni το 1987, υπολόγισαν την επίπτωση της *E. coli* O157:H7 στα διάφορα είδη κρέατος και βρήκαν ότι ο μικροοργανισμός απομονώθηκε στο βοδινό κρέας σε ποσοστό 3,7%, στο αρνίσιο κρέας 2%, στο χοιρινό 1,5% και στα πουλερικά 1,5%.

Τρόφιμα φυτικής προέλευσης που έχουν ενοχοποιηθεί για λοιμώξεις από *E. coli* O157:H7 είναι: οι πατάτες (Morgan et al, 1988), τα μαρούλια (Mermin et al, 1997), ο μη παστεριωμένος χυμός μήλου (Center of Disease Control and Prevention, 1996) και ο μηλίτης οίνος (Besser et al, 1993, Hilborn et al, 2000). Τα φυτικής προέλευσης τρόφιμα πιστεύεται ότι επιμολύνονται είτε από κόπρανα ζώων-φορέων, είτε κατά τα στάδια επεξεργασίας τους από μολυσμένο κρέας ή απαστερίωτο γάλα, εξαιτίας κακών χειρισμών ή μη τήρησης των κανόνων υγιεινής στις εγκαταστάσεις παραγωγής τους.

Η υδατογενής μετάδοση γίνεται με κατανάλωση πόσιμου μη χλωριωμένου νερού ή με κολύμβηση σε μολυσμένα νερά (λίμνες, ποτάμια). Η κατανάλωση μη χλωριωμένου νερού έχει προκαλέσει επιδημίες τόσο σε αναπτυσσόμενες χώρες της Αφρικής (Isaacs et al, 1993), όσο και σε αναπτυγμένες, όπως οι Η.Π.Α., - όπου 157 άτομα οδηγήθηκαν στο νοσοκομείο με συμπτώματα της νόσου μετά από κατανάλωση μη χλωριωμένου νερού από μικρές δεξαμενές (Olsen et al, 2002) - και η Ιαπωνία, - όπου μικρά παιδιά κατανάλωσαν νερό από πηγάδι και εμφάνισαν



συμπτώματα αιμορραγικής κολίτιδας (Akashi et al, 1994). Επίσης αναφέρεται ότι το κολύμπι σε μολυσμένα νερά, κυρίως λιμνών, προκάλεσε τη νόσο σε μεγάλο αριθμό λουόμενων (Keene et al, 1994, Ackman et al, 1997, Paunio et al, 1999). Η μόλυνση με *E. coli* O157:H7 των επιφανειακών υδάτων (λιμνών, ποταμών) οφείλεται στην απόρριψη ανθρώπινων ή ζωικών αποβλήτων σε αυτά.

- **Μετάδοση από άτομο σε άτομο**

Η μετάδοση από άτομο σε άτομο είναι δευτερογενής και γίνεται δια μέσω της πρωκτοστοματικής οδού. Μέχρι σήμερα, έχουν αναφερθεί περιστατικά μετάδοσης της νόσου σε νοσηλευτικό προσωπικό, που είχε έρθει σε επαφή με ασθενείς (Karmali et al, 1988), σε εργαζόμενους βρεφονηπιακών σταθμών και σε μέλη της ίδιας οικογένειας, όπου ένα μέλος νόσησε ύστερα από κατανάλωση μολυσμένου τροφίμου και στη συνέχεια εμφάνισαν τη νόσο και άλλα μέλη που δεν κατανάλωσαν το ύποπτο τρόφιμο (Belongia et al, 1993).

- **Μετάδοση στον άνθρωπο από ζώα-φορείς**

Η μετάδοση της νόσου από ζώα-φορείς μπορεί να προκληθεί από άμεση επαφή με τα ζώα αυτά ή με τα κόπρανά τους. Τα υγιή βοοειδή θεωρούνται δεξαμενή της *E. coli* O157:H7, ωστόσο πολλά είναι τα είδη ζώων που φέρουν το βακτηρίδιο αυτό στο γαστρεντερικό σωλήνα, χωρίς να εκδηλώσουν τη νόσο (Borzyck et al, 1987). Το 1992 στον Καναδά, ένα παιδί νόσησε από *E. coli* O157:H7 μετά από επαφή με μοσχάρια-φορείς (Renwick et al, 1994), ενώ αυξάνονται τέτοια περιστατικά μετάδοσης του μικροβίου σε άτομα που ήρθαν σε επαφή με ζώα-φορείς στη διάρκεια επίσκεψής τους σε πάρκα αγροτουρισμού (CDRWeekly, 1997, CDRWeekly, 1999α).



Το 1997 επίσης, ένας ιδιοκτήτης αλόγων στη Βρετανία μολύνθηκε από τον μικροοργανισμό ύστερα από επαφή με άλογο-φορέα (Chalmers et al, 1997).

2.5. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ-ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η παθογένεια της *E. coli* O157:H7 βασίζεται, κυρίως, στα εξής:

α) στην παραγωγή δύο τοξινών, τη Vero τοξίνη 1 και 2 (VT1 και VT2).

Ονομάζονται με τον τρόπο αυτό, διότι παρουσιάζουν κυτταροτοξική δράση στα Vero κύτταρα (νεφρικά κύτταρα) του πράσινου Αφρικανικού πιθήκου (Konowalchuk et al, 1977). Επιπλέον, καθώς έχουν μεγάλες ομοιότητες με την τοξίνη της *Shigella dysenteriae* τύπου 1, ονομάζονται και Shiga like τοξίνες (SLT1 και SLT2) ή Shiga τοξίνες (Stx1 και Stx2) (Calderwood et al, 1996).

Στη δράση των τοξινών αυτών οφείλεται τόσο η πρόκληση της αιμορραγικής διάρροιας, όσο και η θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια σε διάφορα όργανα (νεφροί, κεντρικό νευρικό σύστημα). Σε ό,τι αφορά την αιμορραγική διάρροια, οι τοξίνες παράγονται στα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου και στη συνέχεια, απελευθερώνονται από αυτά, προκαλώντας οίδημα, αιμορραγία και σχηματισμό ψευδομεμβρανών (Riley et al, 1983). Αλλά και η θρομβωτική μικροαγγειοπάθεια, που μπορεί να προκληθεί μετά από μόλυνση με *E. coli* O157:H7, αποδίδεται στη δράση των Shiga like τοξινών. Οι τοξίνες αυτές είναι δυνατό να προκαλέσουν βλάβες στα ενδοθηλιακά κύτταρα, τόσο του νεφρικού σπειράματος, όσο και του εγκεφάλου (Fujii et al, 1994, Louise και Obrig, 1995).

β) στην ικανότητα του βακτηρίου να προσκολλάται και να αποικίζει το εντερικό επιθήλιο.



Η προσκόλληση αυτή επιφέρει τη δημιουργία χαρακτηριστικών αλλοιώσεων του εντερικού σωλήνα, οι οποίες αναφέρονται στη βιβλιογραφία ως «attaching and effacing (A/E) αλλοιώσεις» (Tzipori et al, 1986). Η ικανότητα της *E. coli* O157:H7 να προσκολλάται στο εντερικό επιθήλιο οφείλεται στην παρουσία μίας πρωτεΐνης στην εξωτερική μεμβράνη του μικροβίου, της ιντιμίνης. Η πρωτεΐνη αυτή κωδικοποιείται χρωμοσωμικά από ένα γονίδιο που ονομάζεται *eae* (ονομασία προερχόμενη από τα αρχικά *E. coli* attaching and effacing) (Jerse et al, 1990).

Ο αποικισμός του εντερικού επιθηλίου από την *E. coli* O157:H7 επιφέρει σημαντικές αλλαγές στα κύτταρα του ξενιστή, όπως την αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυτταρικού ασβεστίου (Ca^{2+}). Η αύξηση αυτή οδηγεί, από τη μία πλευρά, στην καταστροφή των μικρολαχνών του εντέρου, και από την άλλη, στην αναστολή της απορρόφησης ιόντων νατρίου (Na^+) και χλωρίου (Cl^-), γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τη διαταραχή της διαπερατότητας του εντερικού επιθηλίου και την πρόκληση διάρροιας (Field et al, 1989, Baldwin et al, 1991).

2.6. ΛΟΙΜΟΓΟΝΟΣ ΔΟΣΗ ΚΑΙ ΠΑΘΟΓΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ

E. COLI O157:H7 ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

Η περίοδος επώασης για τη νόσο ποικίλλει από δύο έως επτά ημέρες (Riley et al, 1983). Όσο αφορά τη λοιμογόνο δόση της *E. coli* O157:H7, αυτή είναι πολύ μικρή, συγκεκριμένα 2-50 κύτταρα (Willshaw et al, 1994, Samadpour et al, 1994, Tilden et al, 1996), γι' αυτό, σύμφωνα με τη διεθνή νομοθεσία, το ασφαλές όριο επιμόλυνσης των τροφίμων από το μικροοργανισμό αυτό είναι μηδενικό (0 cfu/g).



Οι κλινικές εκδηλώσεις της μόλυνσης του ανθρώπου με *E. coli* O157:H7 είναι τέσσερις:

2.6.1. Ασυμπτωματική μόλυνση ή μη αιμορραγική διάρροια

Εκτιμάται ότι περίπου το 10% των κλινικά διαγνωσμένων περιστατικών μόλυνσης με *E. coli* O157:H7 εμφανίζονται με μη αιμορραγική διάρροια (Taḡt, 1995). Από την άλλη πλευρά, το ποσοστό των ατόμων που νοσούν ασυμπτωματικά είναι δύσκολο να προσδιοριστεί, καθώς τα άτομα αυτά σπανίως εξετάζονται εργαστηριακά.

2.6.2. Αιμορραγική κολίτιδα

Η αιμορραγική διάρροια αποτελεί το συχνότερο σύμπτωμα μόλυνσης από την *E. coli* O157:H7 και είναι αυτή που οδηγεί τους ασθενείς να αναζητήσουν ιατρική βοήθεια. Η διάρροια έχει διάρκεια τρεις έως 7,5 ημέρες, ενώ η αιμορραγική διάρροια δύο έως πέντε ημέρες (Griffin et al, 1988, Belongia et al, 1991). Άλλωστε, περίπου το 90-95% των ατόμων που μολύνονται με τον μικροοργανισμό εκδηλώνει αιμορραγική διάρροια (Karmali 1989). Η αιμορραγική κολίτιδα, συνήθως, είναι αυτοϊούμενη. Βέβαια, ένα ποσοστό ασθενών από 13% (Belongia et al, 1991) έως 73% (Riley et al, 1983) χρειάζεται νοσοκομειακή νοσηλεία. Οι περισσότεροι ασθενείς θεραπεύονται χωρίς κάποια ειδική φαρμακευτική αγωγή σε μία εβδομάδα και χωρίς να εμφανίσουν επιπλοκές. Ωστόσο ένα ποσοστό 6-8% των ασθενών, κυρίως ηλικιωμένοι και παιδιά, εμφανίζουν μια σοβαρότατη επιπλοκή, το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο (Rowe et al, 1991).

2.6.3. Αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο



Το αιμολυτικό ουραιμικό σύνδρομο χαρακτηρίζεται από μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία, θρομβοκυτταροπενία και οξεία νεφρική ανεπάρκεια και είναι πιο συχνό σε παιδιά ηλικίας κάτω των πέντε ετών. Το σύνδρομο αυτό περιγράφηκε ως νοσολογική οντότητα για πρώτη φορά από τον Ελβετό ερευνητή Gasser το 1955 και θεωρείται ότι οφείλεται σε διάφορα αίτια μη λοιμογόνα (κληρονομικότητα, ορισμένα φάρμακα, όγκοι, εγκυμοσύνη, μεταμόσχευση κ.α.) όσο και λοιμογόνα, όπως διαρροϊκά στελέχη της *E. coli*, *Shigella* spp, ως HIV.

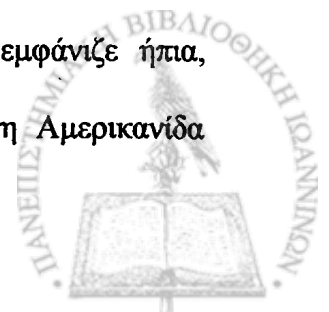
2.6.4. Θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα

Η θρομβωτική θρομβοπενική πορφύρα χαρακτηρίζεται από: θρομβοκυτταροπενία, μικροαγγειοπαθητική αιμολυτική αναιμία, πυρετό, νεφρική ανεπάρκεια και νευρολογικά συμπτώματα. Ασθενείς με αιμορραγική κολίτιδα σπάνια μπορεί να εμφανίσουν ως επιπλοκή το σύνδρομο αυτό (περίπου 8%) (Ostroff et al, 1990).

2.7. ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΙΣ *E. COLI* O157:H7 ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Κατά την πενταετία 1997-2001, στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων εξετάστηκαν 3040 δείγματα κοπράνων ασθενών με εντερίτιδα, από τα οποία απομονώθηκαν 270 βακτηριακά στελέχη, αλλά κανένα της *E. coli* O157:H7 (Χήτα και συν, 2002).

Σε μελέτη που αφορούσε 23.000 δείγματα κοπράνων, *E. coli* O157:H7 απομονώθηκε από ένα βρέφος ηλικίας εννέα μηνών το οποίο εμφάνιζε ήπια, βλεννώδη, μη αιμορραγική διάρροια, καθώς και από μία 23χρονη Αμερικανίδα



τουρίστρια με οξεία υδαρή διάρροια, με λευκοκύτταρα στα κόπρανα, αλλά χωρίς έμετο ή πυρετό (Kansouzidou et al, 1998). Άλλα δύο στελέχη του μικροοργανισμού απομονώθηκαν στο Νοσοκομείο Χατζηκώστα των Ιωαννίνων (Kansouzidou et al, 2001). Η *E. coli* O157:H7 αναζητήθηκε μαζί με άλλα συνήθη εντερικά παθογόνα στο προσωπικό και στο περιβάλλον του μαγειρείου ενός νοσοκομείου, αλλά ο μικροοργανισμός δεν απομονώθηκε (Αμπραχίμ και συν, 1997).

Στη διάρκεια 3ετούς έρευνας του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων εξετάστηκαν με τη μέθοδο της κλασικής καλλιέργειας 351 δείγματα κοπράνων ζώων (171 προβάτων, 81 αιγών και 99 αγελάδων) και απομονώθηκε ένα στέλεχος *E. coli* O157:H7 από κόπρανα αιγός. Το στέλεχος αυτό ανήκε στο φαγότυπο 14 και ήταν MUG-θετικό, μια ιδιαίτερη σπάνια βιοχημική ιδιότητα. Πρόκειται για την πρώτη απομόνωση της *E. coli* O157:H7 από ζώο στην Ελλάδα (Dontorou et al, 2004), δεδομένου ότι προηγηθείσα έρευνα του Κέντρου Αναφοράς της Θεσσαλονίκης σε 47 δείγματα κοπράνων από μοσχάρια, 100 από αγελάδες και 40 από κοτόπουλα δε βρέθηκε κανένα στέλεχος της *E. coli* O157:H7 (Κανσουζίδου και συν, 1994).

Η πρώτη απομόνωση της *E. coli* O157:H7 σε τρόφιμα στην Ελλάδα πραγματοποιήθηκε από το Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Συγκεκριμένα εξετάστηκαν 600 δείγματα τροφίμων ζωικής προέλευσης (100 δείγματα μη παστεριωμένου αγελαδινού γάλακτος, 100 δείγματα μη παστεριωμένου πρόβειου γάλακτος, 100 δείγματα μη παστεριωμένου γάλακτος αιγός, 61 σάντουιτς αλλαντικών, 50 χάμπουργκερς, 64 δείγματα μοσχαρίσιου κιμά, 75 χωριάτικα λουκάνικα και 50 δείγματα εντέρων χοίρων). Από την εξέταση των παραπάνω δειγμάτων απομονώθηκαν τρία στελέχη της *E. coli*



O157:H7, ένα από το πρόβειο γάλα, ένα από το χωριάτικο λουκάνικο και ένα από τα έντερα των χοίρων (Dontorou et al, 2003, Ντόντορου, 2003).

Σε προηγούμενη έρευνα που έγινε στη χώρα μας από το Ελληνικό Κέντρο Αναφοράς το 1994, κατά την εξέταση 70 δειγμάτων νοπού και 17 δειγμάτων καταψυγμένου κιμά, δεν απομονώθηκε κανένα στέλεχος *E. coli* O157:H7 (Κανσουζίδου και συν, 1994). Επίσης, η εξέταση 1267 δειγμάτων πόσιμου και τρεχούμενου νερού δεν οδήγησε στην απομόνωση του μικροοργανισμού (Arvanitidou et al, 1996).

2.8. *E. COLI* O157:H7 ΚΑΙ ΤΡΟΦΙΜΑ

2.8.1. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΤΗΣ *E. COLI* O157:H7 ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Για την ανίχνευση της *E. coli* O157:H7 στα τρόφιμα έχουν αναπτυχθεί και εφαρμόζονται διάφορες μέθοδοι, με κυριότερες αυτή της κλασικής καλλιέργειας και του ανοσομαγνητικού διαχωρισμού.

α) Απομόνωση της *E. coli* O157:H7 με τη μέθοδο της κλασικής καλλιέργειας

Για την απομόνωση της *E. coli* O157:H7 στα τρόφιμα απαιτούνται τόσο προεμπλουτιστικοί ζωμοί, όσο και εκλεκτικά υποστρώματα. Και αυτό διότι το ολικό μικροβιακό φορτίο των τροφίμων μπορεί να είναι μεγάλο, οπότε απαιτείται η χρησιμοποίηση υλικών ικανών να ανιχνεύσουν και να απομονώσουν τον μικροοργανισμό.



Ως προεμπλουτιστικό υλικό είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί το Tryptone Soya Broth εμπλουτισμένο με χολικά άλατα, όξινο φωσφορικό κάλιο και το αντιβιοτικό novobiocin, το οποίο βοηθά στην αναστολή της ανάπτυξης των άλλων Gram αρνητικών μικροοργανισμών (Doyle και Schoni, 1987). Άλλο προεμπλουτιστικό υλικό είναι το Buffered Peptone Water στο οποίο προσθέτονται vancomycin, cefixime και cefsulodin για την αναστολή της *Aeromonas* spp και του *Proteus* spp. (Chapman et al, 1994).

Για την καλλιέργεια της *E. coli* O157:H7 σε θρεπτικό άγαρ, χρησιμοποιείται το γνωστό για την καλλιέργεια των κολοβακτηριοειδών MacConkey άγαρ, στο οποίο έχει γίνει η αντικατάσταση της λακτόζης από τη D-σορβιτόλη (March και Ratman, 1986), καθώς η *E. coli* O157:H7 αδυνατεί να ζυμώσει τη σορβιτόλη. Το παραπάνω υπόστρωμα είναι δυνατόν να εμπλουτιστεί με τα αντιβιοτικά cefixime και tellurite, τα οποία αναστέλλουν βακτήρια, τα οποία, όπως η *E. coli* O157:H7, δεν ζυμώνουν τη σορβιτόλη. Ειδικότερα, αναστέλλουν τα: *Aeromonas* spp, *Plesiomonas* spp, *Morganella morganii*, *Providencia* spp και *Hafnia alvei* (Zadik et al, 1993) Τέλος, στο εμπόριο κυκλοφορεί το Sorbitol MacConkey άγαρ με την προσθήκη του 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide (MUG). Σε αντίθεση με τα περισσότερα στελέχη της *E. coli*, ο ορότυπος *E. coli* O157:H7, εξαιτίας της έλλειψης του ενζύμου β-D-γλουκουρονιδάση, δεν έχει την ικανότητα να διασπάσει το MUG που περιέχεται στο υπόστρωμα αυτό, και επομένως ούτε να παράγει το φθορίζον προϊόν αυτής της διάσπασης (Padhye και Doyle, 1991α).

β) Απομόνωση της *E. coli* O157:H7 με τη μέθοδο του ανοσομαγνητικού
διαχωρισμού



Η μέθοδος αυτή περιγράφηκε και εφαρμόστηκε σε τρόφιμα για πρώτη φορά από τους Fratamico και συν το 1992. Είναι μία μέθοδος που αυξάνει την ευαισθησία ως προς την ανίχνευση της *E. coli* O157:H7 στα τρόφιμα. Σύμφωνα με τους Wright και συν (1994) είναι 100 φορές πιο ευαίσθητη από την κλασική καλλιέργεια.

Η μέθοδος βασίζεται στην προσθήκη μέσα στο προεμπλουτιστικό υλικό που περιέχει το εξεταζόμενο δείγμα τροφίμου, παραμαγνητικών σωματιδίων καλυμμένων με αντισώματα ειδικά για την *E. coli* O157:H7. Τα κύτταρα της *E. coli* O157:H7 που ενδεχομένως υπάρχουν στο τρόφιμο, δεσμεύονται στο αντίσωμα και το σύμπλοκο αντιγόνου-αντισώματος απομακρύνεται με την εφαρμογή μαγνητικού πεδίου (Fratamico et al, 1992).

Επιγραμματικά, εκτός από τις παραπάνω μεθόδους ανίχνευσης της *E. coli* O157:H7 υπάρχουν και άλλες που βασίζονται είτε στην αντίδραση αντιγόνου-αντισώματος [συγκόλληση με σωματίδια latex καλυμμένα με αντιγόνο (March και Ratman, 1989), ELISA (Padhye και Doyle, 1991α), χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων (Padhye και Doyle, 1991β)], είτε στο DNA του βακτηριδίου [χρήση ανιχνευτών DNA (Levine et al, 1987), PCR (Fratamico et al, 1995)], είτε στις παραγόμενες τοξίνες και των γονιδίων αυτών [κυτταροκαλλιέργεια (Smith και Scotland, 1993), αντιγόρος για τοξίνες (Scotland et al, 1988), ELISA (Acheson et al, 1990), PCR (Read et al, 1992)]. Ο έλεγχος στα Εργαστήρια Αναφοράς πραγματοποιείται με τη μέθοδο της φαγοτυπίας (Ahmed et al, 1987), με πλασμαδιακή ανάλυση (Scotland et al, 1987), ή με ηλεκτροφόρηση σε παλλόμενο πεδίο (Harsono et al, 1993).



2.8.2. *E. COLI* O157:H7 ΚΑΙ ΜΕΤΡΑ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΣΤΗ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

Στη βιομηχανία τροφίμων πολλές είναι οι μέθοδοι, αλλά και τα υλικά που χρησιμοποιούνται, τόσο για να καταστρέψουν παθογόνους και μη μικροοργανισμούς, που βρίσκονται στο τρόφιμο, όσο και για να αποτρέψουν την επιμόλυνσή του, κατά την περαιτέρω διακίνηση και συντήρησή του. Ωστόσο, είναι φορές που η επιλεγόμενη μέθοδος αποβαίνει ανίκανη να φονεύσει την *E. coli* O157:H7. Γι' αυτό είναι σκόπιμο να αναφερθούν ορισμένα χαρακτηριστικά του μικροβίου, αναφορικά με την ανθεκτικότητα ή μη που παρουσιάζει στις συνήθεις τεχνικές επεξεργασίας των τροφίμων.

α) Θερμοκρασία

Η *E. coli* O157:H7 αναπτύσσεται σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών, από 10°C έως 44°, ενώ κάποια στελέχη της έχουν την ικανότητα να αναπτυχθούν ακόμη και στους 8°C (Palumbo et al, 1995). Ωστόσο, παρουσιάζει αδυναμία ανάπτυξης σε θερμοκρασίες από 44°C έως 45,5°C (Doyle και Schoeni, 1984). Είναι μια ιδιότητα ιδιαίτερα σημαντική, δεδομένου ότι στις περισσότερες αναζητήσεις κολοβακτηριοειδών στα τρόφιμα χρησιμοποιούνται αυτές οι θερμοκρασίες (Raghubeer και Matches, 1990).

Θεωρείται ως θερμοευαίσθητος μικροοργανισμός με καμία ιδιαίτερη αντοχή στις θερμοκρασίες, που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα για την καταστροφή των μικροβίων. Γενικά, θέρμανση ενός τροφίμου στους 68,3°C για 16,2 δευτερόλεπτα καταστρέφει την *E. coli* O157:H7 (Meng και Doyle, 1998). Άλλωστε, ο Οργανισμός



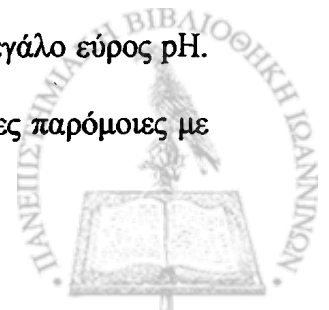
Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α (FDA) συνιστά τη θέρμανση του μοσχαρίσιου κιμά στους 68,5°C (εσωτερική θερμοκρασία) για 15 δευτερόλεπτα (FDA Food Code, 1997).

Όσον αφορά την καταστροφή του μικροοργανισμού στα διάφορα είδη κρεάτων, αυτή επιτυγχάνεται μετά από θέρμανση με εσωτερική θερμοκρασία 65°C: σε 1,45 λεπτά στο κρέας γαλοπούλας, σε 1,90 λεπτά στο αρνίσιο κρέας και σε 1,6 λεπτά στο χοιρινό (Juneja και Marner, 1999), σε 7,25 λεπτά στο μοσχαρίσιο κρέας και σε 2,6 λεπτά στο κοτόπουλο (Juneja et al, 1997). Αλλά και η θέρμανση των αλλαντικών στους 58,3°C για 61,3 λεπτά ή στους 61°C για 17,9 λεπτά προκαλεί μείωση του πληθυσμού της *E. coli* O157:H7 κατά 5-log₁₀ (Riordan et al, 2000).

Σχετικά με την ανθεκτικότητα που παρουσιάζει η *E. coli* O157:H7 στις χαμηλές θερμοκρασίες έχει παρατηρηθεί ότι, στο ωμό βόειο κρέας και στο γάλα, η *E. coli* O157:H7 επιζεί στους 7°C και στους 15°C για περισσότερες από πέντε ημέρες (Heuvelink et al, 1998β). Επιπλέον, επιζεί στους 8°C για 10-31 ημέρες στο μηλίτη οίνο (Zhao et al, 1993) και στους 5°C για περίπου τρεις ημέρες σε σαλάτες με μαγιονέζα (Abdul-Raouf et al, 1993). Επίσης επιβιώνει στη μαγιονέζα για 35 ημέρες στους 7°C και για τρεις ημέρες στους 25°C (Weagant et al, 1994). Τέλος, είναι ανθεκτική στην κατάψυξη, καθώς μπορεί να επιζήσει χωρίς σημαντική μείωση του πληθυσμού της στους -20°C έως τους -80°C για εννέα μήνες (Doyle και Schoeni, 1984).

β) pH

Το ιδανικό pH για το χρόνο διπλασιασμού της *E. coli* O157:H7 σε 25 λεπτά είναι 7,3. Ωστόσο μπορεί να επιζήσει, αλλά και να αναπτυχθεί, σε μεγάλο εύρος pH. Έχει την ικανότητα να επιζεί σε χαμηλό pH και μάλιστα σε συνθήκες παρόμοιες με



εκείνες του ανθρώπινου γαστρεντερικού σωλήνα (37°C), κι αυτό επεξηγεί την ικανότητα επιβίωσης αλλά και πρόκλησης της νόσου με μικρή λοιμογόνο δόση, στον ανθρώπινο οργανισμό (Benjamin και Datta, 1995).

γ) Τροποποιημένη ατμόσφαιρα

Δυστυχώς η εφαρμογή της τροποποιημένης ατμόσφαιρας σε διάφορα ήδη τροφίμων δεν θεωρείται αποτελεσματική στην αναστολή ανάπτυξης της *E. coli* O157:H7. Έξι μείγματα αερίων που χρησιμοποίησαν οι Hao και Brackett (1993) σε διάφορες θερμοκρασίες δεν κατάφεραν να μειώσουν το πληθυσμό της *E. coli* O157:H7.

δ) Οξέα –Συντηρητικά

Η χρήση του οξικού οξέος αποβαίνει αποτελεσματική στην καταστροφή της *E. coli* O157:H7. Μικρότερη αποτελεσματικότητα παρουσιάζουν το γαλακτικό και το κιτρικό οξύ (Abdul-Raouf et al, 1993). Η δράση των οργανικών οξέων στην καταστροφή του μικροοργανισμού εξαρτάται από το pH αλλά και από τη θερμοκρασία του τροφίμου.

Η χρήση του βενζοϊκού νατρίου 0,1%, ή ο συνδυασμός 0,1% βενζοϊκού νατρίου και 0,1% σορβικού καλίου ως συντηρητικών θεωρείται ασφαλής για το τρόφιμο, όσον αφορά την καταστροφή της *E. coli* O157:H7 (Zhao et al, 1993). Το ίδιο αποτελεσματικός θεωρείται ο συνδυασμός σε λουκάνικα 3,5% χλωριούχου νατρίου και 69 ppm νιτρικού νατρίου σε pH 4,8 και θερμοκρασία 4°C (Glass et al, 1992).

ε) Χλωριούχο νάτριο



Σε αντίθεση με άλλα παθογόνα, όπως η *Listeria monocytogenes* και ο *Staphylococcus aureus*, τα οποία επιζούν και αναπτύσσονται παρουσία χλωριούχου νατρίου, η *E. coli* O157:H7 δεν παρουσιάζει ιδιαίτερη ανθεκτικότητα ως προς αυτό. Μάλιστα, έχει αποδειχθεί, ότι δεν μπορεί να αναπτυχθεί σε συγκεντρώσεις χλωριούχου νατρίου μεγαλύτερες από 8,5% (Glass et al, 1992).

στ) Ζύμωση και ξήρανση

Διάφορα είδη τροφίμων, όπως τα λουκάνικα, όταν υφίστανται τις διαδικασίες ζύμωσης και ξήρανσης, αλλά δεν θερμαίνονται σε ικανοποιητικό βαθμό είναι δυνατόν να φέρουν ακόμη ζωντανά κύτταρα *E. coli* O157:H7. Σε έρευνα των Glass και συν. (1992), διαπιστώθηκε, ότι ο πληθυσμός της *E. coli* O157:H7 μειώθηκε μόνο κατά 1-2 log₁₀ cfu/g σε λουκάνικα, τα οποία υπέστησαν ζύμωση, αποξήρανση και συντήρηση στους 4°C για δύο μήνες. Σε άλλη έρευνα, η *E. coli* O157:H7 επέζησε κατά τη διαδικασία ζύμωσης του γιαουρτιού, που πραγματοποιήθηκε στους 42°C για πέντε ώρες και κατόπιν, συντηρήθηκε στους 4°C για μία εβδομάδα (Mass et al, 1997).

ζ) Ακτινοβολία

Η χρήση της ακτινοβολίας θεωρείται μία αποτελεσματική μέθοδος για την καταστροφή της *E. coli* O157:H7. Οι Thayer και Boyd (1993) διαπίστωσαν, ότι η γ-ακτινοβολία σε δόσεις μεταξύ 1,5 και 3,0 kGy είναι πολύ αποτελεσματική στην καταστροφή του μικροοργανισμού σε μοσχαρίσιο κιμά και αποστεωμένο κρέας κοτόπουλου.



ΕΠΙΣΗΜΟ

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΗΣ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗΣ ΚΑΙ ΚΟΙΝΩΝΙΚΗΣ ΣΥΝΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΕΚΔΕΙΝΕΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΕΚΔΕΙΝΕΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΕΚΔΕΙΝΕΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ

ΕΙΣ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΕΚΔΕΙΝΕΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΕΚΔΕΙΝΕΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΕΚΔΕΙΝΕΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ ΕΚΔΕΙΝΕΙ ΤΟΝ ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΟΜΩΝ ΤΩΝ ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΕΩΝ ΤΗΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΗΣ ΚΟΙΝΩΝΙΑΣ



3. ΣΚΟΠΟΣ

Η χρήση των φούρνων μικροκυμάτων για τη θέρμανση κατεψυγμένων προμαγειρευμένων φαγητών, αλλά και για το μαγείρεμα νωπών προϊόντων, αποτελεί πλέον κοινή πρακτική την τελευταία 15ετία. Ωστόσο, έχει κατά καιρούς τεθεί υπό αμφισβήτηση η μικροβιολογική ασφάλεια των τροφίμων, που υφίστανται θερμική επεξεργασία με μικροκύματα, ενώ παράλληλα η παθογόνος δράση της *E. coli* O157:H7 έχει συσχετιστεί με την κατανάλωση ατελώς θερμασμένων γευμάτων ζωικής προελεύσεως.

Σκοπός της πειραματικής αυτής εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης των μικροκυμάτων στην επιβίωση της *E. coli* O157:H7. Συγκεκριμένα, ελέγχθηκε η επίδραση των μικροκυμάτων στην επιβίωση της *E. coli* O157:H7, αφενός μεν σε καλλιεργητικό εναιώρημα, αφετέρου δε σε ορισμένα τρόφιμα ζωικής προέλευσης, όπως γάλα, μοσχαρίσιο κιμά, μερίδες κοτόπουλου και ολόκληρα κοτόπουλα, τα οποία μολύνθηκαν πειραματικά. Επιπλέον, στο καλλιεργητικό εναιώρημα και στο γάλα συγκρίθηκε η επιβίωση του μικροοργανισμού μετά από μικροκυματισμό και μετά από κλασικό βρασμό.



4. ΥΛΙΚΟ

4.1. Φούρνος μικροκυμάτων

Δύο φούρνοι μικροκυμάτων χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνα που πραγματοποιήθηκε. Ειδικότερα, στα πειράματα που αφορούσαν το μικροβιακό εναιώρημα, το γάλα, το μοσχαρίσιο κιμά και τις μερίδες κοτόπουλο χρησιμοποιήθηκε ένας οικιακός φούρνος μικροκυμάτων, της εταιρίας SHARP, μοντέλο R-7280, συχνότητας 2450 MHz και μέγιστης ισχύος 650 W. Στην περίπτωση των ολόκληρων κοτόπουλων χρησιμοποιήθηκε ένας άλλος οικιακός φούρνος μικροκυμάτων πάλι της εταιρίας SHARP, μοντέλο R-204, συχνότητας 2450 MHz και μέγιστης ισχύος 800 W.

4.2. Μικροβιακό στέλεχος

Επιλέχθηκε ένα στέλεχος της *E. coli* O157:H7 το οποίο είχε απομονωθεί από τρόφιμο (χωριάτικο λουκάνικο) στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, στη διάρκεια 3ετούς έρευνας του επιπολασμού του μικροοργανισμού σε τρόφιμα. Πρόκειται για ένα στέλεχος σορβιτόλη-αρνητικό, MUG-αρνητικό, που παράγει τις βεροτοξίνες VT1 και VT2 και ανήκει στο φαγότυπο 21. Η συντήρηση του στελέχους γινόταν σε κεκλιμένο άγαρ TSA (Tryptic Soy Agar, Merck) σε εργαστηριακό ψυγείο στους 4°C. Κάθε τέσσερις εβδομάδες πραγματοποιούνταν νέα ενοφθαλμίσματα σε κεκλιμένα άγαρ TSA, ούτως ώστε να διατηρηθεί το στέλεχος ζωντανό. Οι καλλιέργειες ελεγχόταν βιοχημικά με API 20E και ορολογικά με τη χρήση σωματιδίων latex καλυμμένων με αντιγόνο, ειδικό για την *E. coli* O157:H7 (Oxoid DR 620M).



4.3. Θερμόμετρα

Σε όλα τα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν ψηφιακά θερμόμετρα, κατάλληλα για τρόφιμα. Ειδικότερα, στα πειράματα με το μικροβιακό εναιώρημα, το γάλα, τον κιμά και τις μερίδες του κοτόπουλου χρησιμοποιήθηκε θερμόμετρο της εταιρίας MultiCal (WTW, pH Meter, pH 526, Multical, Germany) που έφερε ανοξειδωτή ακίδα κατάλληλη για τη θερμομέτρηση τροφίμων. Σε ό,τι αφορά το πείραμα με τα ολόκληρα κοτόπουλα, οι διάφορες θερμομετρήσεις πραγματοποιήθηκαν με θερμόμετρα Checktemp της εταιρίας Hanna (Italy), τα οποία έφεραν και αυτά αντίστοιχη ακίδα.

4.4. Ζυγός

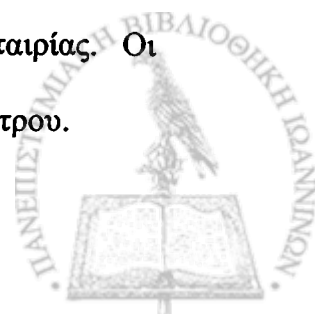
Για τη ζύγιση των τροφίμων χρησιμοποιήθηκε εργαστηριακός ζυγός ακριβείας της εταιρίας Kern (Germany), μοντέλο 434-23.

4.5. Νωπά προϊόντα

Τα διάφορα προϊόντα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα προήλθαν από σούπερ-μάρκετ των Ιωαννίνων. Η μεταφορά τους γινόταν σε ισόθερμα κιβώτια με πάγο και η διάρκειά της δεν ξεπερνούσε τη μισή ώρα. Κατά την άφιξη στο εργαστήριο αποθηκεύονταν σε εργαστηριακό ψυγείο στους 4°C για 24 ώρες, οπότε και πραγματοποιούνταν οι διάφοροι πειραματισμοί.

Γάλα

Χρησιμοποιήθηκε παστεριωμένο αγελαδινό γάλα, γνωστής εταιρίας. Οι συσκευασίες που περιείχαν το γάλα, ήταν χάρτινες, χωρητικότητας ενός λίτρου.



Κιμάς

Χρησιμοποιήθηκε κιμάς από φρέσκο κρέας μόσχου, ο οποίος προερχόταν πάντοτε από το ίδιο σημείο του ζώου (μηρός).

Μερίδες κοτόπουλου

Οι μερίδες του κοτόπουλου προέρχονταν από νωπό προϊόν γνωστής εταιρίας και από το ίδιο σημείο του πουλερικού και, πιο συγκεκριμένα, από το στήθος.

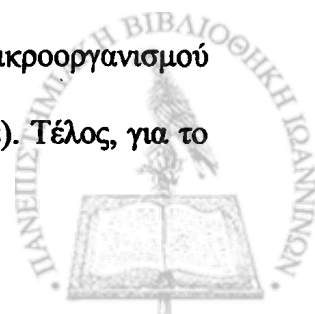
Κοτόπουλο

Χρησιμοποιήθηκαν ολόκληρα νωπά κοτόπουλα μικρού μεγέθους γνωστής εταιρίας, περίπου 1300 γραμμαρίων.

4.6. Συσκευές - Υάλινα - Αναλώσιμα

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν γυάλινες κωνικές φιάλες χωρητικότητας 100 mL έως 1 L, ογκομετρικοί κύλινδροι χωρητικότητας από 100 mL έως 500 mL, καθώς και ποτήρια ζέσεως των 100 mL. Για την παρασκευή των αραιώσεων χρησιμοποιήθηκαν αυτόματα σιφόνια ρυθμιζόμενου όγκου τύπου Clinipette (Clinicon Mannheim GMBH) 1 μl έως 1 mL και αντίστοιχα αποστειρωμένα πλαστικά ρύγχη μιας χρήσης. Χρησιμοποιήθηκαν επίσης και αποστειρωμένα γυάλινα σιφόνια χωρητικότητας 1-10 mL.

Η ομογενοποίηση των τροφίμων γινόταν σε ειδικές σακούλες (Lab-system circulator, model 400 bags 6141), που τοποθετούνταν σε συσκευή τύπου stomacher (BagMixer-Inerscience). Για την καλλιέργεια του μικροοργανισμού χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία (petri) διαμέτρου 10 cm (Vive-Anapliotis). Τέλος, για το



βρασμό του καλλιεργητικού εναιωρήματος και του γάλακτος χρησιμοποιήθηκε μια συσκευή υγραερίου (Bunsen).

4.7. Θρεπτικά υλικά

4.7.1 Ζωμοί

Tryptic Soy Broth (TSB)

Ο ζωμός αυτός, του οίκου Merck, έχει την παρακάτω σύσταση (σε g/L):

Πεπτόνη από καζεΐνη 17,0

Πεπτόνη από σόγια 3,0

D+ Γλυκόζη 2,5

Χλωριούχο νάτριο 5

Όξινο φωσφορικό κάλιο 2,5

Το pH του ζωμού ήταν $7,3 \pm 0,2$ στους 25°C . Για την παρασκευή του αναμιγνύονταν 30 g έτοιμης σκόνης σε 1 L αποσταγμένου νερού, ακολουθούσε θέρμανση υπό ανάδευση μέχρι πλήρους διαλύσεως και αποστείρωση σε αυτόκαυστο στους 121°C για 15 λεπτά.

MacConkey Broth

Ο ζωμός αυτός, του οίκου Merck, έχει την παρακάτω σύσταση (σε g/L):

Πεπτόνη από καζεΐνη 20,0

Λακτόζη 10,0

Χολικά άλατα 5,0

Bromocresol purple 0,01

Το pH του ζωμού ήταν $7,1 \pm 0,2$ στους 25°C . Για την παρασκευή του αναμιγνύονταν 35 g έτοιμης σκόνης σε 1 L αποσταγμένου νερού, ακολουθούσε



θέρμανση υπό ανάδευση μέχρι πλήρους διαλύσεως και αποστείρωση σε αυτόκαυστο στους 121°C για 15 λεπτά.

Peptone Water

Ο ζωμός αυτός, του οίκου Merck, έχει την παρακάτω σύσταση (σε g/L):

Διάφορες πεπτόνες 10,0

Χλωριούχο νάτριο 5,0

Phosphate buffer 10,5

Το pH του ζωμού ήταν $7,2\pm 0,2$ στους 25°C. Για την παρασκευή του αναμιγνύονταν 25,5 g έτοιμης σκόνης σε 1 L αποσταγμένου νερού, ακολουθούσε θέρμανση υπό ανάδευση μέχρι πλήρους διαλύσεως και αποστείρωση σε αυτόκαυστο στους 121°C για 15 λεπτά.

Nutrient Broth

Ο ζωμός αυτός, του οίκου Merck, έχει την παρακάτω σύσταση (σε g/L):

Πεπτόνη από κρέας 5,0

Meat extract 3,0

Το pH του ζωμού ήταν $7,0\pm 0,2$ στους 25°C. Για την παρασκευή του αναμιγνύονταν 8 g έτοιμης σκόνης σε 1 L αποσταγμένου νερού, ακολουθούσε θέρμανση υπό ανάδευση και αποστείρωση σε αυτόκαυστο στους 121°C για 15 λεπτά.

4.7.2 Στερεά υποστρώματα

Tryptic Soy Agar (TSA)

Το στερεό αυτό υπόστρωμα, του οίκου Merck, έχει την παρακάτω σύσταση (σε g/L):



Πεπτόνη από καζεΐνη 15,0

Πεπτόνη από σόγια 5,0

Χλωριούχο νάτριο 5,0

Άγαρ 15,0

Το pH του υποστρώματος ήταν $7,1 \pm 0,2$. Για την παρασκευή ενός λίτρου από το παραπάνω θρεπτικό υπόστρωμα προσθέτονταν 40 g έτοιμης σκόνης σε 1 L αποσταγμένου νερού και ακολουθούσε θέρμανση υπό ανάδευση μέχρι πλήρους διάλυσης και αποστείρωση σε αυτόκαυστο στους 121°C για 15 λεπτά.

MacConkey Agar

Το στερεό αυτό υπόστρωμα, του οίκου Merck, έχει την παρακάτω σύσταση (σε g/L):

Πεπτόνη από καζεΐνη 17,0

Πεπτόνη από κρέας 3,0

Χλωριούχο νάτριο 5,0

Λακτόζη 10,0

Χολικά άλατα 1,5

Ουδέτερο ερυθρό 0,03

Κρυσταλλικό ιώδες 0,001

Άγαρ 13,5

Το pH του υποστρώματος ήταν $7,1 \pm 0,2$. Για την παρασκευή ενός λίτρου από το παραπάνω θρεπτικό υπόστρωμα προσθέτονταν 50 g έτοιμης σκόνης σε 1 L αποσταγμένου νερού και ακολουθούσε θέρμανση υπό ανάδευση μέχρι πλήρους διάλυσης και αποστείρωση σε αυτόκαυστο στους 121°C για 15 λεπτά.



Fluorocult Agar

Το στερεό αυτό υπόστρωμα, του οίκου Merck, έχει την παρακάτω σύσταση

(σε g/L):

Πεπτόνη από καζεΐνη 20,0

Meat extract 2,0

Yeast extract 1,0

Χλωριούχο νάτριο 5,0

Σορβιτόλη 10,0

Διοξυχολικό νάτριο 1,12

Sodium thiosulfate 2,0

Ferric ammonium citrate (III) 0,5

Άγαρ-άγαρ 13,0

4-methyl-β-D-glucuronide 0,1

Bromothymol blue 0,025

Το pH του υποστρώματος ήταν $7,4 \pm 0,2$. Για την παρασκευή ενός λίτρου από το παραπάνω θρεπτικό υπόστρωμα προσθέτονταν 55 g έτοιμης σκόνης σε 1 L αποσταγμένου νερού και ακολουθούσε θέρμανση υπό ανάδευση μέχρι πλήρους διάλυσης και αποστείρωση σε αυτόκαυστο στους 121°C για 15 λεπτά.



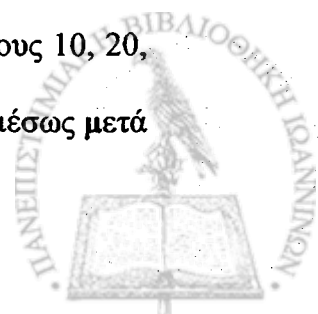
5. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στην παρούσα πειραματική μελέτη πραγματοποιήθηκαν πέντε (5) πειράματα:

5.1. 1^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων και του βρασμού σε καθαρό καλλιέργημα *E. coli* O157:H7

Την ημέρα έναρξης των πειραματισμών 0,01 mL από το στέλεχος *E. coli* O157:H7 ενοφθαλμιζόταν σε 10 mL ζωμού TSB με τη βοήθεια κρικοφόρου στυλεού. Ακολουθούσε επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες. Την επομένη μεταφερόταν ποσότητα 1 mL από το ζωμό TSB σε 250 mL MacConkey broth, το οποίο και επωαζόταν στους 37°C για 18-24 ώρες. Το εναιώρημα αυτό της *E. coli* O157:H7 είχε συγκέντρωση 10^6 - 10^7 cfu/mL. Η συγκέντρωση μετρήθηκε με τη μέθοδο της επιφανειακής καταμέτρησης σε άγαρ (Surface Plate Count Method), η οποία γίνεται με διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις. Συγκεκριμένα, γίνονταν 8 διαδοχικές αραιώσεις σε PW του εναιωρήματος σε MacConkey broth, στη συνέχεια πραγματοποιούταν επίστρωση 0,1 mL από κάθε αραιώση σε τρυβλία με MacConkey agar, τα τρυβλία επωάζονταν στους 37°C για 18-24 ώρες και ακολουθούσε καταμέτρηση των αποικιών.

Ακολούθως, γινόταν διανομή του μικροβιακού εναιωρήματος σε πέντε ποτήρια ζέσεως των 100 mL, στο καθένα από τα οποία προσθέτονταν 50 mL. Στη συνέχεια, πραγματοποιούταν μικροκυματισμός των τεσσάρων καλλιεργημάτων των 50 mL (αφού πρώτα καταγραφόταν η αρχική τους θερμοκρασία) για χρόνους 10, 20, 30, 40 sec στο φούρνο μικροκυμάτων που λειτουργούσε σε πλήρη ισχύ. Αμέσως μετά



τον μικροκυματισμό το καλλιέργημα αναδεύεται και γίνεται καταμέτρηση της θερμοκρασίας. Ακολουθούσε καταμέτρηση της συγκέντρωσης του μικροοργανισμού με σειρά από οκτώ διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις του μικροκυματιζόμενου εναιωρήματος των 50 mL σε PW, επίστρωση 0,1 mL από κάθε αραιώση σε Fluorocult agar και επώαση των τρυβλίων στους 37°C για 18-24 ώρες.

Το πέμπτο ποτήρι ζέσεως με το μικροβιακό εναιώρημα των 50 mL τοποθετούταν πάνω σε λυχνία Bunsen, γινόταν εμβάπτιση της ακίδας του θερμομέτρου στο εναιώρημα και καταγραφόταν η θερμοκρασία. Με την τοποθέτηση του εναιωρήματος στη λυχνία Bunsen ξεκινούσε χρονομέτρηση. Με τον τρόπο αυτόν καταγραφόταν οι χρόνοι που απαιτούνταν για να επιτευχθούν οι θερμοκρασίες που επιτυγχάνονταν στους χρόνους 10, 20, 30, 40 sec κατά τον μικροκυματισμό. Κάθε φορά που καταγραφόταν θερμοκρασία αντίστοιχη του μικροκυματισμού, λαμβανόταν από το εναιώρημα ποσότητα 1 mL, από το οποίο ξεκινούσαν διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις σε PW, επίστρωση σε Fluorocult agar και επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες.

Την επομένη πραγματοποιούταν καταμέτρηση των τυπικών αποικιών, τόσο του αρχικού καλλιέργηματος, όσο και αυτών που μικροκυματίστηκαν ή υπέστησαν τη διαδικασία του βρασμού.

Όλοι οι παραπάνω πειραματισμοί έγιναν εις τριπλούν για τον έλεγχο της ακρίβειας και της επαναληψιμότητάς τους.

5.2. 2^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων και του βρασμού σε γάλα μολυσμένο με *E. coli* O157:H7

Την ημέρα έναρξης των πειραματισμών 0,01 mL από το στέλεχος *E. coli* O157:H7 ενοφθαλμιζόταν σε 10 mL ζωμού TSB με τη βοήθεια κρικοφόρου στυλεού.

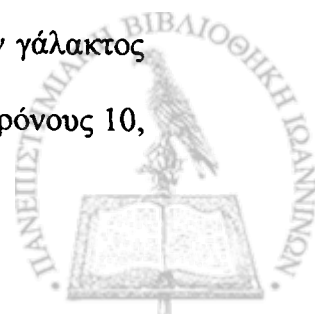


Ακολουθούσε επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες. Την επομένη μεταφερόταν ποσότητα 1 mL από το ζωμό TSB σε 250 mL MacConkey broth, το οποίο και επωαζόταν στους 37°C για 18-24 ώρες. Το εναιώρημα αυτό της *E. coli* O157:H7 είχε συγκέντρωση 10^6 - 10^7 cfu/mL. Η συγκέντρωση μετρήθηκε με τη μέθοδο της επιφανειακής καταμέτρησης σε άγαρ (Surface Plate Count Method), η οποία γίνεται με διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις. Συγκεκριμένα, γίνονταν 8 διαδοχικές αραιώσεις σε PW του εναιωρήματος σε MacConkey broth, στη συνέχεια πραγματοποιούταν επίστρωση 0,1 mL από κάθε αραιώση σε τρυβλία με MacConkey agar, τα τρυβλία επωάζονταν στους 37°C για 18-24 ώρες και ακολουθούσε καταμέτρηση των αποικιών.

Παράλληλα, επιστρωνόταν ποσότητα του 0,1 mL από το παστεριωμένο αγελαδινό γάλα, που επρόκειτο να χρησιμοποιηθεί στους πειραματισμούς, σε Fluorocult agar και επώαση του τρυβλίου στους 37°C για 18-24 ώρες, για να διαπιστωθεί μήπως τυχόν ήταν ήδη επιμολυσμένο από την *E. coli* O157:H7. Σε καμία περίπτωση δεν παρατηρήθηκε επιμόλυνση από το μικροοργανισμό αυτό.

Ακολούθως, 900 mL γάλακτος μολύνονταν με 100 mL από τα 250 mL του αρχικού μικροβιακού εναιωρήματος και αναδεύονταν με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα. Από το μολυσμένο αυτό γάλα πραγματοποιούνταν διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις (μέχρι και 8) σε PW, επίστρωση από αυτές 0,1 mL σε Fluorocult agar και επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες. Με τη διαδικασία αυτή γινόταν γνωστή η συγκέντρωση του μικροβίου στο μολυσμένο γάλα. Στη συνέχεια, διανέμονταν τα 900 mL μολυσμένου γάλακτος σε ποτήρια ζέσεως των 100 mL, το καθένα από τα οποία περιείχε 50 mL γάλατος.

Στη συνέχεια, πραγματοποιούνταν μικροκυματισμός έξι διαλυμάτων γάλακτος των 50 mL (αφού πρώτα καταγραφόταν η αρχική τους θερμοκρασία) για χρόνους 10,



20, 30, 35, 40 και 50 sec στο φούρνο μικροκυμάτων που λειτουργούσε σε πλήρη ισχύ. Αμέσως μετά τον μικροκυματισμό το γάλα αναδεύονταν και γινόταν καταμέτρηση της θερμοκρασίας. Ακολουθούσε καταμέτρηση της συγκέντρωσης του μικροοργανισμού με σειρά από οκτώ διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις του μικροκυματιζόμενου γάλακτος των 50 mL σε PW, επίστρωση 0,1 mL από κάθε αραιώση σε Fluorocult agar και επώαση των τριβλίων στους 37°C για 18-24 ώρες.

Ένα άλλο ποτήρι ζέσεως με το γάλα των 50 mL τοποθετούταν επάνω σε λυχνία Bunsen, γινόταν εμβάπτιση της ακίδας του θερμομέτρου στο διάλυμα αυτό και καταγραφόταν η θερμοκρασία. Με την τοποθέτηση του γάλακτος στη λυχνία Bunsen ξεκινούσε χρονομέτρηση. Με τον τρόπο αυτό καταγραφόταν οι χρόνοι που απαιτούνταν για να επιτευχθούν οι θερμοκρασίες που επιτυγχάνονταν στους χρόνους 10, 20, 30, 35, 40 και 50 sec κατά τον μικροκυματισμό. Κάθε φορά που καταγραφόταν θερμοκρασία αντίστοιχη του μικροκυματισμού, λαμβανόταν από το γάλα ποσότητα 1 mL από το οποίο ξεκινούσαν διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις σε PW, επίστρωση σε Fluorocult agar και επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες.

Την επομένη πραγματοποιούνταν καταμέτρηση των αποικιών, τόσο του αρχικού διαλύματος γάλακτος, όσο και αυτών που μικροκυματίστηκαν ή υπέστησαν τη διαδικασία του βρασμού.

Όλοι οι παραπάνω πειραματισμοί έγιναν εις τριπλούν για τον έλεγχο της ακρίβειας και της επαναληψιμότητάς τους.

5.3. 3^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε μερίδες κοτόπουλου μολυσμένες με *E. coli* O157:H7

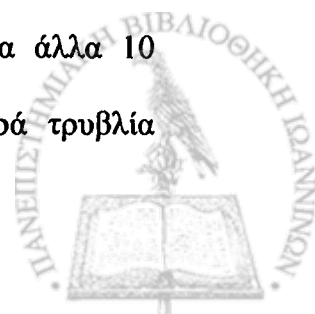
Την ημέρα έναρξης των πειραματισμών 0,01 mL από το στέλεχος *E. coli* O157:H7 ενοφθαλμιζόταν σε 10 mL ζωμού TSB με τη βοήθεια κρικοφόρου στυλεού.



Ακολουθούσε επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες. Την επομένη μεταφερόταν ποσότητα 1 mL από το ζωμό TSB σε 250 mL MacConkey broth, το οποίο και επωαζόταν στους 37°C για 18-24 ώρες. Το εναιώρημα αυτό της *E. coli* O157:H7 είχε συγκέντρωση 10^6 - 10^7 cfu/mL. Η συγκέντρωση μετρήθηκε με τη μέθοδο της επιφανειακής καταμέτρησης σε άγαρ (Surface Plate Count Method), η οποία γίνεται με διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις. Συγκεκριμένα, γίνονταν 8 διαδοχικές αραιώσεις σε PW του εναιωρήματος σε MacConkey broth, στη συνέχεια πραγματοποιούταν επίστρωση 0,1 mL από κάθε αραιώση σε τρυβλία με MacConkey agar, τα τρυβλία επωάζονταν στους 37°C για 18-24 ώρες και ακολουθούσε καταμέτρηση των αποικιών.

Παράλληλα, στήθη από νωπό κοτόπουλο κόβονταν, με τη βοήθεια αποστειρωμένου νυστεριού, σε μερίδες των 20 g, διαμέτρου 5 cm και πάχους 15 mm. Μία από αυτές τις μερίδες τοποθετούταν σε σακούλα stomacher η οποία περιείχε 180 mL PW. Στη συνέχεια η σακούλα αυτή, τοποθετούταν στη συσκευή stomacher για ένα λεπτό, οπότε και επερχόταν η πλήρης ομογενοποίηση της μερίδας. Μετά το πέρας της ομογενοποίησης λαμβανόταν ποσότητα του 0,1 mL, πραγματοποιούταν επίστρωση σε Fluorocult agar, επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες και έλεγχος ύποπτων αποικιών την επομένη. Η παραπάνω διαδικασία πραγματοποιούταν για να διαπιστωθεί αν το κοτόπουλο, που θα χρησιμοποιείτο στους πειραματισμούς ήταν μολυσμένο από την *E. coli* O157:H7. Σε καμιά περίπτωση δεν παρατηρήθηκε επιμόλυνση του κοτόπουλου από το μικρόβιο αυτό.

Ακολούθως, οκτώ μερίδες του κοτόπουλου εμβαπτιζόνταν στα 250 mL του μικροβιακού εναιωρήματος για δέκα ακριβώς λεπτά. Στη συνέχεια, με τη βοήθεια αποστειρωμένης λαβίδας τοποθετούνταν επάνω σε διηθητικό χαρτί για άλλα 10 λεπτά. Αμέσως μετά οι μερίδες αυτές μεταφέρονταν σε υάλινα μικρά τρυβλία



διαμέτρου 8 cm, οπότε και καταγραφόταν η αρχική τους θερμοκρασία στη επιφάνεια αυτών, περίπου στο γεωμετρικό τους κέντρο.

Μία από τις μερίδες χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του μικροβίου που συγκράτησε το κοτόπουλο. Οι υπόλοιπες θερμάνθηκαν στο φούρνο μικροκυμάτων που λειτουργούσε σε πλήρη ισχύ για 5, 10, 15, 20, 25, 30 και 35 sec. Αμέσως μετά τον μικροκυματισμό καταγραφόταν η θερμοκρασία στην επιφάνεια της μερίδας, περίπου στο γεωμετρικό της κέντρο.

Στη συνέχεια όλες οι μικροκυματιζόμενες μερίδες, αλλά και αυτή που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της αρχικής συγκέντρωσης που συγκράτησε το κοτόπουλο, τοποθετήθηκαν ξεχωριστά σε σακούλες stomacher, οι οποίες περιείχαν 180 mL PW. Ακολουθούσε ομογενοποίηση των μερίδων καθεμίας χωριστά στη συσκευή stomacher για ένα τουλάχιστον λεπτό, μέχρι να επιτευχθεί πλήρης ομογενοποίηση του τροφίμου. Από τις σακούλες αυτές πραγματοποιούνταν διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις σε PW, επίστρωση 0,1 mL από την κάθε αραιώση σε Fluorocult agar, επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες και καταμέτρηση των αποικιών της *E. coli* O157:H7 την επομένη.

Όλοι οι παραπάνω πειραματισμοί έγιναν εις τριπλούν για τον έλεγχο της ακρίβειας και της επαναληψιμότητάς τους.

5.4. 4^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε κιμά από κρέας μόσχου μολυσμένο με *E. coli* O157:H7

Την ημέρα έναρξης των πειραματισμών 0,01 mL από το στέλεχος *E. coli* O157:H7 ενοφθαλμιζόταν σε 10 mL ζωμού TSB με τη βοήθεια κρικοφόρου στυλεού. Ακολουθούσε επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες. Την επομένη μεταφερόταν ποσότητα 1 mL από το ζωμό TSB σε 100 mL MacConkey broth, το οποίο και



επωαζόταν στους 37°C για 18-24 ώρες. Το εναιώρημα αυτό της *E. coli* O157:H7 είχε συγκέντρωση 10^6 - 10^7 cfu/mL. Η συγκέντρωση μετρήθηκε με τη μέθοδο της επιφανειακής καταμέτρησης σε άγαρ (Surface Plate Count Method), η οποία γίνεται με διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις. Συγκεκριμένα, γίνονταν 8 διαδοχικές αραιώσεις σε PW του εναιωρήματος σε MacConkey broth, στη συνέχεια πραγματοποιούταν επίστρωση 0,1 mL από κάθε αραιώση σε τρυβλία με MacConkey agar, τα τρυβλία επωάζονταν στους 37°C για 18-24 ώρες και ακολουθούσε καταμέτρηση των αποικιών.

Παράλληλα, ζυγίζονταν 25 g (control) και 400 g κιμά από κρέας μόσχου. Τα 25 g του μοσχαρίσιου κιμά τοποθετούνταν σε σακούλα stomacher η οποία περιείχε 225 mL PW. Στη συνέχεια η σακούλα αυτή, τοποθετούταν στη συσκευή stomacher για ένα λεπτό, οπότε και επερχόταν η πλήρης ομογενοποίηση του κιμά. Μετά το πέρας της ομογενοποίησης λαμβανόταν ποσότητα του 0,1 mL, πραγματοποιούταν επίστρωση σε Fluorocult, επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες και έλεγχος ύποπτων αποικιών την επομένη. Η παραπάνω διαδικασία γινόταν για να διαπιστωθεί αν ο κιμάς, που θα χρησιμοποιείτο στους πειραματισμούς ήταν μολυσμένος από την *E. coli* O157:H7. Σε καμιά περίπτωση δεν παρατηρήθηκε επιμόλυνση του κρέατος μόσχου από το μικρόβιο αυτό.

Στη συνέχεια, πραγματοποιούταν πολύ καλή ανάμειξη των 400 g του μοσχαρίσιου κιμά με τα 100 mL καλλιεργήματος *E. coli* O157:H7. Το μείγμα αυτό αφηνόταν σε ηρεμία για δέκα ακριβώς λεπτά και ακολούθως δημιουργούνταν οκτώ μπιφτέκια των 40 g, διαμέτρου περίπου 5 cm και ύψους 1 cm. Αμέσως μετά τα μπιφτέκια αυτά μεταφέρονταν σε υάλινα μικρά τρυβλία διαμέτρου 8 cm, οπότε και καταγραφόταν η αρχική τους θερμοκρασία στη επιφάνεια αυτών, περίπου στο γεωμετρικό τους κέντρο.



Ένα από τα μπιφτέκια χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της συγκέντρωσης του μικροβίου, που συγκράτησε ο κιμάς. Τα υπόλοιπα θερμάνθηκαν στο φούρνο μικροκυμάτων που λειτουργούσε σε πλήρη ισχύ για 10, 20, 25, 30, 35, 40 και 50 sec. Αμέσως μετά τον μικροκυματισμό καταγραφόταν η θερμοκρασία στην επιφάνεια του μπιφτεκιού, περίπου στο γεωμετρικό του κέντρο.

Στη συνέχεια όλα τα μικροκυματιζόμενα μπιφτέκια, αλλά και αυτό που χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό της αρχικής συγκέντρωσης που συγκράτησε ο κιμάς, τοποθετήθηκαν σε σακούλες stomacher οι οποίες περιείχαν 360 mL PW. Ακολουθούσε ομογενοποίηση των μπιφτεκιών καθένα χωριστά στη συσκευή stomacher για ένα τουλάχιστον λεπτό, μέχρι να επιτευχθεί πλήρης ομογενοποίηση του τροφίμου. Από τις σακούλες αυτές πραγματοποιούνταν διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις σε PW, επίστρωση 0,1 mL από την κάθε αραιώση σε Fluorocult agar, επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες και καταμέτρηση των αποικιών της *E. coli* O157:H7 την επομένη.

Όλοι οι παραπάνω πειραματισμοί έγιναν εις τριπλούν για τον έλεγχο της ακρίβειας και της επαναληψιμότητάς τους.

5.5. 5^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε ολόκληρο κοτόπουλο, μικρού μεγέθους, μολυσμένο με *E. coli* O157:H7

Την ημέρα έναρξης των πειραματισμών 0,01 mL από το στέλεχος *E. coli* O157:H7 ενοφθαλμιζόταν σε 10 mL ζωμού TSB με τη βοήθεια κρικοφόρου στυλεού. Ακολουθούσε επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες. Την επομένη μεταφερόταν ποσότητα 1 mL από το ζωμό TSB σε 50 mL MacConkey broth, το οποίο και επωαζόταν στους 37°C για 18-24 ώρες. Μετά το πέρας της επώασης τα 50 mL MacConkey Broth προσθέτονταν σε 200 mL PW.



Όλη η παραπάνω διαδικασία γινόταν εις διπλούν ούτως ώστε στο τέλος να παρασκευαστούν 500 mL ζωμού. Το εναιώρημα αυτό των 500 mL της *E. coli* O157:H7 είχε συγκέντρωση 10^6 - 10^7 cfu/mL. Η συγκέντρωση μετρήθηκε με τη μέθοδο της επιφανειακής καταμέτρησης σε άγαρ (Surface Plate Count Method), η οποία γίνεται με διαδοχικές υποδεκαπλάσιες αραιώσεις. Συγκεκριμένα, γίνονταν 8 διαδοχικές αραιώσεις σε PW του εναιωρήματος σε MacConkey broth, στη συνέχεια πραγματοποιούνταν επίστρωση 0,1 mL από κάθε αραιώση σε τρυβλία με MacConkey agar, τα τρυβλία επωάζονταν στους 37°C για 18-24 ώρες και ακολουθούσε καταμέτρηση των αποικιών.

Παράλληλα από το νωπό κοτόπουλο, που θα χρησιμοποιείτο στο πείραμα, κοβόταν ποσότητα των 25 g από διάφορα σημεία του. Η ποσότητα αυτή τοποθετούταν σε σακούλα stomacher, η οποία περιείχε 225 mL PW. Στη συνέχεια η σακούλα αυτή, τοποθετούταν στη συσκευή stomacher για ένα λεπτό, οπότε και επερχόταν η πλήρης ομογενοποίηση της μερίδας. Μετά το πέρας της ομογενοποίησης λαμβανόταν 0,1 mL, πραγματοποιούνταν επίστρωση σε Fluorocult, επώαση στους 37°C για 18-24 ώρες και έλεγχος ύποπτων αποικιών την επομένη. Η παραπάνω διαδικασία γινόταν για να διαπιστωθεί αν το κοτόπουλο, που θα χρησιμοποιείτο στους πειραματισμούς ήταν μολυσμένο από την *E. coli* O157:H7. Σε καμιά περίπτωση δεν παρατηρήθηκε επιμόλυνση του κοτόπουλου από το μικρόβιο αυτό.

Τα τρία κοτόπουλα που χρησιμοποιήθηκαν στους συγκεκριμένους πειραματισμούς, ήταν μικρού μεγέθους και ζύγιζαν 1370, 1300 και 1260 g αντιστοίχως.

Ακολούθως, εμβαπτιζόταν το κοτόπουλο στα 500 mL εναιωρήματος της *E. coli* O157:H7 για δέκα λεπτά ακριβώς. Μετά το χρόνο αυτό, το κοτόπουλο μεταφερόταν επάνω σε διηθητικό χαρτί, όπου και αφηνόταν για άλλα δέκα λεπτά για



να στραγγίσει. Στη συνέχεια ψηνόταν στο φούρνο μικροκυμάτων σύμφωνα με τις οδηγίες που το συνόδευαν. Βάσει αυτών των οδηγιών, το κοτόπουλο ψηνόταν για 22 λεπτά στο φούρνο μικροκυμάτων που λειτουργούσε σε πλήρη ισχύ. Τα πρώτα 11 λεπτά ψηνόταν από τη μια μεριά και τα υπόλοιπα 11 από την άλλη. Με το τέλος του ψησίματος, και σύμφωνα πάντα με τις οδηγίες, το κοτόπουλο παρέμενε στο φούρνο μικροκυμάτων για άλλα τρία λεπτά σκεπασμένο με αλουμινόχαρτο.

Η θερμομέτρηση του κοτόπουλου πραγματοποιούταν με το πέρας των τριών λεπτών σε τέσσερα σημεία: στους μηρούς και στις φτερούγες. Ακολουθούσε εμβάπτισή του σε 1 L Nutrient Broth για 10 λεπτά.

Ακολούθως, 500 mL από το Nutrient Broth επωάζονταν στους 37°C για 18-24 ώρες και την επομένη πραγματοποιούταν ενοφθάλμισμα σε Fluorocult agar από το ζωμό αυτό με τη βοήθεια κρικοφόρου στυλεού. Το άγαρ επωαζόταν στους 37°C για 18-24 ώρες για την ανίχνευση παρουσίας ύποπτων αποικιών *E. coli* O157:H7.

Όλοι οι παραπάνω πειραματισμοί έγιναν εις τριπλούν για τον έλεγχο της ακρίβειας και της επαναληψιμότητάς τους.



6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των πέντε (5) πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν, παραθέτονται αναλυτικά:

6.1. 1^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων και του βρασμού σε καθαρό καλλιέργημα *E. coli* O157:H7

Η βακτηριοκτόνος δράση των μικροκυμάτων στο καθαρό εναιώρημα της *E. coli* O157:H7 στους διαφορετικούς χρόνους έκθεσης παρουσιάζεται στο διάγραμμα 1. Στο διάγραμμα αυτό παρουσιάζεται η επιβίωση του βακτηρίου ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα σε δευτερόλεπτα (sec). Στο διάγραμμα 2 παρουσιάζεται η επιβίωση του βακτηρίου ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας (C°). Τα διαγράμματα 3 και 4 είναι τα αντίστοιχα που αφορούν το βρασμό του καθαρού εναιωρήματος. Τα διαγράμματα 5 και 6 παρουσιάζουν την επιβίωση του βακτηρίου ως συνάρτηση της ενέργειας (E) που απορροφήθηκε από το εναιώρημα και της δράσης ($A=E.t$) αντίστοιχα, τόσο μετά το μικροκυματισμό, όσο και μετά το βρασμό. Ειδικότερα, το διάγραμμα 6 παρουσιάζει την καμπύλη θανάτου του μικροβίου ως συνάρτηση της δράσης, η οποία είναι το γινόμενο της απορροφώμενης ενέργειας και του χρόνου έκθεσης είτε στα μικροκύματα είτε στο βρασμό. Οι πίνακες 1 και 2 παρουσιάζουν αναλυτικά τους χρόνους και τις θερμοκρασίες, που επιτεύχθηκαν κατά το μικροκυματισμό και το βρασμό του καλλιεργήματος.



**Πίνακας 1. Πειραματικά αποτελέσματα της έκθεσης σε μικροκύματα
καλλιέργηματος *E. coli* O157:H7**

Χρόνος έκθεσης στα μικροκύματα (sec)	Τελική θερμοκρασία (°C)^a	Συγκέντρωση <i>E. coli</i> O157:H7 (cfu×10⁶/mL)^b
0	20±0,1	11±8
10	31,5±0,9	18±6
20	45,3±0,8	13±13
30	58,2±0,3	7±6
40	71±1,5	0±0

^a Οι θερμοκρασίες είναι ο μέσος όρος των θερμοκρασιών τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.

^b Η συγκέντρωση της *E. coli* O157:H7 αποτελεί το μέσο όρο των συγκεντρώσεων τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.



**Πίνακας 2. Πειραματικά αποτελέσματα της έκθεσης σε βρασμό
καλλιεργήματος *E. coli* O157:H7**

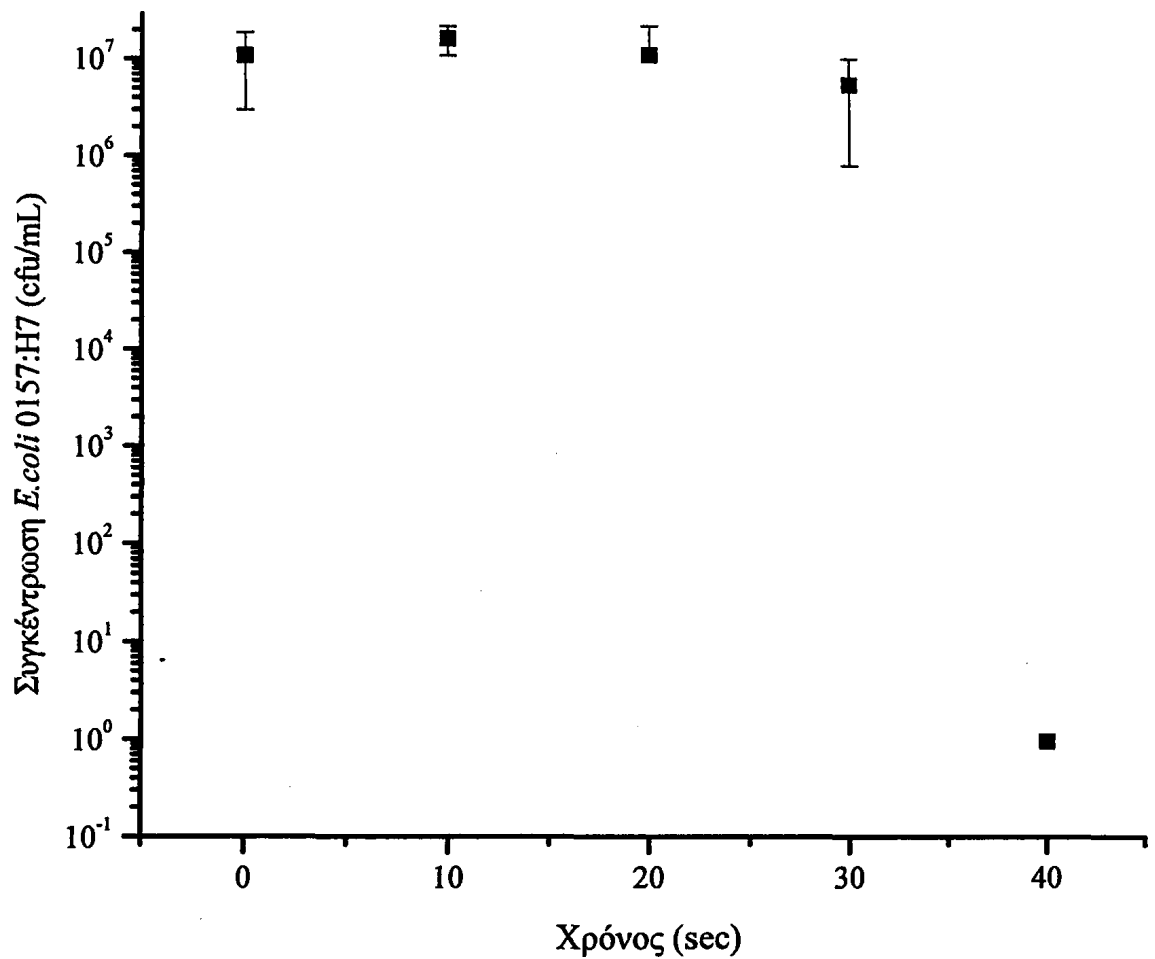
Τελική θερμοκρασία (°C) ^α	Χρόνος έκθεσης στο βρασμό (sec) ^γ	Συγκέντρωση <i>E. coli</i> O157:H7 (cfu×10 ⁶ /mL) ^β
20±0,1	0±0	11±8
31,5±0,9	44±5	16±11
45,3±0,8	78±11	18±10
58,2±0,3	116±20	0,5±0,5
71±1,5	145±28	0±0

^α Οι θερμοκρασίες είναι ο μέσος όρος των θερμοκρασιών τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.

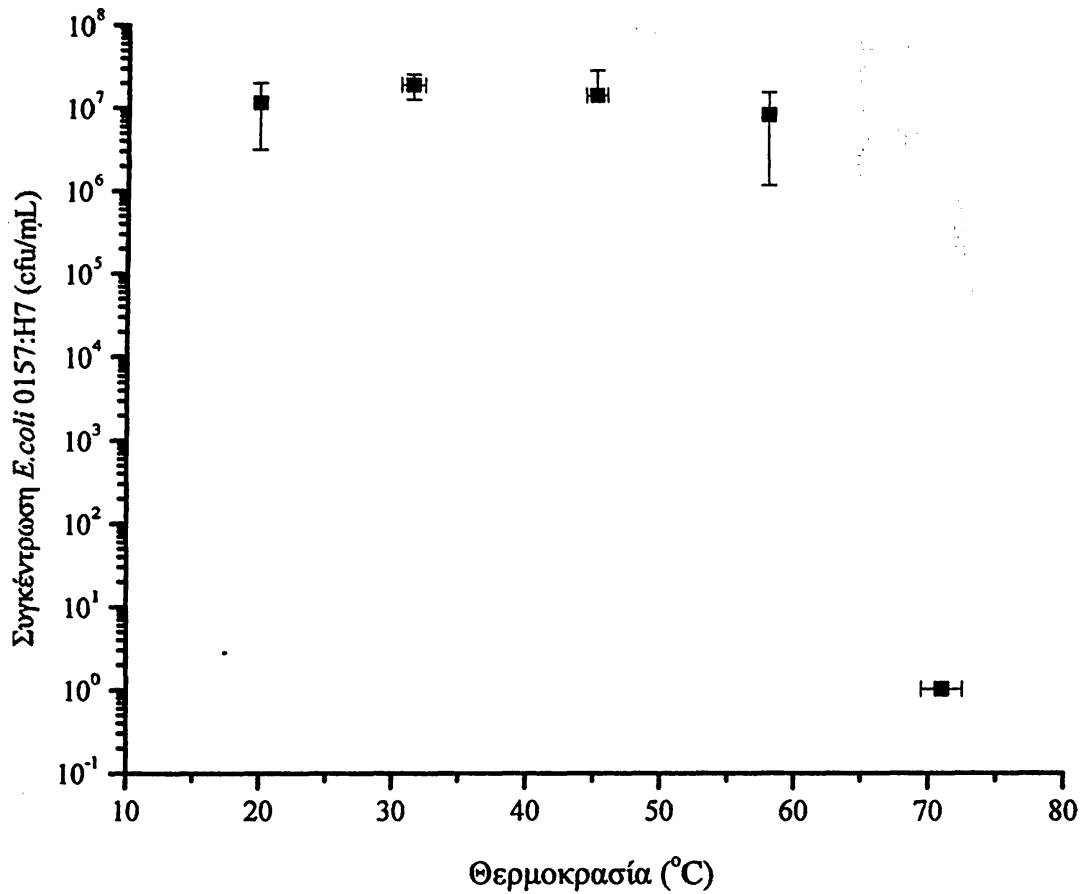
^β Η συγκέντρωση της *E. coli* O157:H7 αποτελεί το μέσο όρο των συγκεντρώσεων τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.

^γ Ο χρόνος έκθεσης στο βρασμό είναι ο μέσος όρος των χρόνων έκθεσης τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.



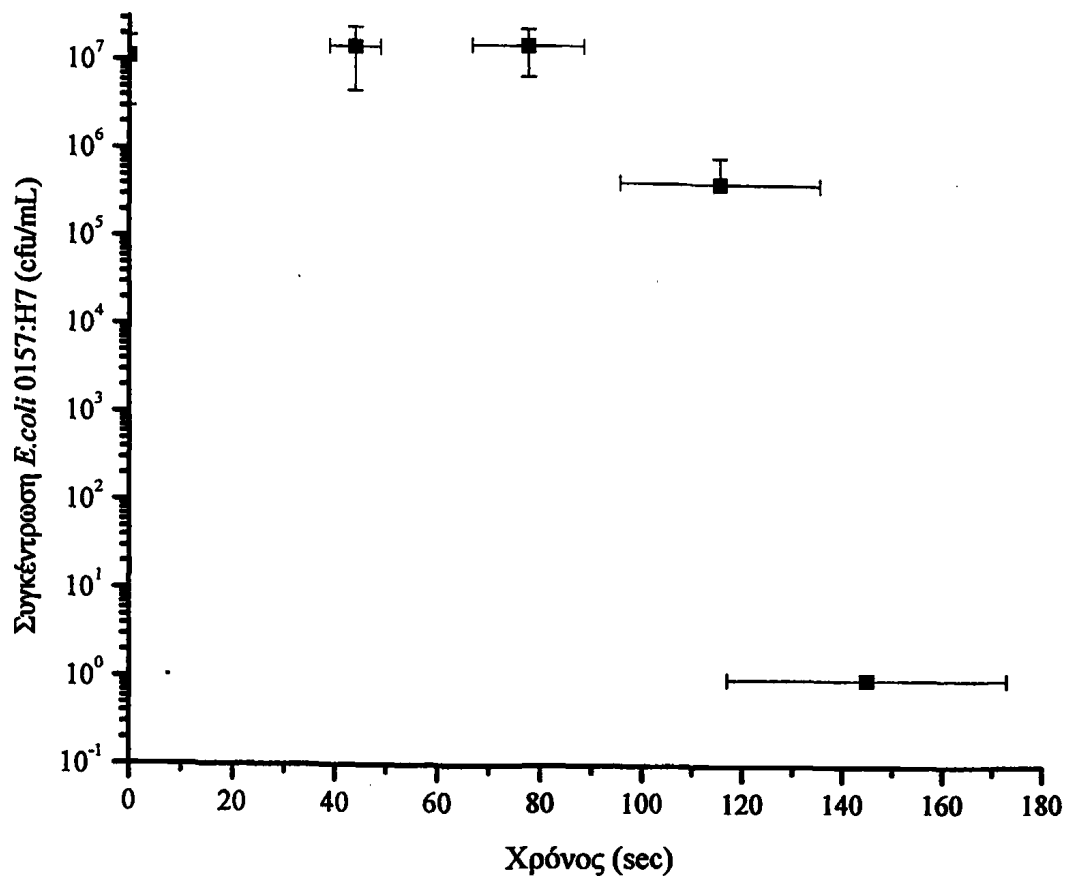


Διάγραμμα 1. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης του καθαρού καλλιεργήματος στα μικροκύματα (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).

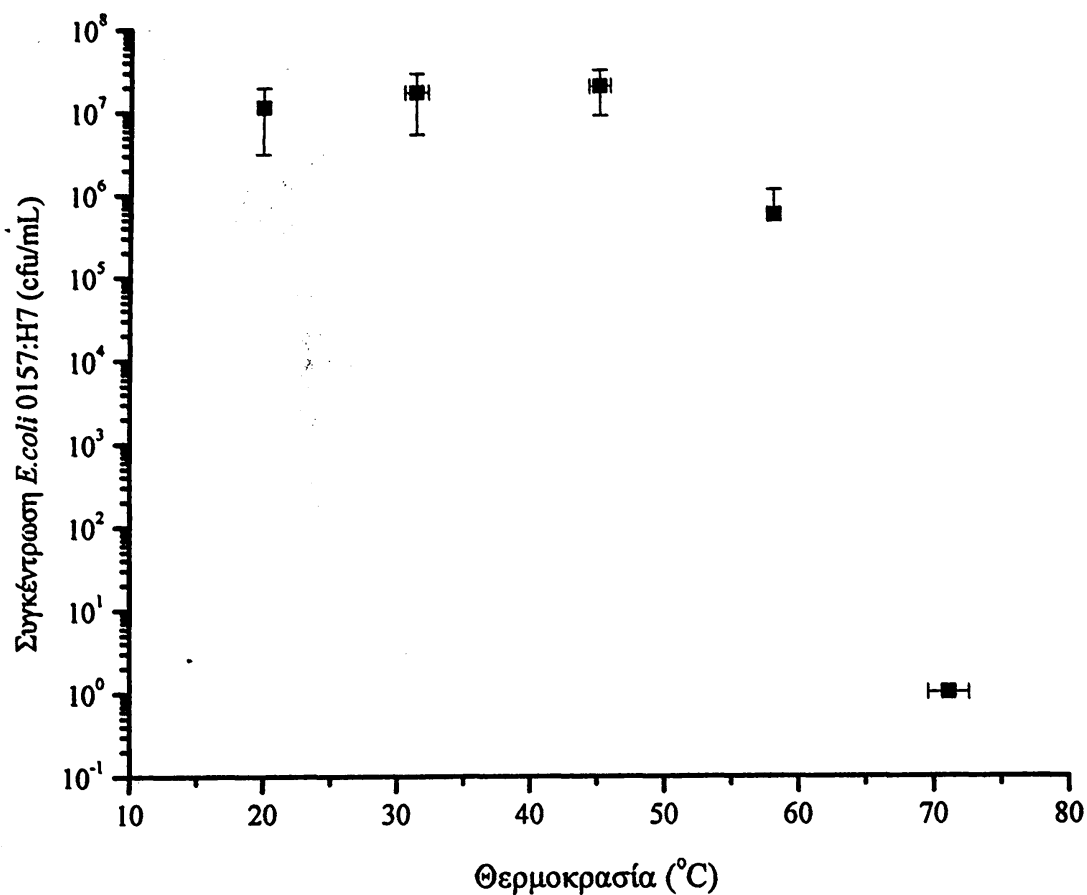


Διάγραμμα 2. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 στο καθαρό καλλιέργημα ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας που επιτεύχθηκε μετά το μικροκυματισμό (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).



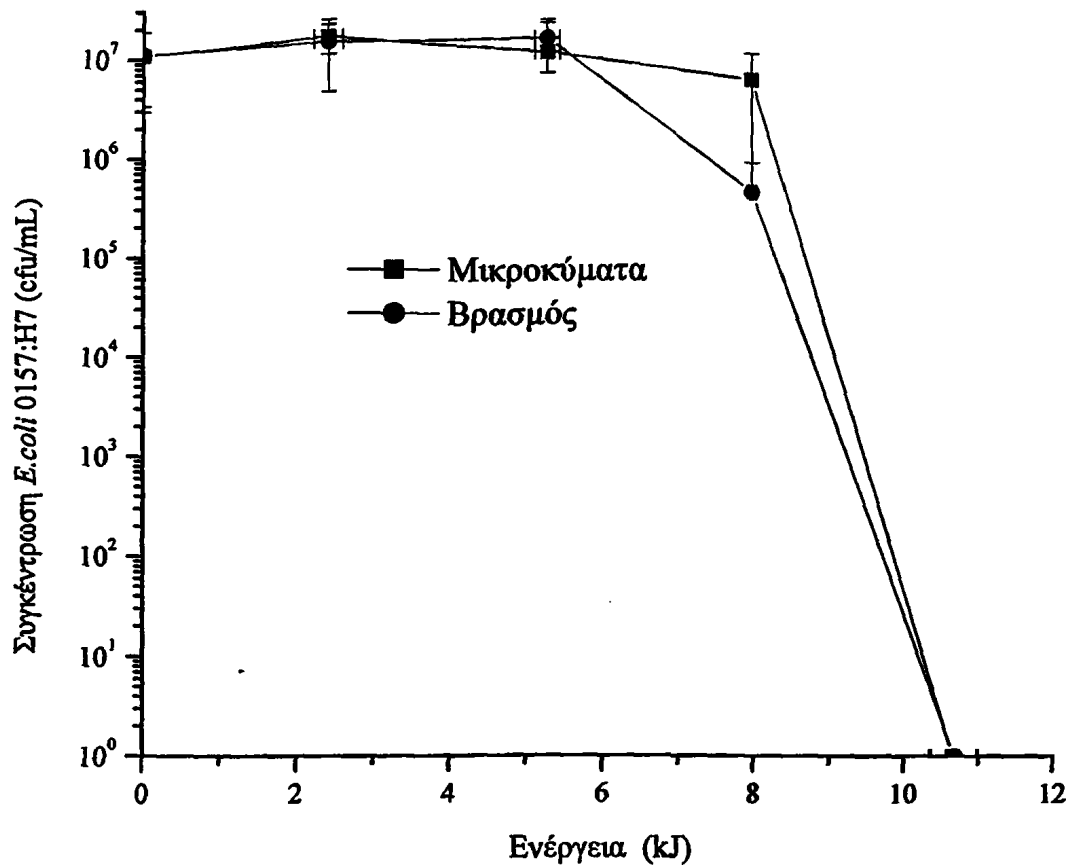


Διάγραμμα 3. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης του καθαρού καλλιεργήματος στο βρασμό (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).

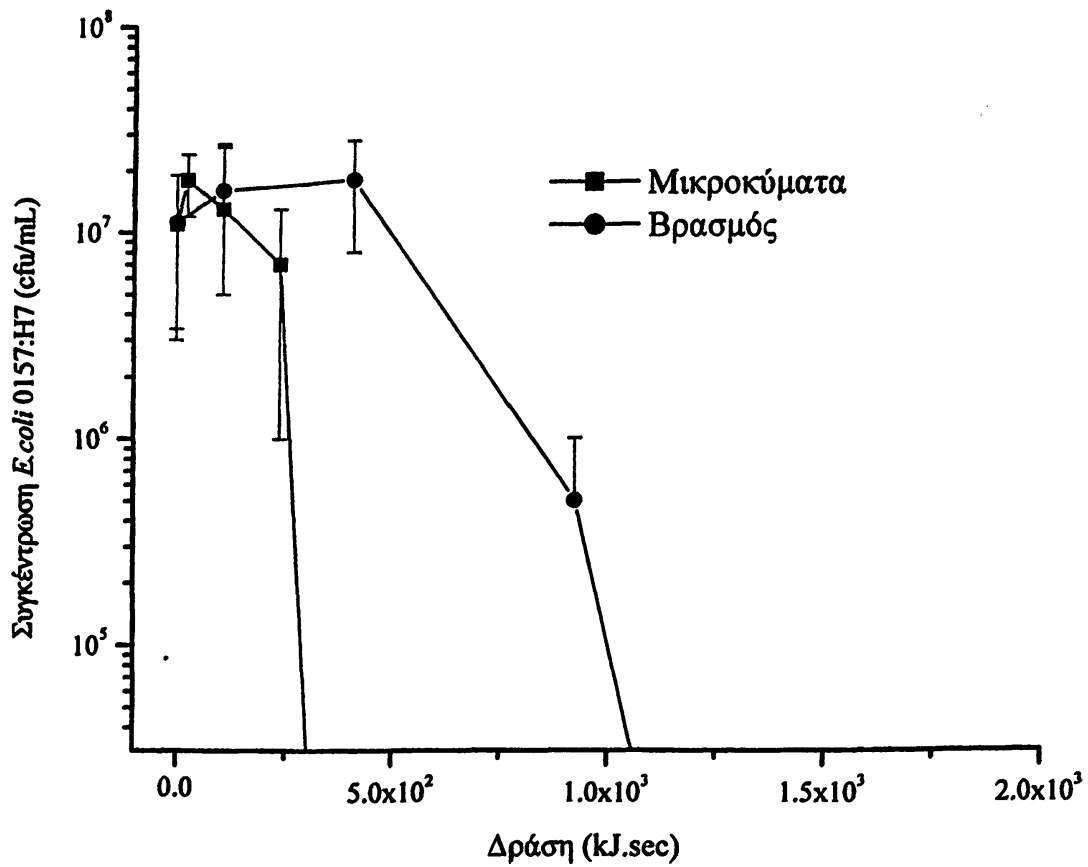


Διάγραμμα 4. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 στο καθαρό καλλιέργημα ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας που επιτεύχθηκε μετά το βρασμό (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).





Διάγραμμα 5. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 στο καθαρό καλλιέργημα ως συνάρτηση της ενέργειας που απορροφήθηκε μετά το μικροκυματισμό και μετά το βρασμό (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).



Διάγραμμα 6. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 στο καθαρό καλλιέργημα στα μικροκύματα και στο σύστημα βρασμού ως συνάρτηση της δράσης ($A=E.t$) (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).

6.2. 2^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων και του βρασμού σε γάλα μολυσμένο με *E. coli* O157:H7

Η βακτηριοκτόνος δράση των μικροκυμάτων στο μολυσμένο με *E. coli* O157:H7 γάλα στους διαφορετικούς χρόνους έκθεσης παρουσιάζεται στο διάγραμμα 7. Το διάγραμμα αυτό παρουσιάζει την επιβίωση του βακτηρίου ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα σε δευτερόλεπτα (sec). Στο διάγραμμα 8 παρουσιάζεται η επιβίωση του βακτηρίου ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας (C°). Τα διαγράμματα 9 και 10 είναι τα αντίστοιχα που αφορούν το βρασμό του μολυσμένου γάλακτος. Οι πίνακες 3 και 4 παρουσιάζουν αναλυτικά τους χρόνους και τις θερμοκρασίες, που επιτεύχθηκαν κατά το μικροκυματισμό και το βρασμό αντίστοιχα του γάλατος.

Πίνακας 3. Πειραματικά αποτελέσματα της έκθεσης σε μικροκύματα γάλακτος μολυσμένου με *E. coli* O157:H7

Χρόνος έκθεσης στα μικροκύματα (sec)	Τελική θερμοκρασία (°C) ^a	Συγκέντρωση <i>E. coli</i> O157:H7 (cfu×10 ⁶ /mL) ^b
0	22,5±1,2	14±11
10	33±1	15,5±14
20	43,8±2,5	7±4
30	53,4±1	4,4±2
35	58,6±2,5	1,5±1
40	62,7±3	0,07±0,1
50	74±2,5	0



^a Οι θερμοκρασίες είναι ο μέσος όρος των θερμοκρασιών τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση.

^b Η συγκέντρωση της *E. coli* O157:H7 αποτελεί το μέσο όρο των συγκεντρώσεων τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση.

Πίνακας 4. Πειραματικά αποτελέσματα της έκθεσης σε βρασμό γάλακτος μολυσμένου με *E. coli* O157:H7

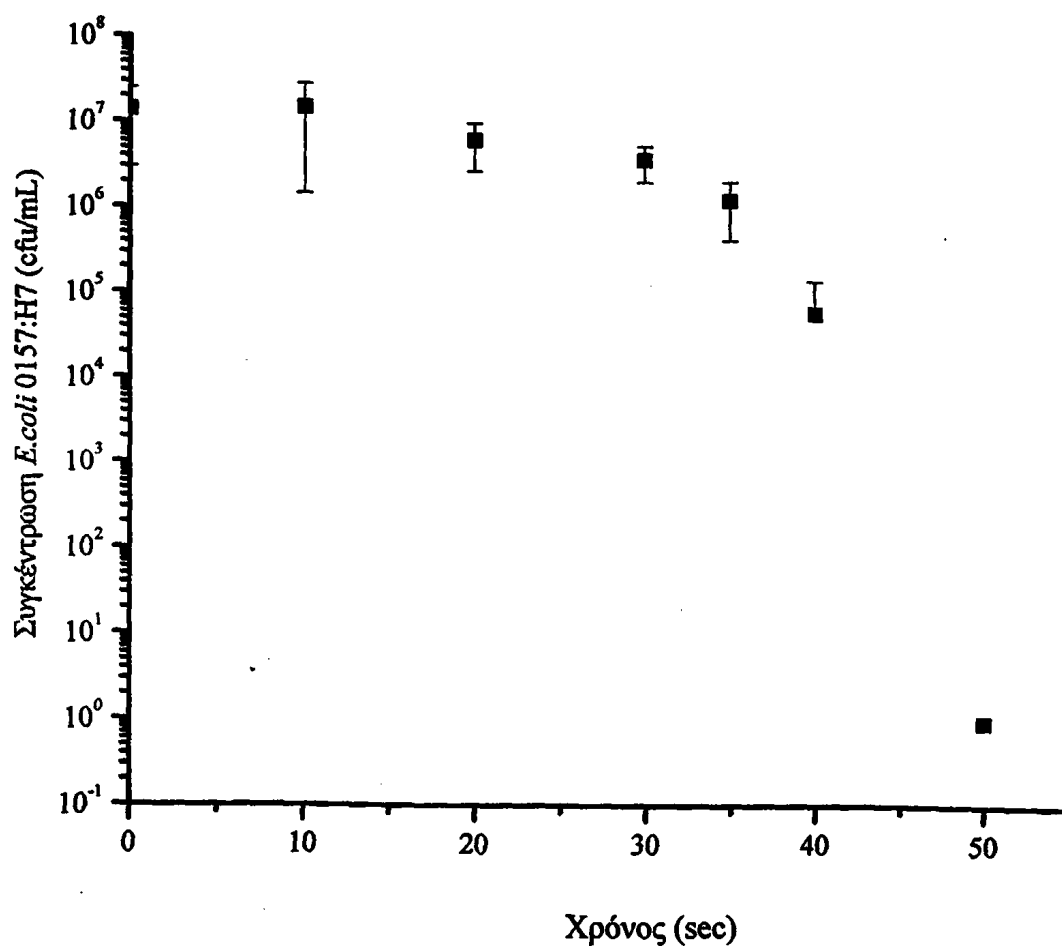
Τελική θερμοκρασία (°C) ^a	Χρόνος έκθεσης στο βρασμό (sec) ^γ	Συγκέντρωση <i>E. coli</i> O157:H7 (cfu \times 10 ⁶ /mL) ^b
22,5 \pm 1,2	0	14 \pm 11
33 \pm 1	30 \pm 1	9 \pm 2,5
43,8 \pm 2,5	95 \pm 4	9 \pm 2,5
53,4 \pm 1	99 \pm 3,6	6,4 \pm 5
58,6 \pm 2,5	148 \pm 11	3 \pm 2
62,7 \pm 3	163 \pm 6,5	0,04 \pm 0,05
74 \pm 2,5	193 \pm 8,5	0

^a Οι θερμοκρασίες είναι ο μέσος όρος των θερμοκρασιών τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση.

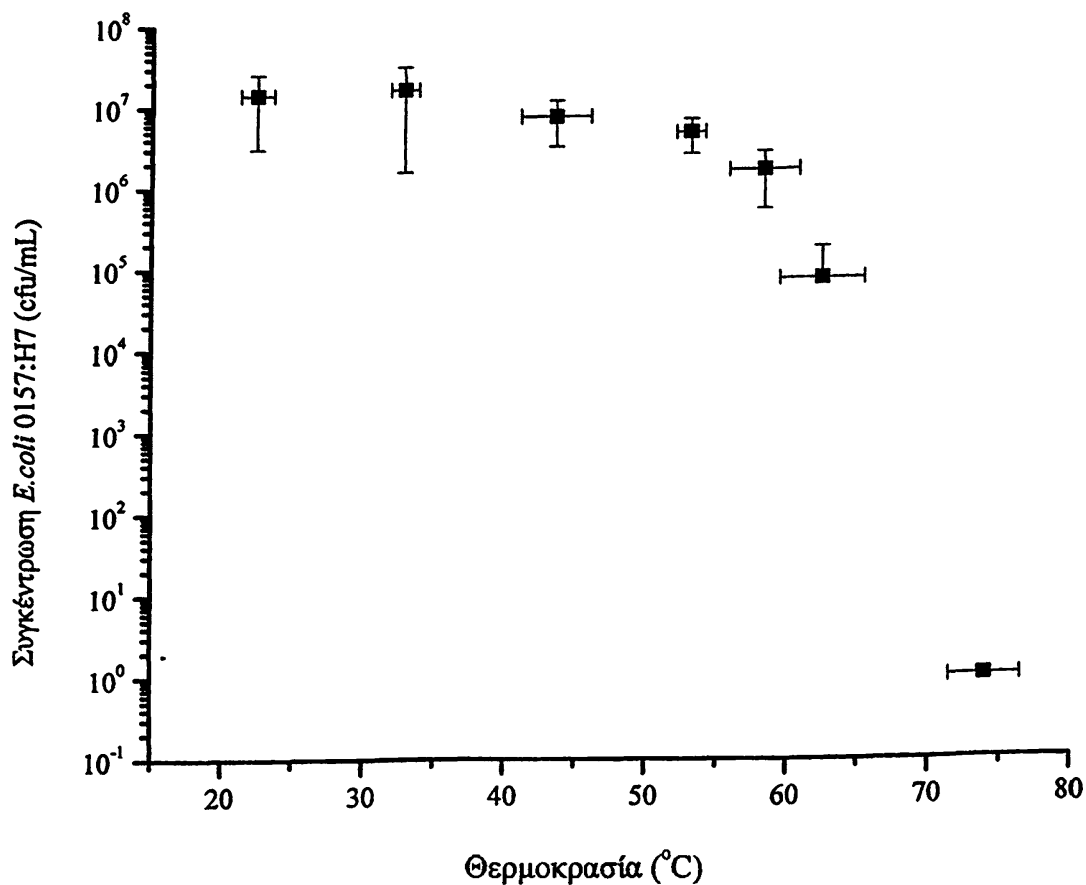
^b Η συγκέντρωση της *E. coli* O157:H7 αποτελεί το μέσο όρο των συγκεντρώσεων τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση.

^γ Ο χρόνος έκθεσης στο βρασμό είναι ο μέσος όρος των χρόνων έκθεσης τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση.

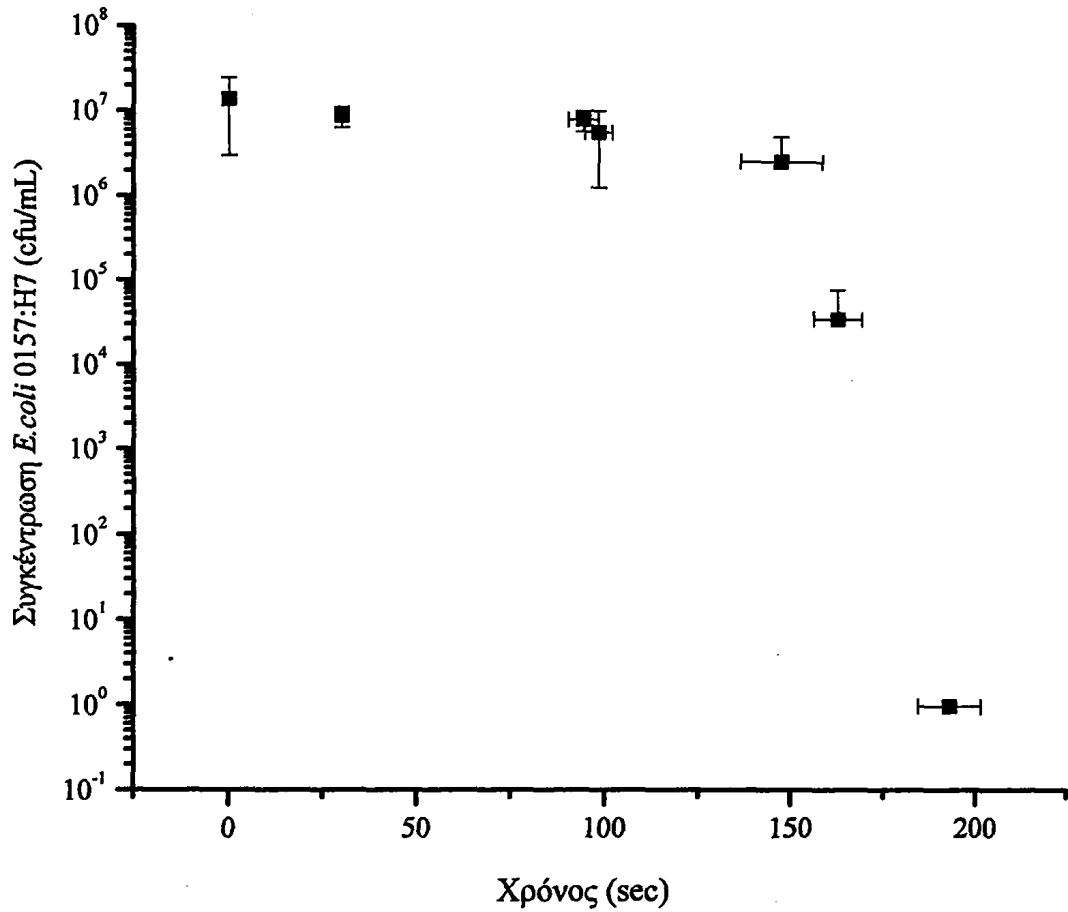




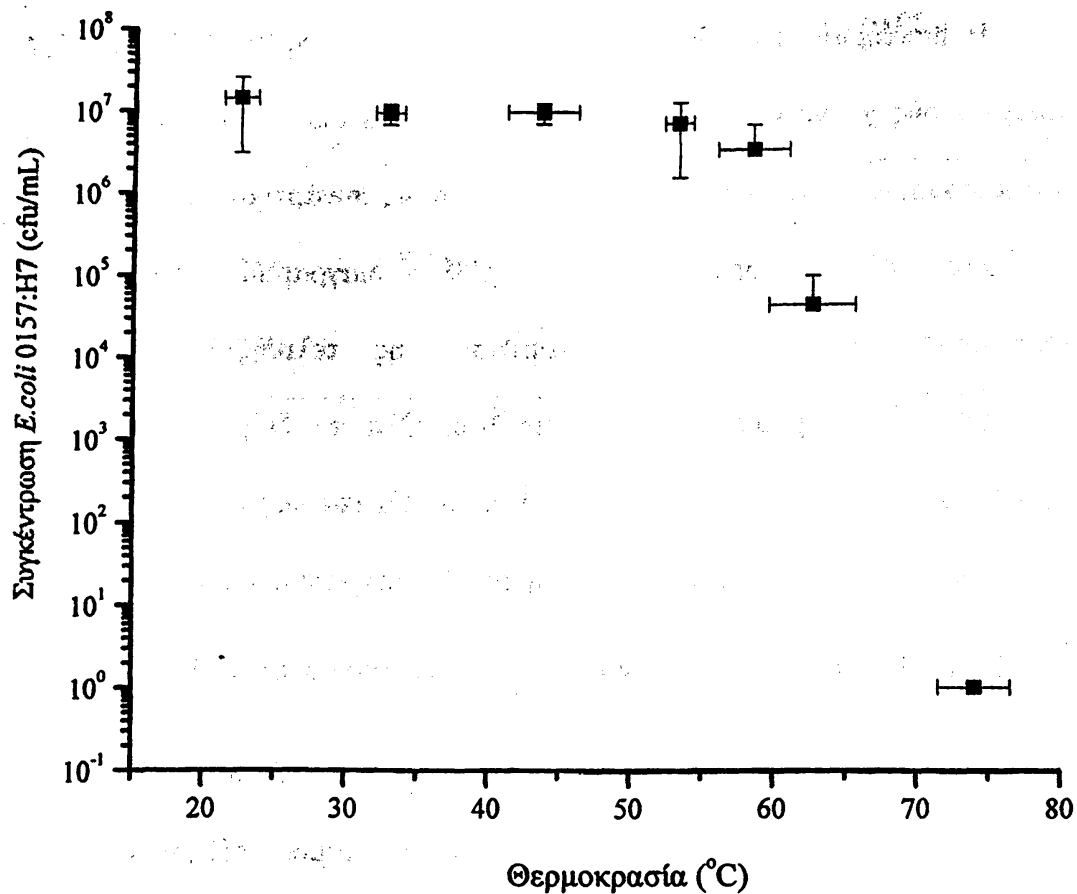
Διάγραμμα 7. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης του μολυσμένου γάλακτος στα μικροκύματα (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).



Διάγραμμα 8. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 στο μολυσμένο γάλα ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας που επιτεύχθηκε μετά το μικροκυματισμό (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).



Διάγραμμα 9. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης του μολυσμένου γάλακτος στο βρασμό (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).



Διάγραμμα 10. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 στο μολυσμένο γάλα ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας που επιτεύχθηκε μετά το βρασμό (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).



6.3. 3^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε μερίδες κοτόπουλου μολυσμένες με *E. coli* O157:H7

Η βακτηριοκτόνος δράση των μικροκυμάτων στην *E. coli* O157:H7 στους διαφορετικούς χρόνους έκθεσης παρουσιάζεται στο διάγραμμα 11. Το διάγραμμα αυτό παρουσιάζει την επιβίωση του βακτηρίου ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα σε δευτερόλεπτα (sec). Στο διάγραμμα 12 η επιβίωση του βακτηρίου παρουσιάζεται ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας που επιτυγχάνεται στις μερίδες του κοτόπουλου. Όλα τα δείγματα (σε όλους τους πειραματισμούς) ήταν ωμά μετά από 10 δευτερόλεπτα έκθεσης στην ενέργεια των μικροκυμάτων (πίνακας 5). Η μέση τιμή της θερμοκρασίας σε αυτό το σημείο ήταν $40\pm 4^{\circ}\text{C}$ και ο μέσος όρος συγκέντρωσης του βακτηρίου ήταν $(1,1\pm 0,3) \times 10^6$ cfu/g. Για τους επόμενους χρόνους έκθεσης οι μερίδες κοτόπουλου φαινόταν - αλλά και πραγματικά ήταν - ψημένες, ωστόσο, ο μικροοργανισμός επέζησε και μετά τα 30 δευτερόλεπτα έκθεσης στα μικροκύματα. Η μέση τιμή της τελικής θερμοκρασίας στα 30 δευτερόλεπτα ήταν $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ και ο μέσος όρος συγκέντρωσης της *E. coli* O157:H7 ήταν 80 ± 70 cfu/g. Η πλήρης καταστροφή της *E. coli* O157:H7 επιτυγχανόταν μετά από 35 δευτερόλεπτα έκθεσης στα μικροκύματα, όταν η τελική θερμοκρασία ήταν πάνω από τους 74°C .



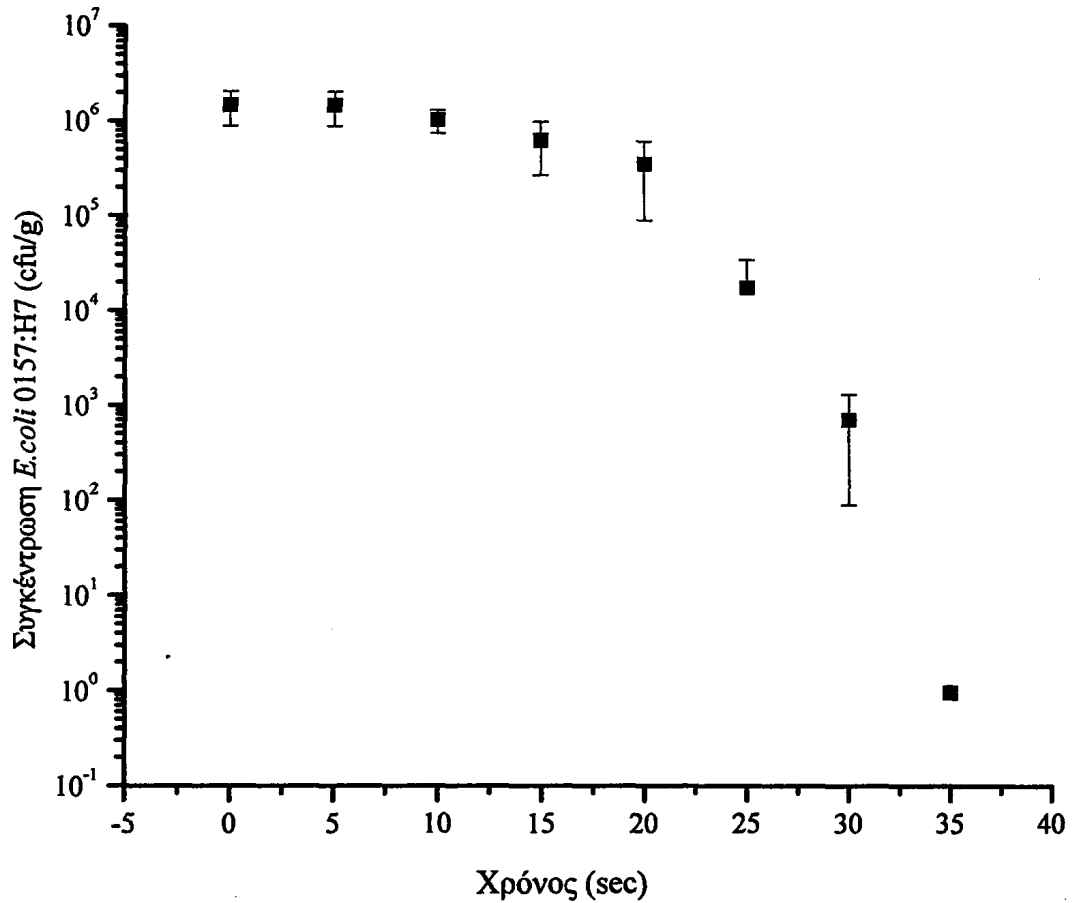
Πίνακας 5. Πειραματικά αποτελέσματα της έκθεσης στα μικροκύματα μερίδων κοτόπουλου μολυσμένων με *E. coli* O157:H7

Χρόνος έκθεσης στα μικροκύματα (sec)	Τελική θερμοκρασία (°C) ^a	Συγκέντρωση <i>E. coli</i> O157:H7 (cfu×10 ⁶ /g) ^β
0	30 ± 0,8	1,5±0,6
5	34,4 ± 0,5	1,5 ± 0,6
10	40 ± 4	1,1 ± 0,3
15	49 ± 2	0,7 ± 0,4
20	56,7 ± 0,7	0,4 ± 0,3
25	66 ± 2	0,02 ± 0,02
30	70 ± 2	0,0008 ± 0,0007
35	74 ± 1	0

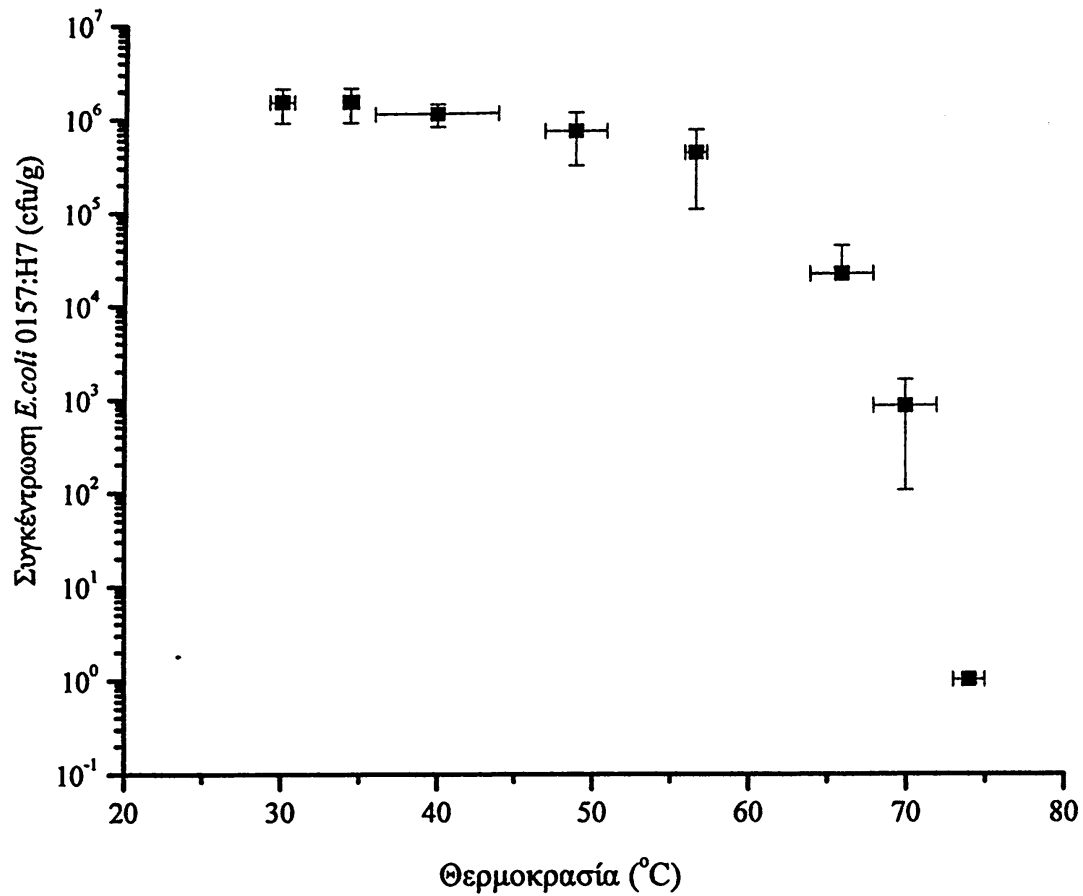
^a Οι θερμοκρασίες είναι ο μέσος όρος των θερμοκρασιών τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.

^β Η συγκέντρωση της *E. coli* O157:H7 αποτελεί το μέσο όρο των συγκεντρώσεων τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.





Διάγραμμα 11. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης των μερίδων κοτόπουλου στα μικροκύματα (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).



Διάγραμμα 12. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 στις μερίδες κοτόπουλου ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας που επιτυγχάνεται στην επιφάνεια των μερίδων (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).

6.4. 4^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε κιμά από κρέας μόσχου μολυσμένο με *E. coli* O157:H7

Η βακτηριοκτόνος δράση των μικροκυμάτων στην *E. coli* O157:H7 στους διαφορετικούς χρόνους έκθεσης παρουσιάζεται στο διάγραμμα 13. Το διάγραμμα αυτό παρουσιάζει την επιβίωση του βακτηρίου ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα σε δευτερόλεπτα (sec). Στο διάγραμμα 14 η επιβίωση του βακτηρίου παρουσιάζεται ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας που επιτυγχάνεται στα μπιφτέκια. Όλα τα δείγματα (σε όλους τους πειραματισμούς) ήταν ωμά μετά από 25 δευτερόλεπτα έκθεσης στην ενέργεια των μικροκυμάτων (πίνακας 6). Η μέση τιμή της θερμοκρασίας σε αυτό χρόνο ήταν $61,8 \pm 2,1^{\circ}\text{C}$ και ο μέσος όρος συγκέντρωσης του βακτηρίου ήταν $(3 \pm 1) \times 10^6$ cfu/g. Για τους επόμενους χρόνους έκθεσης τα μπιφτέκια φαινόταν - αλλά και πραγματικά ήταν - ψημένα, ωστόσο, ο μικροοργανισμός επέζησε και μετά τα 40 δευτερόλεπτα έκθεσης στα μικροκύματα. Η μέση τιμή της τελικής θερμοκρασίας στα 40 δευτερόλεπτα ήταν $65,8 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ και ο μέσος όρος συγκέντρωσης της *E. coli* O157:H7 ήταν 12000 ± 10000 cfu/g. Πλήρης καταστροφή της *E. coli* O157:H7 επιτυγχανόταν μετά από 50 δευτερόλεπτα έκθεσης στα μικροκύματα, όταν η τελική θερμοκρασία ήταν πάνω από τους 75°C .



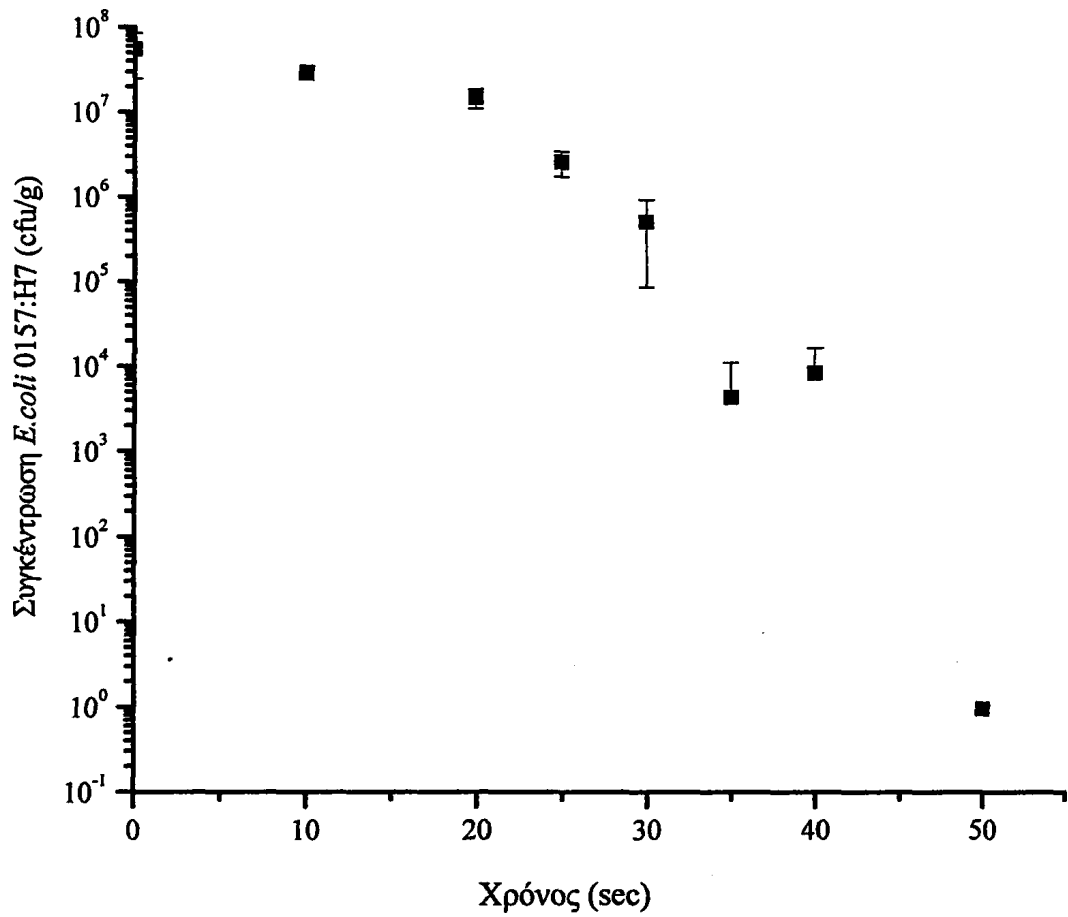
Πίνακας 6. Πειραματικά αποτελέσματα της έκθεσης σε μικροκύματα δειγμάτων κιμά από κρέας μόσχου μολυσμένου με *E. coli* O157:H7

Χρόνος έκθεσης στα μικροκύματα (sec)	Τελική θερμοκρασία (°C) ^α	Συγκέντρωση <i>E. coli</i> O157:H7 (cfu×10 ⁶ /g) ^β
0	27 ± 2	56 ± 31
10	38,5 ± 2,6	32 ± 6
20	48,9 ± 3,6	17,3 ± 4,5
25	61,8 ± 2	3 ± 1
30	63,8 ± 2,2	0,6 ± 0,5
35	68 ± 5	0,005 ± 0,008
40	65,8 ± 1,5	0,012 ± 0,01
50	75,6 ± 0,6	0

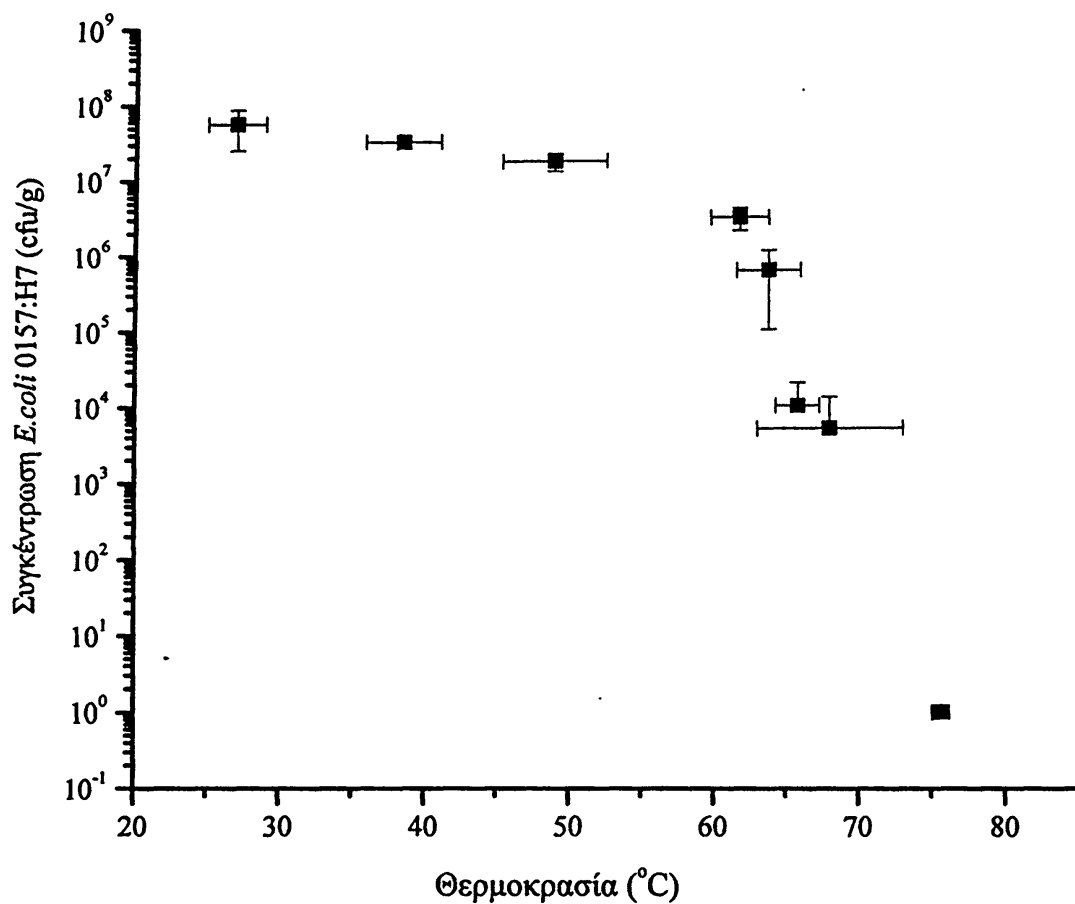
^α Οι θερμοκρασίες είναι ο μέσος όρος των θερμοκρασιών τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.

^β Η συγκέντρωση της *E. coli* O157:H7 αποτελεί το μέσο όρο των συγκεντρώσεων τριών πειραμάτων και εκφράζεται ως μέσος όρος ± τυπική απόκλιση.





Διάγραμμα 13. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 ως συνάρτηση του χρόνου έκθεσης των μπιφτεκιών στα μικροκύματα (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).



Διάγραμμα 14. Επιβίωση της *E. coli* O157:H7 στα μπιφτέκια ως συνάρτηση της τελικής θερμοκρασίας που επιτυγχάνεται στην επιφάνεια των δειγμάτων (τα σφάλματα αντιστοιχούν στην τυπική απόκλιση).

6.5. 5^ο πείραμα επίδρασης των μικροκυμάτων σε ολόκληρο κοτόπουλο, μικρού μεγέθους, μολυσμένο με *E. coli* O157:H7

Τα τρία κοτόπουλα μαγειρεύτηκαν στο φούρνο μικροκυμάτων σύμφωνα με τις οδηγίες της κατασκευάστριας εταιρείας. Μετά το τέλος του προκαθορισμένου χρόνου και τα τρία κοτόπουλα φαίνονταν καλά ψημένα. Μετά το πέρας του μαγειρέματος η καταγραφή των θερμοκρασιών σε τέσσερα διαφορετικά σημεία (στις φτερούγες και στους μηρούς) αποκάλυψε μια αξιοσημείωτη διαφορά στην τελική θερμοκρασία στην επιφάνεια του μαγειρεμένου κοτόπουλου: στο πρώτο κοτόπουλο παρατηρήθηκε διακύμανση της θερμοκρασίας από 66,7^οC έως 92^οC, στο δεύτερο από 63,1^οC έως 74,6^οC και στο τρίτο από 60,2^οC έως 81,6^οC (πίνακας 7). Η ποιοτική μικροβιολογική ανάλυση και των τριών κοτόπουλων οδήγησε στην απομόνωση της *E. coli* O157:H7.

Πίνακας 7. Πειραματικά αποτελέσματα έκθεσης σε μικροκύματα δειγμάτων ολόκληρου κοτόπουλου μολυσμένου με *E. coli* O157:H7

κοτόπουλο	Βάρος (g)	Θερμοκρασία dx φτερούγας (^ο C)	Θερμοκρασία sx φτερούγας (^ο C)	Θερμοκρασία dx μηρού (^ο C)	Θερμοκρασία sx μηρού (^ο C)	Ανίχνευση <i>E. coli</i> O157:H7
1 ^ο	1370	66,7	71,7	92	83,2	θετική
2 ^ο	1300	63,1	67,8	72,4	74,6	θετική
3 ^ο	1260	66,4	60,2	81,6	72,4	θετική



7. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Την τελευταία εικοσαετία ο αυξανόμενος αριθμός επιδημιών, που οφείλονται στην *E. coli* O157:H7 προκάλεσαν το ενδιαφέρον των ερευνητών για το μικροοργανισμό αυτό. Παράλληλα, η κατακόρυφη αύξηση των πωλήσεων φούρνων μικροκυμάτων οικιακής χρήσης για το μαγείρεμα προμαγειρευμένων φαγητών, αλλά και νωπών προϊόντων, οδήγησαν πολλούς επιστήμονες στη διερεύνηση κατά πόσο τα γεύματα αυτά είναι ασφαλή από μικροβιολογικής άποψης.

Οι πρώτοι πειραματισμοί, που αφορούσαν την επίδραση των μικροκυμάτων στην επιβίωση διαφόρων μικροοργανισμών, ξεκίνησαν την δεκαετία του '30. Τα περισσότερα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε συχνότητες πολύ διαφορετικές από αυτές που χρησιμοποιούνται σήμερα. Το 1931 οι Beckwith και Olsen αποστέρωσαν εναιώρημα του *Saccharomyces ellipsoideus*, αλλά και άλλων μυκήτων, σε θερμοκρασία που δεν ξεπερνούσε τους 39°C. Αργότερα, οι Yen και Lui (1934) κατάφεραν να αποστειρώσουν καλλιέργειες σε αλατούχο διάλυμα διαφόρων μικροοργανισμών, όπως *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Proteus vulgaris* και *Shigella dysenteriae*, χρησιμοποιώντας ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία συχνότητας 1,5 MHz για 90 λεπτά. Το 1944, ο Fleming ανέφερε ότι μικροκύματα συχνότητας 11, 14, 28, 60, 200 και 350 MHz είχαν την ικανότητα να φονεύουν τα κύτταρα της *Escherichia coli* σε καλλιέργημα, όταν η μέγιστη θερμοκρασία δεν ξεπερνούσε τους 30°C (Fleming, 1944).

Οι παραπάνω πειραματισμοί πραγματοποιήθηκαν με βάση την υπόθεση πολλών ερευνητών, ότι τα μικροκύματα καταστρέφουν τους μικροοργανισμούς με τρόπο διαφορετικό από αυτό της κλασικής θέρμανσης (π.χ. βρασμό, ψήσιμο).



Ωστόσο πρέπει να επισημανθεί, ότι τα πειράματα αυτά έγιναν σε συχνότητες διαφορετικές από αυτές που χρησιμοποιούνται σήμερα και με μεθόδους που δεν περιγράφονται αναλυτικά.

Όπως ήδη έχει προαναφερθεί στο γενικό μέρος, ο μηχανισμός με τον οποίο τα μικροκύματα φονεύουν τους μικροοργανισμούς, δεν έχει ακόμη διευκρινιστεί πλήρως. Ωστόσο την τελευταία δεκαπενταετία, οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν ότι η θερμότητα, που παράγεται κατά το μικροκυματισμό, είναι αυτή που προκαλεί την καταστροφή των μικροοργανισμών (Coote et al, 1991, Welt et al, 1994, Kozempel et al, 1998, 2000, Ramaswamy et al, 2000).

Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, οι μικροοργανισμοί που καταστρέφονται από την ακτινοβολία των μικροκυμάτων, τόσο σε καλλιεργήματα, όσο και σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης, περιλαμβάνουν τα πιο κοινά παθογόνα, τα οποία είναι ικανά να προκαλέσουν τροφιμογενή νοσήματα, όπως *L. monocytogenes* (Farber et al, 1998), *C. perfringens* και *S. typhimurium* (Aleixo et al, 1985, Tassinari και Landgraf, 1997), *S. sofia*, *S. enteritidis* (Papadopoulou et al, 1995), *S. aureus* (Dreyfuss και Chipley, 1980, Papadopoulou et al, 1996, Daglioglu et al, 2002), *S. faecalis* και *Saccharomyces cerevisiae* (Lechowich et al, 1969, Papadopoulou et al, 1996) και *E. coli* (Fujikawa et al, 1991, Papadopoulou et al, 1996). Ωστόσο, σε πολλές πειραματικές μελέτες έχει διαπιστωθεί, ότι η ανομοιογενής κατανομή της θερμότητας, που αναπτύσσεται στο τρόφιμο κατά την έκθεση στα μικροκύματα, συμβάλλει στην επιβίωση διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών, συμπεριλαμβανομένων των: *Salmonella* spp. (Schnepf και Barbeau, 1989, Heddleson et al, 1996, Tassinari και Landgraf, 1997), *L. monocytogenes* (Harrison και Carpenter, 1989, Lund et al, 1989, Walker et al, 1989, Farber et al, 1998), *Toxoplasma gondii* (Lunden και Ugglå, 1992) και *Anisakis simplex* (Adams et al, 1999).



Όσον αφορά τη συμπεριφορά της *E. coli* O157:H7 μετά την έκθεσή της στην ακτινοβολία των μικροκυμάτων, είτε βρίσκεται σε καλλιέργημα είτε σε τρόφιμα, δεν υπάρχουν αναφορές. Για αυτό το λόγο η σύγκριση των αποτελεσμάτων της παρούσας πειραματικής μελέτης έχει γίνει με αντίστοιχες που αφορούν άλλα είδη μικροοργανισμών.

Οι περισσότερες από τις έρευνες της τελευταίας εικοσαετίας, οι οποίες συγκρίνουν την δράση των μικροκυμάτων με αυτή της συμβατικής θέρμανσης σε **μικροβιακά εναιωρήματα** καταλήγουν στη διαπίστωση, ότι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία φονεύει τα μικροβιακά κύτταρα εξαιτίας της θερμότητας που παράγεται, σε μικρότερο χρόνο από ό,τι στην κλασική θέρμανση. (Rosenberg και Bögl, 1987, Knutson et al, 1987). Στο ίδιο συμπέρασμα οδήγησαν και τα αποτελέσματα της παρούσας πειραματικής μελέτης. Συγκεκριμένα, η θέρμανση με μικροκύματα επί 30 δευτερόλεπτα προκαλούσε αύξηση της θερμοκρασίας του μικροβιακού εναιωρήματος, η οποία έφτανε στους 60° C (δηλαδή αύξηση περίπου 40 °C πάνω από την αρχική του θερμοκρασία). Αύξηση του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα οδηγούσε σε περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας και σε μεγαλύτερη μείωση του μικροβιακού φορτίου του εναιωρήματος. Μετά από 40 δευτερόλεπτα έκθεσης στα μικροκύματα η *E. coli* O157:H7 καταστράφηκε, ενώ η τελική θερμοκρασία ήταν 71°C (πίνακας 1).

Εξάλλου και στη περίπτωση του βρασμού, θερμοκρασία μεγαλύτερη των 71°C οδηγούσε στην πλήρη καταστροφή του μικροβίου, αλλά αυτό επιτυγχανόταν σε χρόνους πολύ μεγαλύτερους από αυτούς που παρατηρήθηκαν κατά την έκθεση στα μικροκύματα (πίνακας 2). Άλλωστε από το διάγραμμα 5 διαφαίνεται, ότι τα δείγματα του καλλιεργήματος παρουσίαζαν σχεδόν το ίδιο ποσοστό μείωσης του μικροβιακού



τους φορτίου, κατόπιν απορρόφησης ίδιας ποσότητας ενέργειας κατά το βρασμό και το μικροκυματισμό.

Το γεγονός ότι τα μικροκύματα ήταν πιο αποτελεσματικά από το βρασμό (από άποψη ταχύτητας) διαφαίνεται τόσο από τους πίνακες 1 και 2, όσο και από τα διαγράμματα 1, 3 και 6, καθώς οι θερμοκρασίες καταστροφής της *E. coli* O157:H7 επιτυγχάνονταν σε μικρότερους χρόνους. Επίσης, ο ρυθμός θανάτου $\Delta cfu / \Delta t$ του βακτηρίου ήταν μεγαλύτερος κατά την έκθεση του μικροβιακού εναιωρήματος στα μικροκύματα (διαγράμματα 1 και 3). Αυτό οφειλόταν στις συνθήκες του πειράματος: στην μεγαλύτερη ισχύ της πηγής των μικροκυμάτων από αυτή της πηγής του βρασμού. Οι χρόνοι που αντιστοιχούσαν στην πλήρη καταστροφή του μικροβίου ($cfu=0$) για τα μικροκύματα και το βρασμό ήταν αντιστρόφως ανάλογοι της παρεχόμενης ισχύος, [η ισχύς είναι το πηλίκο της ενέργειας που απορροφήθηκε από το εναιώρημα με το χρόνο ($P=E/t$)]. Συγκεκριμένα, η παρεχόμενη ισχύς της πηγής των μικροκυμάτων (Magnetron) υπολογίστηκε στα 259 ± 13 W. Η ονομαστική ισχύς του φούρνου μικροκυμάτων που χρησιμοποιήθηκε ήταν 650 W, όμως η ισχύς που απορρόφησε το δείγμα ήταν μόνο 259 W. Αντίθετα, η ισχύς που απορρόφησε το μικροβιακό εναιώρημα κατά την έκθεσή του στο σύστημα βρασμού (Bunsen) υπολογίστηκε στα 66 ± 8 W.

Στο διάγραμμα 6 παρουσιάζεται η επιβίωση του βακτηρίου ως συνάρτηση του γινομένου της απορροφούμενης ενέργειας και του χρόνου έκθεσης στα μικροκύματα και στο βρασμό ($A=E.t$). Σύμφωνα με το διάγραμμα αυτό τα μικροκύματα φαίνεται να υπερτερούν καθώς οι χρόνοι που απαιτήθηκαν για να απορροφηθεί ίδια ενέργεια από ίσους όγκους καλλιεργήματος, ώστε να καταστραφεί το μικρόβιο, ήταν μικρότεροι κατά τον μικροκυματισμό. Η διαφορά στην ταχύτητα δράσης οφειλόταν στη διαφορά της ισχύος των πηγών του βρασμού και των μικροκυμάτων.



Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν με αυτά των Papadopoulou και συν. (1995, 1996), οι οποίοι συνέκριναν τη μικροβιοκτόνο δράση των μικροκυμάτων με αυτήν του βρασμού σε καλλιεργήματα *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus marcerans*, *Escherichia coli*, *Salmonella sofia*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis* και *Pseudomonas aeruginosa*. Τα μικροκύματα βρέθηκαν να είναι πιο αποτελεσματικά από το βρασμό, διότι δρούσαν ταχύτερα και όχι επειδή επιδρούσαν με μηχανισμούς διαφορετικούς από αυτούς της θερμότητας. Η αύξηση της θερμοκρασίας ήταν η αιτία μείωσης του μικροβιακού φορτίου του καλλιεργήματος κατά την έκθεση στα μικροκύματα.

Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και άλλοι ερευνητές. Οι Welt και συν. (1994) απέδειξαν ότι δεν υπάρχει καμιά διαφορά μεταξύ μικροκυμάτων και συμβατικής θέρμανσης στην καταστροφή του *Clostridium sporogenes* PA3679 στους 90, 100 και 110°C. Ελαιώρημα σπόρων του μικροοργανισμού, που εκτέθηκε στην ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία και στη συνέχεια ψύχθηκε μέσα σε σωλήνα σιλικόνης, δεν παρουσίασε καμιά μείωση του πληθυσμού του. Οι Jeng και συν. (1987) δεν εντόπισαν καμιά διαφορά μεταξύ μικροκυμάτων και συμβατικής θέρμανσης στην αδρανοποίηση των σπόρων του *B. subtilis*. Επίσης οι Fujikawa και συν. (1992) δεν διαπίστωσαν κάποια διαφορετική δράση των μικροκυμάτων από αυτή του βρασμού, σε ό,τι αφορά την αποστείρωση αλατούχου διαλύματος ενοφθαλμισμένο με *E. coli*. Στις ίδιες διαπιστώσεις κατέληξαν και οι Goldblith και Wang (1967), Vela και Wu (1979), Ramaswamy και συν. (2000) και Kozempel και συν. (2000).

Η δεύτερη σειρά πειραμάτων αφορούσε την δράση των μικροκυμάτων στην επιβίωση της *E. coli* O157:H7, όταν αυτή μολύνει το γάλα. Πολλές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί αναφορικά με την εξυγίανση του γάλακτος με μικροκύματα και με



την επίδραση που ασκούν στα συστατικά του. Ωστόσο θα πρέπει να επισημανθεί η μεγάλη ανομοιογένεια της τελικής θερμοκρασίας του γάλακτος στα διάφορα σημεία της μάζας του, μετά το μικροκυματισμό του. Έχουν περιγραφεί αρκετά πειράματα, που αφορούν την καταμέτρηση της θερμοκρασίας στην κορυφή, στο μέσο και στο βυθό ποσότητας γάλακτος μετά την έκθεσή του μικροκύματα. Οι Eberhard και συν. (1990, 1991) παρατήρησαν ότι, όταν θερμαίνονταν 900 mL γάλακτος σε φούρνο μικροκυμάτων και η επιφάνεια είχε θερμοκρασία βρασμού, η τιμή στη μέση ήταν 78°C και στο βυθό μόνο 50°C. Η θέρμανση του γάλακτος με μικροκύματα απαιτεί περισσότερο χρόνο από ό,τι το νερό, πιθανόν εξαιτίας της παρουσίας των συστατικών του γάλακτος, (λίπος, ιόντα Ca^{2+}). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν με τον πουρέ πατάτας, όπου η παρουσία των διαφορετικών συγκεντρώσεων ιόντων οδηγεί σε ανομοιογενή κατανομή της θερμοκρασίας, (Dealer και Lacey, 1990, Dehne et al, 1991).

Στην παρούσα πειραματική μελέτη η τιμή της τελικής θερμοκρασίας ήταν η μέση τιμή μετά από ανάδευση του γάλατος και καταμετρήθηκε στο κέντρο της μάζας του. Όπως φαίνεται από τους πίνακες 1 και 3 καθώς και από τα διαγράμματα 2 και 8, οι τελικές θερμοκρασίες ήταν χαμηλότερες στο γάλα από εκείνες που καταγράφηκαν στο πείραμα του καθαρού μικροβιακού εναιωρήματος στους ίδιους χρόνους έκθεσης στα μικροκύματα. Αναλυτικά, για τους χρόνους 10 και 20 δευτερολέπτων, οι τελικές θερμοκρασίες ήταν παρόμοιες, ενώ για τους υπόλοιπους χρόνους οι διαφορές στη θερμοκρασία ήταν εμφανείς (πίνακες 1 και 3). Για να επιτευχθούν θερμοκρασίες πέρα των 70°C και επομένως να επέλθει η πλήρης καταστροφή του βακτηρίου, απαιτήθηκε μικροκυματισμός του καλλιεργήματος επί 40 δευτερόλεπτα, και του γάλακτος επί 50 δευτερόλεπτα. Το ίδιο παρατηρήθηκε και με το βρασμό, όπου ο χρόνος θέρμανσης του γάλακτος ήταν πολύ μεγαλύτερος από εκείνον του μικροβιακού εναιωρήματος



(πίνακες 2 και 4, διαγράμματα 3 και 9). Για το μολυσμένο γάλα απαιτήθηκε χρόνος 193 δευτερολέπτων (μέση τιμή τριών πειραμάτων) για να αποστειρωθεί, ενώ για το μικροβιακό εναιώρημα 145 δευτερολέπτων (μέση τιμή τριών πειραμάτων).

Συνεπώς, η θερμότητα που παράχθηκε κατά την έκθεση του γάλακτος στα μικροκύματα ήταν αυτή που κατέστρεψε την *E. coli* O157:H7. Εξάλλου από τον πίνακα 3 φαίνεται ότι στους 62°C επέζησε, ενώ στους 74°C φονεύτηκε. Λαμβάνοντας υπόψη το μεγαλύτερο χρόνο, που απαιτείται για να θερμανθεί γάλα στο φούρνο μικροκυμάτων από ό,τι νερό, στις περιπτώσεις που οι καταναλωτές επιθυμούν να ζεστάνουν μη παστεριωμένο γάλα είναι απαραίτητο η θερμοκρασία του γάλακτος να υπερβαίνει τους 75°C σε όλη τη μάζα του.

Στην υπάρχουσα βιβλιογραφία αναφέρονται ανάλογα πειράματα με άλλα είδη μικροοργανισμών. Ορισμένοι ερευνητές έχουν προσπαθήσει να προσομοιώσουν τις συνθήκες της παστερίωσης χρησιμοποιώντας οικιακό φούρνο μικροκυμάτων, έτσι ώστε να διερευνηθεί κατά πόσο τα μικροκύματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για αυτό το σκοπό. Συγκεκριμένα, οι Knutson και συν. (1988) προσπάθησαν να προσομοιώσουν τις μεθόδους παστερίωσης του γάλακτος {υψηλή θερμοκρασία, μικρός χρόνος (HTST) και χαμηλή θερμοκρασία, μεγάλος χρόνος (LTLT)}, εκμεταλλευόμενοι την ενέργεια των μικροκυμάτων. Διαπίστωσαν ότι η ανομοιογενής κατανομή της θερμοκρασίας στο γάλα είχε ως αποτέλεσμα την επιβίωση της *Salmonella typhimurium*, όταν η τελευταία επιμόλυνε το γάλα σε συγκέντρωση 3-4 log₁₀ cfu/mL. Η παστερίωση LTLT του γάλατος σε φούρνο μικροκυμάτων είχε μικρότερη μικροβιοκτόνο δράση, από ό,τι η κλασική παστερίωση LTLT.

Επίσης, οι Thompson και Thompson (1990), εξέτασαν τη μικροβιολογική ασφάλεια του γάλακτος αιγός, όταν αυτό παστεριώνεται σε οικιακό φούρνο μικροκυμάτων. Ειδικότερα, θέρμαναν 25 δείγματα απαστερίωτου γάλατος σε φούρνο



μικροκυμάτων για 30 λεπτά στους 65°C και διαπίστωσαν μείωση του ολικού μικροβιακού φορτίου κατά 5 δεκαδικούς λογαριθμικούς κύκλους. Ωστόσο, στην παραπάνω μελέτη δεν αναφέρεται η τύχη των παθογόνων μικροβίων που μπορεί να υπάρχουν στο γάλα.

Σύμφωνα με άλλες έρευνες, η επίδραση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας στο αγελαδινό ή στο ανθρώπινο γάλα είναι ικανή να μειώσει το μικροβιακό τους φορτίο (Jaynes, 1975, Merin και Rosenthal, 1984, Sigman et al, 1989). Οι Demel και συν. (1990) απέδειξαν ότι η ενέργεια των μικροκυμάτων όταν επέδρασε για 2,5 λεπτά, κατέστρεψε το 97,7% των μικροοργανισμών που επιμολύνουν το γάλα. Σε ανάλογο συμπέρασμα κατέληξαν οι Stearns και Vasavada (1986), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι η επίδραση των μικροκυμάτων στο γάλα για 65 δευτερόλεπτα επέφερε μείωση του μικροβιακού πληθυσμού του κατά 99,9%. Όταν γάλα βουβαλίδος μικροκυματίστηκε επί 120 και 150 δευτερόλεπτα παρουσίασε μείωση της ολικής μικροβιακής χλωρίδας κατά 97,4 και 99,5% αντίστοιχα (El-Shibiny et al, 1982).

Οι Knutson και συν. (1988) και οι Choi και συν. (1993a, 1993b) προσπάθησαν να καταστρέψουν, με τη βοήθεια της ενέργειας των μικροκυμάτων, αρκετά μεγάλο αριθμό παθογόνων μικροοργανισμών στο γάλα, όπως *Streptococcus faecalis*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni* και *Listeria monocytogenes*. Οι Choi και συν. χρησιμοποίησαν αποστειρωμένο γάλα, το οποίο και μόλυναν με *Y. enterocolitica*, *C. jejuni* ή *L. monocytogenes*, σε συγκεντρώσεις 10^6 - 10^7 cfu/mL. Δείγματα των 20 mL του μολυσμένου γάλακτος θερμάνθηκαν μέσα σε υδατόλουτρο σε φούρνο μικροκυμάτων στους 71,1°C επί 1 έως 20 λεπτά (*Y. enterocolitica*, *C. jejuni*) και επί 1 έως 60 λεπτά (*L. monocytogenes*). Τα στελέχη *Y. enterocolitica* φονεύτηκαν ύστερα

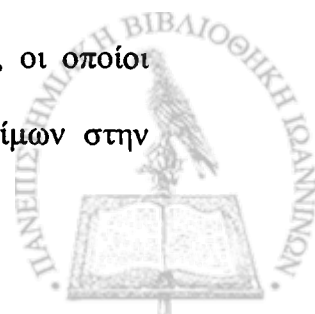


από 8 λεπτά έκθεσης στα μικροκύματα, τα στελέχη *C. jejuni* μετά από 3 λεπτά και τα στελέχη της *L. monocytogenes* μετά από 19 λεπτά.

Επίσης αρκετές είναι οι έρευνες, που αφορούν την επίδραση των μικροκυμάτων στα συστατικά του γάλακτος και κυρίως του αγελαδινού. Οι Demel και συν. (1990) διαπίστωσαν ότι η θέρμανση με μικροκύματα του παστεριωμένου γάλατος δεν επέφερε καμία μείωση του ποσού της βιταμίνης A, των β-καροτένιων, των βιταμινών B₁ και B₂, ενώ οδήγησε σε μείωση κατά 17% της βιταμίνης E και κατά 36% της βιταμίνης C. Αντίθετα οι Brinkmann και συν. (1993) συμπέραναν ότι το μικροκυματιζόμενο γάλα είχε απώλειες όσον αφορά τη βιταμίνη A της τάξης του 27,1% στο απαστερίωτο, 6,8% στο παστεριωμένο και 9,8% στο γάλα μακράς διάρκειας. Οι Medrano και συν. (1994) επιπλέον απέδειξαν ότι η συγκέντρωση της ριβοφλαβίνης δεν άλλαξε σημαντικά στο γάλα με λίγα λιπαρά όταν μικροκυματίστηκε, ενώ μειώθηκαν σε μεγάλο βαθμό οι συγκεντρώσεις της ρετινόλης και της τοκοφερόλης.

Παρόλο που η δράση των μικροκυμάτων στο γάλα έχει απασχολήσει αρκετούς ερευνητές, το μεγαλύτερο μέρος της έρευνας στον τομέα αυτό αφορά την δράση των μικροκυμάτων σε **στερεά τρόφιμα και κυρίως σε προϊόντα κρέατος**. Συγκεκριμένα αφορά την δράση των μικροκυμάτων στην επιβίωση διαφόρων παθογόνων και μη παθογόνων μικροοργανισμών, όταν αυτοί επιμολύνουν διάφορα τρόφιμα, όπως πουλερικά, διάφορα είδη κρεάτων, αυγά, προμαγειρευμένα γεύματα. Επίσης, υπάρχουν μελέτες που συσχετίζουν τη σύσταση των τροφίμων (λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, περιεκτικότητα σε καρυκεύματα, αλάτι) με την τελική θερμοκρασία.

Είναι χαρακτηριστική η μελέτη των Heddleson και συν. (1991), οι οποίοι προσπάθησαν να εξηγήσουν την επίδραση των συστατικών των τροφίμων στην



τελική θερμοκρασία και κατά συνέπεια στην επιβίωση των στελεχών της *Salmonella* spp. Κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι μόνο το χλωριούχο νάτριο επηρεάζει στατιστικώς σημαντικά ($P < 0,05$) την τελική θερμοκρασία και επομένως την επιβίωση ή όχι της *Salmonella*. Η παρουσία χλωριούχου νατρίου προκαλεί μεγάλη ανομοιογένεια στη θερμοκρασία σε διάφορα σημεία του τροφίμου, με επακόλουθο την ανίχνευση κάποιων ζωντανών κυττάρων *Salmonella*. Σε άλλη εργασία των ίδιων ερευνητών (1994), υποστηρίζεται ότι το χλωριούχο νάτριο είναι υπεύθυνο για την επιβίωση της *L. monocytogenes* και του *S. aureus* ενώ η επίδραση των λιπιδίων, των υδατανθράκων και των πρωτεϊνών δεν θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

Σε πειραματική μελέτη των Tassinari και Landgraf (1997) εξετάστηκε η πιθανότητα επιβίωσης της *S. typhimurium* κατά την επαναθέρμανση γευμάτων, όπως παιδικών τροφών, πουρέ πατάτας και βοδινού με κρέμα, σε κλασικό φούρνο μικροκυμάτων (750 W) και σε φούρνο μικροκυμάτων τελευταίας τεχνολογίας (700 W), ο οποίος έχει την ικανότητα να καθορίζει το χρόνο μικροκυματισμού των τροφίμων με βάση την τελική τους θερμοκρασία (preset controls). Τα αποτελέσματα ήταν εντυπωσιακά, καθώς το 47,8 % των γευμάτων, που επαναθερμάνθηκαν στον κλασικό φούρνο μικροκυμάτων και το 93,3 % αυτών που θερμάνθηκαν στο δεύτερο, εξακολούθουσαν να ήταν μολυσμένα με το στέλεχος *S. typhimurium*. Οι ερευνητές συμπέραναν ότι η επαναθέρμανση μολυσμένων γευμάτων σε φούρνο μικροκυμάτων δεν είναι μικροβιολογικά ασφαλής.

Οι Schnepf και Barbeau (1989) συνέκριναν την αποτελεσματικότητα των απλών φούρνων μικροκυμάτων, των φούρνων μικροκυμάτων που φέρουν και grill και των ηλεκτρικών φούρνων στην καταστροφή της *S. typhimurium* όταν επιμολύνει κρέας κοτόπουλου. Ο φούρνος μικροκυμάτων αποδείχθηκε ο λιγότερος αποτελεσματικός στην καταστροφή της *S. typhimurium*. Το πείραμα βασιζόταν στην



εμβάπτιση κοτόπουλων σε ζωμό πεπτόνης που περιείχε 10^7 cfu/mL του μικροοργανισμού και στη συνέχεια τη θέρμανση τους έως ότου η θερμοκρασία στο εσωτερικό τους να φτάσει τους 74, 77, 79 και 85°C. Οι θερμοκρασίες αυτές είναι οι ελάχιστες εσωτερικές, που προτείνονται από το Υπουργείο Γεωργίας των Η.Π.Α. (USDA) (71°C), από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) (74°C) και από την Αμερικανική Ένωση Οικιακής Οικονομίας (American Home Economics Association) (85°C). Οι πειραματισμοί έδειξαν ότι ακόμη και στους 85°C τα μικροκύματα δεν φόνευσαν τη *Salmonella* σε κανένα από τα τρία κοτόπουλα που χρησιμοποιήθηκαν. Πιθανόν η *Salmonella* να επιβίωσε στο εξωτερικό του κοτόπουλου και γι' αυτό θεωρείται επισφαλές να εκλαμβάνεται η εσωτερική θερμοκρασία ως κριτήριο μικροβιολογικής ασφάλειας κατά τη θέρμανση των τροφίμων σε φούρνο μικροκυμάτων.

Κατά τη θερμική επεξεργασία με μικροκύματα η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία εισχωρεί στο τρόφιμο, οπότε είναι δυνατόν το ψυχρότερο σημείο να εντοπίζεται στην επιφάνεια των στερεών τροφίμων, εξαιτίας του φαινομένου της εξάτμισης. Αντίθετα κατά τη θέρμανση σε συμβατικό ηλεκτρικό φούρνο, εξαιτίας του φαινομένου της αγωγής, μεταφέρεται θερμότητα από την επιφάνεια της μάζας στο εσωτερικό της (Heddleson και Doores, 1994). Γι' αυτόν το λόγο οι διάφοροι Οργανισμοί που ασχολούνται με την ασφάλεια των τροφίμων, θέτουν ως κριτήριο μικροβιολογικής ασφάλειας την ελάχιστη θερμοκρασία στο εσωτερικό του τροφίμου.

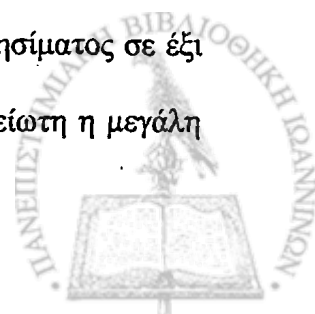
Στην παραπάνω εργασία η θερμομέτρηση στο εσωτερικό του κοτόπουλου πραγματοποιήθηκε με θερμόμετρο ενσωματωμένο σε ένα σημείο του τροφίμου (τύπου pop-up), πράγμα που μπορεί να οδήγησε στη μη ορθή καταγραφή της θερμοκρασίας, καθώς χρησιμοποιήθηκε μόνο ένα θερμόμετρο για ολόκληρη τη μάζα του κοτόπουλου.



Ανάλογη εργασία είναι και αυτή των Lindsay και συν. (1986), στην οποία το 56% των κοτόπουλων που μολύνθηκαν με 5×10^5 cfu/g *Salmonella* και στη συνέχεια ψήθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων, έφεραν ακόμη ζωντανά κύτταρα του μικροβίου. Και σε αυτήν την έρευνα οι συγγραφείς θεώρησαν ότι η καταγραφή της εσωτερικής θερμοκρασίας δεν αποτελεί κριτήριο μικροβιολογικής ασφάλειας για τα τρόφιμα που υφίστανται θερμική επεξεργασία με μικροκύματα.

Οι Lund και συν. (1989) εξέτασαν την επιβίωση της *L. monocytogenes* στην επιφάνεια κοτόπουλου αλλά και στη γέμιση. Συγκεκριμένα, μόλυναν την επιφάνεια του κοτόπουλου και τη γέμιση με 10^7 cfu/g *Listeria*. Παρόλο που το ψήσιμο και ο επιπλέον χρόνος παραμονής μετά το ψήσιμο μέσα στο φούρνο επέφεραν ισοκατανομή της θερμοκρασίας στο τρόφιμο και στη μείωση του μικροβιακού φορτίου κατά 10^6 , κάποια μικροβιακά κύτταρα επιβίωσαν. Επίσης, παρόλο που οι θερμοκρασίες που καταγράφηκαν ήταν αρκετά υψηλές (κυμάνθηκαν από 72 έως 85°C μέσα στη γέμιση), η λιστέρια επέζησε. Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι η ανομοιογενής κατανομή της θερμοκρασίας στα μικροκυματιζόμενα τρόφιμα επέτρεψε την επιβίωση ορισμένων μικροβιακών κυττάρων και για το λόγο αυτό συνέστησαν την παραμονή των τροφίμων μέσα στο φούρνο μικροκυμάτων μετά το πέρας του ψησίματος για αρκετά λεπτά, ώστε να μην υπάρχουν διαφορές θερμοκρασίας μέσα στο τρόφιμο.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η εργασία των Farber και συν. (1998) κατά την οποία οι ερευνητές χρησιμοποίησαν 17 διαφορετικούς φούρνους μικροκυμάτων, όπου έψησαν 174 κοτόπουλα. Τα κοτόπουλα ήταν φυσικώς μολυσμένα με *Listeria* spp. Η θερμική επεξεργασία πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις οδηγίες που συνόδευαν τον κάθε φούρνο, ενώ η θερμοκρασία καταγράφηκε μετά το τέλος του ψησίματος σε έξι διαφορετικά σημεία στην επιφάνεια των κοτόπουλων. Είναι αξιοσημείωτη η μεγάλη



ανομοιογένεια της τελικής θερμοκρασίας, η οποία κυμάνθηκε από τους 50°C έως τους 100°C. Στα δέκα από τα 174 κοτόπουλα, ο μικροοργανισμός επιβίωσε και μετά το ψήσιμο στα μικροκύματα. Επιπλέον ορισμένα από τα κοτόπουλα ήταν εμφανώς άψητα. Οι ερευνητές θεώρησαν ότι οι οδηγίες που συνοδεύουν τους φούρνους μικροκυμάτων βασίζονται περισσότερο στα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του τροφίμου (όψη ψημένου, καλή γεύση και οσμή) και λιγότερο στη μικροβιολογική του ασφάλεια. Επίσης θεώρησαν ότι η θέρμανση των κοτόπουλων στα μικροκύματα και σε θερμοκρασίες μικρότερες των 85°C είναι δυνατό να οδηγήσει σε επιβίωση κάποιων παθογόνων μικροοργανισμών που φυσικώς επιμολύνουν το κρέας κοτόπουλου. Γι' αυτό συνιστούν την κάλυψη με μεμβράνη κατά το ψήσιμο για πλέον ομοιογενή τελική θερμοκρασία και τη θέρμανση στα μικροκύματα όσο το δυνατόν μικρότερων μερίδων κοτόπουλου.

Τα αποτελέσματα της παρούσας πειραματικής μελέτης συμφωνούν με τις παραπάνω μελέτες σε ό,τι αφορά το κρέας κοτόπουλου. Ειδικότερα, στο πείραμα με τα ολόκληρα κοτόπουλα ήταν χαρακτηριστική η ανομοιογένεια της τελικής θερμοκρασίας, η οποία κυμαινόταν από τους 60,2 έως τους 92°C (πίνακας 7). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα κοτόπουλα ήταν εμφανώς ψημένα, ωστόσο οι οδηγίες που συνόδευαν το φούρνο μικροκυμάτων αποδείχθηκαν ανεπαρκείς όσον αφορά την πλήρη καταστροφή όλων των κυττάρων της *E. coli* O157:H7.

Εξάλλου, σε μελέτη των Goksoy και συν. (1999) επίσης διαπιστώθηκε μεγάλη ανομοιογένεια στη θερμοκρασία στην επιφάνεια του κοτόπουλου. Οι συγγραφείς επεσήμαναν ότι το ίδιο σημείο του κοτόπουλου (φτερούγα, μηρός κ.ά) ήταν δυνατόν να είχε διαφορετική θερμοκρασία (μέχρι και 30°C) σε διαφορετικά πειράματα που έγιναν κάτω από τις ίδιες συνθήκες [μικροκυμάτιζαν κοτόπουλα για λίγα δευτερόλεπτα με σκοπό την αύξηση του χρόνου συντήρησης (shelf-life)]. Επιπλέον



μεταξύ των διαφόρων σημείων, στο ίδιο κοτόπουλο, η τελική θερμοκρασία διέφερε έως και 61°C. Οι διαπιστώσεις αυτές είναι ανάλογες με αυτές της δικής μας πειραματικής μελέτης, όπου το ίδιο σημείο σε διαφορετικά πειράματα παρουσίαζε μεγάλη ανομοιογένεια στη θερμοκρασία που επιτυγχανόταν (ο δεξιός μηρός στο πρώτο πείραμα είχε τελική θερμοκρασία 92°C και στο τρίτο 72,4°C). Εκτός αυτού, στο πρώτο πείραμα η δεξιά φτερούγα παρουσίαζε θερμοκρασία 66,7°C και ο δεξιός μηρός 92°C (πίνακας 7).

Στο πείραμα με τις μερίδες κοτόπουλου η τελική θερμοκρασία έπρεπε να ξεπεράσει τους 74°C για να επιτευχθεί πλήρης καταστροφή της *E. coli* O157:H7. Θεωρείται σκόπιμο να σημειωθεί ότι από τα 15 πρώτα δευτερόλεπτα έκθεσης στα μικροκύματα οι μερίδες του κοτόπουλου φαινόταν ήδη ψημένες (κάλλιστα κάποιος θα μπορούσε να τις καταναλώσει), ενώ η μέση τελική θερμοκρασία τους ήταν περίπου 48°C και το μικροβιακό τους φορτίο παρέμεινε υψηλό (πίνακας 5, διάγραμμα 11).

Η διαπίστωση αυτή είναι πολύ σημαντική αναφορικά με τη μικροβιολογική ασφάλεια των τροφίμων. Κατά τη θερμική επεξεργασία των τροφίμων με μικροκύματα η εξωτερική εμφάνιση των τροφίμων δεν πρέπει να αποτελεί βασική παράμετρο για τον καθορισμό του χρόνου ψησίματος, αλλά η τελική του θερμοκρασία. Είναι χαρακτηριστικό ότι σε χώρες της Ε.Ε οι οδηγίες που συνοδεύουν τα προμαγειρευμένα φαγητά - τα οποία ως επί το πλείστον θερμαίνονται σε φούρνο μικροκυμάτων - αναγράφουν ότι πρέπει να θερμαίνονται έως το σημείο έκλυσης ατμών από το τρόφιμο, διότι με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται υψηλή τελική θερμοκρασία σε όλη τη μάζα του προϊόντος.

Σε άλλη εργασία οι Baker και συν. (1983) μόλυναν διάφορα προϊόντα, που είχαν κύριο συστατικό το κοτόπουλο, με *S. typhimurium* και *S. aureus* και στη



συνέχεια τα θέρμαναν σε φούρνο μικροκυμάτων. Παρατήρησαν ότι η αρχική συγκέντρωση των μικροβίων, που ήταν 10^6 cfu/g μειώθηκε σε λιγότερο από 1 cfu/g. Όμως, το ασφαλές όριο κατανάλωσης τροφίμων και για τα δύο μικρόβια είναι 0 cfu/g. Οι ερευνητές υποστήριξαν ότι απαιτούνται μεγαλύτερες θερμοκρασίες και μεγαλύτεροι χρόνοι θέρμανσης των πουλερικών με μικροκύματα.

Σε ανάλογο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Walker και συν. (1989), οι οποίοι μόλυναν με στέλεχος *L. monocytogenes* μεγάλη ποικιλία προμαγειρευμένων γευμάτων με βάση το κρέας κοτόπουλου. Τα γεύματα αυτά θερμάνθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων σύμφωνα με τις οδηγίες της εταιρίας που τα παρασκεύαζε. Παρατηρήθηκε μεγάλη ανομοιογένεια στην τελική θερμοκρασία, έως και 50°C διαφορά από το ένα σημείο στο άλλο, η οποία οδήγησε στην επιβίωση του μικροβίου σε αρκετές περιπτώσεις.

Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η εργασία των Harrison και Carpenter (1989), στην οποία δείγματα από στήθος νωπών κοτόπουλων μολύνθηκαν επιφανειακά με *L. monocytogenes*, και στη συνέχεια θερμάνθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων έως ότου η εσωτερική θερμοκρασία έφτασε τους $65,6$, $71,7$, $73,9$, $76,7$ και $82,2^{\circ}\text{C}$ και στη συνέχεια συσκευάστηκαν, είτε αεροστεγώς και συντηρήθηκαν για 4 εβδομάδες στους 4°C , είτε με διαπερατή από τον αέρα μεμβράνη και συντηρήθηκαν για 10 μέρες στους 10°C . Σε καμιά από τις θερμοκρασίες ο μικροοργανισμός δεν καταστράφηκε εντελώς, οδηγώντας τους συγγραφείς στο συμπέρασμα, ότι στην περίπτωση των μικροκυμάτων δεν θεωρείται ασφαλής πρακτική η θερμομέτρηση στο εσωτερικό του τροφίμου. Επιπλέον, η συντήρηση του προϊόντος στους 4°C αεροστεγώς διατήρησε το αρχικό μικροβιακό του φορτίο, χωρίς να επέλθει κάποια αύξηση. Όμως, η συντήρηση στους 10°C με μεμβράνη διαπερατή από τον αέρα αύξησε το μικροβιακό πληθυσμό στην αρχική του συγκέντρωση (10^5 έως 10^7 cfu/mL).



Πρέπει να επισημανθεί ότι πειραματικές μελέτες, που αφορούν την επιβίωση της *E. coli* O157:H7 ύστερα από έκθεσή της σε συμβατική θέρμανση, έδειξαν ότι καταστρέφεται επαρκώς στα τρόφιμα στους 68,3°C για 16,2 δευτερόλεπτα (Meng and Doyle 1998). Εξάλλου άλλες μελέτες απέδειξαν ότι θέρμανση με εσωτερική θερμοκρασία 65°C καταστρέφει την *E. coli* O157:H7 μέσα σε 1,45 λεπτά στο κρέας γαλοπούλας, σε 1,90 λεπτά στο κρέας αρνιού, σε 1,6 λεπτά στο χοιρινό, σε 7,25 λεπτά στο βοδινό και σε 2,6 λεπτά στο κρέας κοτόπουλου (Juneja και συν 1997, Juneja and Marmar 1999). Τα αποτελέσματα του πειράματος με τα ολόκληρα κοτόπουλα (πίνακας 7) επιβεβαιώνουν ότι η ανομοιογενής κατανομή της θερμοκρασίας στο τρόφιμο επιφέρει τη δημιουργία θερμών, αλλά και επικίνδυνων ψυχρών ζωνών, όπου τα παθογόνα μπορεί να επιβιώσουν. Μία δεκαετία πριν, οι Heddleson and Doores (1994) επεσήμαναν ότι η παστερίωση του γάλατος στο σπίτι σε οικιακούς φούρνους μικροκυμάτων είναι προβληματική και επικίνδυνη, εξαιτίας της ανομοιογενούς κατανομής της θερμοκρασίας. Επίσης από τη δεκαετία του '80, οι Knutson και συν. (1987) επεσήμαναν ότι η ταχύτατη θέρμανση των τροφίμων μέσα στο φούρνο μικροκυμάτων δεν επιτρέπει την επίτευξη ικανοποιητικού αθροιστικού χρόνου έκθεσης στη σωστή θερμοκρασία, που είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την καταστροφή των μικροοργανισμών.

Εκτός βέβαια από τα βακτήρια αντικείμενο ανάλογης έρευνας αποτέλεσαν και ορισμένα παράσιτα που μολύνουν τα τρόφιμα. Συγκεκριμένα, οι Lundén και Uggla (1992) εξέτασαν την επίδραση των μικροκυμάτων στο *Toxoplasma gondii* και διαπίστωσαν ότι το παράσιτο μπορούσε να παραμείνει ζωντανό σε περίπτωση που το τρόφιμο δεν θερμαινόταν αρκετά. Και πάλι η ανομοιογενής θερμοκρασία ήταν η αιτία ανίχνευσης ζωντανών παρασίτων.



Σε ανάλογο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Adams και συν. (1999), οι οποίοι εξέτασαν κατά πόσο η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία καταστρέφει προνύμφες του νηματέλμινθα του είδους *Anisakis*, όταν βρίσκονται σε φιλέτο ψαριού. Κατέληξαν στη διαπίστωση ότι τα φιλέτα ψαριών παρουσίαζαν ψυχρά σημεία κατά τη θέρμανσή τους με τα μικροκύματα και αυτό οδηγούσε στην επιβίωση των προνυμφών. Στην περίπτωση, όμως, που η θερμοκρασία ξεπερνούσε τους 70°C καμία προνύμφη δεν παρέμενε ζωντανή.

Όσον αφορά το πείραμα με τον κιμά από κρέας μόσχου πρέπει να αναφερθεί ότι θερμοκρασία άνω των 75°C εξασφάλιζε την πλήρη καταστροφή της *E. coli* O157:H7. Ωστόσο, ήδη από τα 35 δευτερόλεπτα έκθεσης στα μικροκύματα τα μπιφτέκια φαίνονταν ήδη ψημένα, παρόλο που η εξωτερική τους θερμοκρασία δεν ξεπερνούσε τους 68°C. Απαιτήθηκε περαιτέρω θέρμανσή τους για να καταστραφεί πλήρως το βακτήριο, πράγμα που επιτεύχθηκε στα 50 δευτερόλεπτα, όταν η εξωτερική θερμοκρασία ξεπέρασε τους 75°C (πίνακας 6, διάγραμμα 13).

Η παραπάνω διαπίστωσή μας έρχεται σε συμφωνία με την εργασία των Hollywood και συν. (1991), οι οποίοι εξέτασαν τη μικροβιολογική ασφάλεια του βοδινού κιμά, όταν θερμαινόταν λίγο, μέτρια και πολύ καλά στο φούρνο μικροκυμάτων και στο συμβατικό φούρνο. Ειδικότερα, χρησιμοποίησαν δείγματα κιμά των 500 g, τα οποία έψησαν από 7 έως 11 λεπτά (53 έως 72,6°C αντίστοιχη τελική θερμοκρασία) σε φούρνο μικροκυμάτων και από 20 έως 30 λεπτά στους 200°C (68 έως 92°C αντίστοιχη τελική θερμοκρασία) στο συμβατικό φούρνο. Και στις δύο περιπτώσεις τα δείγματα καλύπτονταν με αλουμινόχαρτο μετά το πέρας του ψησίματος για περίπου 30 λεπτά. Διαπιστώθηκε ότι ο συμβατικός φούρνος ήταν περισσότερο αποτελεσματικός στη μείωση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας, ακόμη και στην περίπτωση που ο κιμάς θερμαινόταν λίγο. Επιπλέον ανιχνεύτηκε *Listeria* σε



ένα από τα τρία δείγματα που ψήθηκαν μέτρια στο φούρνο μικροκυμάτων, ενώ κανένα κύτταρο του μικροοργανισμού δεν ανιχνεύτηκε κατά το ψήσιμο στο συμβατικό φούρνο. Οι συγγραφείς ανέφεραν ότι η κάλυψη με αλουμινόχαρτο του κιμά μετά το πέρας του ψησίματος κρίνεται απαραίτητη, για την εξισορρόπηση της θερμοκρασίας και την περαιτέρω μείωση του μικροβιακού του φορτίου.

Σε άλλη εργασία των Yilmaz και συν. (2002), συγκρίθηκε η αποτελεσματικότητα των μικροκυμάτων, του συμβατικού φούρνου και του grill στη μείωση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας των παραδοσιακών κεφτέδων που παρασκευάζονται στην Τουρκία. Οι συγγραφείς υποστήριξαν ότι η θέρμανση με μικροκύματα εκτός του ότι επέφερε απώλεια υγρών και λίπους στους κεφτέδες - κάτι που διαπιστώθηκε και στην παρούσα εργασία - απαιτούσε μεγαλύτερη τελική θερμοκρασία, για να είναι αποτελεσματική.

Οι Wright-Rudolph και συν. (1986) θέρμαναν κρεατόπιτα από βοδινό κιμά σε ηλεκτρικό φούρνο και σε φούρνο μικροκυμάτων, έως ότου η εσωτερική θερμοκρασία ανεβεί τους 71 ή στους 95°C και στη συνέχεια εξέτασαν την επιβίωση του *C. perfringens*. Από τα πειράματα που διεξήγαγαν συμπέραναν ότι τα μικροκύματα δεν είναι το ίδιο αποτελεσματικά στην καταστροφή παθογόνων μικροβίων όσο η συμβατική θέρμανση, στην περίπτωση που τα τρόφιμα θερμαίνονται στην ίδια τελική θερμοκρασία. Σε παρόμοια μελέτη, οι Crespo και Ockerman (1977) εξέτασαν τη διαφορά που πιθανόν υπάρχει στην επιβίωση της ολικής μεσόφιλης χλωρίδας του μοσχαρίσιου κιμά, όταν αυτός ψήνεται σε συμβατικό φούρνο και σε φούρνο μικροκυμάτων. Θέρμαιναν μερίδες κιμά σε συμβατικό φούρνο, που λειτουργούσε τόσο σε μεγάλη θερμοκρασία (232°C), όσο και σε μικρή (149°C) και άλλες σε φούρνο μικροκυμάτων, έως ότου η εσωτερική τους θερμοκρασία φτάσει τους 34, 61



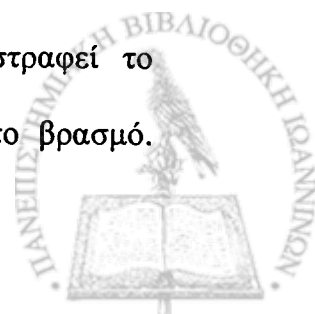
και 75°C. Διαπίστωσαν ότι το ψήσιμο στο φούρνο μικροκυμάτων ήταν το λιγότερο αποτελεσματικό στη μείωση του μικροβιακού φορτίου του κιμά.



8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα αποτελέσματα της παρούσας πειραματικής μελέτης προκύπτουν συνοπτικά τα εξής συμπεράσματα:

- ✓ Τα μικροκύματα έχουν επαρκή μικροβιοκτόνο δράση, όσον αφορά την επιβίωση της *E. coli* O157:H7, εφόσον χρησιμοποιούνται σε συνθήκες μέγιστης παρεχόμενης ισχύος και μέγιστου επιτρεπτού χρόνου.
- ✓ Από τα πειράματα της μελέτης αυτής προκύπτει, ότι η μικροβιοκτόνος δράση των μικροκυμάτων φαίνεται να οφείλεται στη θερμότητα, που παράγεται κατά την εφαρμογή τους. Το βακτήριο επέζησε σε θερμοκρασίες κάτω των 70°C (σε μικροβιακό εναιώρημα και σε τρόφιμα) ενώ καταστράφηκε πλήρως, όταν η θερμοκρασία ξεπέρασε τους 75°C. Στο πείραμα του μικροβιακού εναιωρήματος, τα δείγματα του καλλιεργήματος παρουσίαζαν σχεδόν το ίδιο ποσοστό μείωσης του μικροβιακού τους φορτίου, κατόπιν απορρόφησης ίδιας ποσότητας ενέργειας κατά το βρασμό και το μικροκυματισμό, ενώ η *E. coli* O157:H7 καταστράφηκε στην ίδια θερμοκρασία, τόσο στα μικροκύματα, όσο και στο βρασμό. Το ίδιο συνέβη και στο πείραμα με το γάλα.
- ✓ Στο καθαρό καλλιεργήμα της *E. coli* O157:H7 τα μικροκύματα αποδεικνύονται πιο αποτελεσματικά από το βρασμό, διότι είναι ταχύτερα, καθώς οι χρόνοι που απαιτούνται για να απορροφήσουν ίσοι όγκοι καλλιεργήματος την ίδια ενέργεια - και επομένως να καταστραφεί το βακτήριο - είναι μικρότεροι στον μικροκυματισμό από ό,τι στο βρασμό.



Ωστόσο αυτή η διαφορά οφείλεται στη διαφορά της ισχύος των πηγών του βρασμού και των μικροκυμάτων.

- ✓ Το γάλα παρότι υγρό τρόφιμο – που θα έπρεπε να συμπεριφερθεί όπως το εναιώρημα *E. coli* O157:H7 – απαιτεί περισσότερο χρόνο έκθεσης στα μικροκύματα για την αποτελεσματική μείωση του μικροβιακού του φορτίου. Κι' αυτό, διότι η ύπαρξη των συστατικών του γάλατος (λίπος, ιόντα) οδηγεί στην ανομοιογενή κατανομή της θερμοκρασίας και επομένως απαιτείται περισσότερος χρόνος για να ανέβει επαρκώς η θερμοκρασία σε όλη τη μάζα του, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η καταστροφή του βακτηρίου.
- ✓ Οι μερίδες του κοτόπουλου, όπως και ο κιμάς από κρέας μόσχου, απαιτούν τελικές θερμοκρασίες στην επιφάνειά τους ίδιες με αυτές των υγρών τροφίμων (> 75°C) για την πλήρη καταστροφή της *E. coli* O157:H7. Είναι αξιοσημείωτο, ότι και στις δύο περιπτώσεις το τρόφιμο φαίνεται ήδη ψημένο σε μικρότερο χρόνο, οπότε μπορεί και να καταναλωθεί. Ωστόσο, η ολοκληρωτική καταστροφή του βακτηρίου επιτυγχάνεται εφόσον παραταθεί η έκθεση στα μικροκύματα. Επισημαίνεται και πάλι, ότι η μικροβιοκτόνος δράση της ενέργειας των μικροκυμάτων εξασφαλίζεται σε συνθήκες μέγιστης ισχύος, αλλά και χρόνου.
- ✓ Οι οδηγίες των οικιακών φούρνων μικροκυμάτων βασίζονται περισσότερο σε ένα αποδεκτό για τον καταναλωτή προϊόν (όψη ψημένου, καλή γεύση και οσμή) και όχι στη μικροβιολογική του ασφάλεια. Επιπλέον, παρατηρείται μεγάλη ανομοιογένεια στην τελική θερμοκρασία των τροφίμων που μικροκυματίζονται, ιδιαίτερα μάλιστα, όταν έχουν μεγάλη μάζα – όπως στο πείραμα με τα ολόκληρα κοτόπουλα.



- ✓ Συνιστάται λοιπόν, η θέρμανση με μικροκύματα όσο το δυνατόν μικρότερων μερίδων και μέχρι την έκλυση ατμών από το τρόφιμο, καθώς με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται η υψηλή τελική θερμοκρασία σε όλη τη μάζα του προϊόντος (ένδειξη που αναγράφεται στη συσκευασία προμαγειρευμένων φαγητών σε χώρες Ε.Ε.)



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα μικροκύματα είναι ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία με μήκος κύματος μεταξύ των ραδιοκυμάτων και της υπέρυθρης ακτινοβολίας και η συχνότητά τους κυμαίνεται από 300 MHz έως 300 GHz. Εφαρμογή της τεχνολογίας των μικροκυμάτων αποτελεί ο φούρνος μικροκυμάτων, τον οποίο χρησιμοποιούν εκατομμύρια νοικοκυριά σε όλο τον κόσμο. Η θέρμανση προμαγειρευμένων φαγητών, αλλά και το μαγείρεμα νωπών προϊόντων σε φούρνο μικροκυμάτων, αποτελεί κοινή πρακτική. Ωστόσο κατά καιρούς, έχει τεθεί υπό αμφισβήτηση η μικροβιολογική ασφάλεια των γευμάτων αυτών.

Η μικροβιοκτόνος δράση των μικροκυμάτων βασίζεται, σύμφωνα με κάποιους ερευνητές, στη θερμότητα που αναπτύσσεται στο τρόφιμο, ενώ σύμφωνα με άλλους, στην ύπαρξη μιας μη-θερμικής μικροβιοκτόνου ιδιότητας των μικροκυμάτων.

Οι λοιμώξεις από τον ορότυπο *E. coli* O157:H7 έχουν συσχετιστεί με την κατανάλωση ατελώς θερμασμένων γευμάτων ζωικής προελεύσεως. Από το 1982 έως σήμερα ο ορότυπος αυτός αποτέλεσε αιτία πολλών τροφιμογενών επιδημιών, αλλά και μεμονωμένων περιστατικών.

Σκοπός της πειραματικής αυτής εργασίας ήταν η μελέτη της δράσης των μικροκυμάτων στην επιβίωση της *E. coli* O157:H7. Συγκεκριμένα ελέγχθηκε η επίδραση των μικροκυμάτων σε καθαρό καλλιέργημα *E. coli* O157:H7, σε γάλα, σε μοσχαρίσιο κιμά, σε μερίδες κοτόπουλου και σε ολόκληρα κοτόπουλα, τα οποία μολύνθηκαν πειραματικά με στέλεχος *E. coli* O157:H7. Επιπλέον στο καθαρό καλλιέργημα και στο γάλα, συγκρίθηκε η επιβίωση του βακτηρίου μετά από έκθεση στα μικροκύματα και μετά από κλασικό βρασμό.



Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας πειραματικής μελέτης :

- 1) Τα μικροκύματα έχουν επαρκή μικροβιοκτόνο δράση επί της *E. coli* O157:H7, εφόσον χρησιμοποιούνται σε συνθήκες μέγιστης παρεχόμενης ισχύος και μέγιστου επιτρεπτού χρόνου.
- 2) Η μικροβιοκτόνος δράση των μικροκυμάτων φαίνεται να οφείλεται στη θερμότητα, που παράγεται κατά την εφαρμογή της. Το βακτήριο επέζησε σε θερμοκρασίες κάτω των 70°C (σε μικροβιακό εναιώρημα και στα τρόφιμα), ενώ καταστράφηκε πλήρως, όταν η θερμοκρασία ξεπέρασε τους 75°C. Στο πείραμα του καλλιεργήματος, η *E. coli* O157:H7 καταστράφηκε στην ίδια θερμοκρασία, τόσο στα μικροκύματα, όσο και στο βρασμό. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στο πείραμα με το γάλα.
- 3) Στο καθαρό εναιώρημα *E. coli* O157:H7, τα μικροκύματα αποδεικνύονται ταχύτερα από το βρασμό, για την πλήρη καταστροφή του βακτηρίου. Ωστόσο αυτή η διαφορά οφείλεται στη διαφορά της ισχύος των πηγών του βρασμού και των μικροκυμάτων. Το γάλα απαιτεί περισσότερο χρόνο έκθεσης στα μικροκύματα σε σχέση με το καλλιέργημα, για τη μείωση του μικροβιακού του φορτίου, εξαιτίας της ύπαρξης διαφόρων συστατικών του (λίπος, ιόντα). Οι μερίδες κοτόπουλου, καθώς και ο κιμάς από κρέας μόσχου, απαιτούν τελικές θερμοκρασίες στην επιφάνειά τους μεγαλύτερες των 75°C, για την καταστροφή της *E. coli* O157:H7. Στο πείραμα με τα ολόκληρα κοτόπουλα, παρατηρήθηκε μεγάλη ανομοιογένεια στην τελική θερμοκρασία, που επιτεύχθηκε στην επιφάνειά του, με αποτέλεσμα την επιβίωση του βακτηρίου.
- 4) Οι οδηγίες των οικιακών φούρνων μικροκυμάτων βασίζονται περισσότερο σε ένα αποδεκτό από τον καταναλωτή προϊόν (όψη ψημένου, καλή γεύση και οσμή) και όχι στη μικροβιολογική του ασφάλεια.



- 5) Συμπερασματικά, απαιτείται η θέρμανση με μικροκύματα όσο το δυνατόν μικρότερων μερίδων και μέχρι την έκλυση ατμών από το τρόφιμο, καθώς με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται η υψηλή τελική θερμοκρασία σε όλη τη μάζα του προϊόντος, απαραίτητη προϋπόθεση για την πλήρη καταστροφή της *E. coli* O157:H7.



EXPERIMENTAL STUDY
OF THE ELECTROMAGNETIC RADIATION EFFECT
ON THE INACTIVATION OF *ESCHERICHIA COLI* O157:H7
IN FOODS OF ANIMAL ORIGIN

Ph. D. THESIS

By

IOANNA A. APOSTOLOU

BSc in Veterinary Medicine

SUMMARY

Microwaves are electromagnetic radiation of certain frequencies between 300 MHz and 300 GHz. One of the most important applications of microwaves is the microwave oven, used by millions of households, restaurants, fast food chains and the food industry too. During the last two decades, the use of microwave ovens, for heating precooked-meals and for cooking raw foods, has become increasingly popular. However, the microbiological safety of microwaved meals is still questionable.

According to a number of scientists, the mechanism by which microwaves destroy the microorganisms is based on the heat which is generated in the food. Yet,



other researchers support the existence of nonthermal effects of microwaves in the inactivation of bacteria.

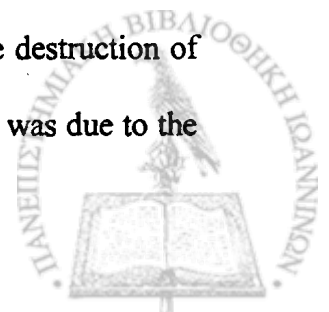
E. coli O157:H7 is associated with the consumption of incompletely heated meals of animal origin. Since 1982, *E. coli* O157:H7 has caused many outbreaks and sporadic cases worldwide.

The objective of the present study was to determine the effect of the electromagnetic radiation on the survival of *E. coli* O157:H7.

The effect of the microwaves on the survival of *E. coli* O157:H7, in pure liquid culture and in inoculated foods such as milk, beef minced meat, portions of chicken breast and whole chickens was studied. In the case of pure liquid culture and milk, the survival of *E. coli* O157:H7 during the exposure to microwaves was compared to the survival of this serotype during the exposure to conventional heating.

The analysis of the results indicates that:

- a) Microwaves have sufficient bactericidal effect on *E. coli* O157:H7 only when they are used at conditions of maximum available power and maximum permitted time.
- b) The bactericidal effect seemed to be based on the heat which is generated during microwaving. The bacterium survived when the temperature was below 70°C (in pure liquid culture and in raw foods), while it was inactivated completely, only when the temperature raised beyond 75°C. In pure liquid culture and in milk, *E. coli* O157:H7 was destroyed at the same temperatures either heated with microwaves or with conventional heating.
- c) In liquid pure culture, microwaves caused the complete destruction of the bacterium faster, than conventional heating, but this was due to the



greater power of the microwave source. The milk required more exposure time at the microwaves, in comparison with the pure liquid culture, because of the presence of ions and fat particles. The portions of chicken breasts and beef minced meat required final temperature beyond 75°C on their surface, for the complete destruction of *E. coli* O157:H7. At the experiment with the whole chickens, notable temperature discrepancies on the surface of the chickens were observed after microwaving, which permitted the survival of the tested microorganism.

- d) The manufacturers' instructions accompanying domestic microwave ovens are more or less based on an organoleptically acceptable end product (based on the smell, taste and appearance) and not on the microbiological safety of the cooked food.
- e) It is advisable heating foods in microwave ovens until steam comes out of the food, which secures high end temperature of the whole mass, thus guaranteeing microbiological safety.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abbas S, Franklin A, Kuhn I, Orskov F, Orskov I (1989). Cytotoxin activity on vero cells among *Escherichia coli* strains associated with diarrhea in cats. *Am J Vet Res* 50: 1294-2196.
2. Abdul-Rauf UM, Beuchat LR, Amman MS (1993). Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 in ground, roasted beef as affected by pH, acidulants and temperature. *Appl Environ Microbiol* 59: 2364-2368.
3. Acheson DW, Keusch ST, Lightowlers M, Donohue-Rolfe A (1990). Enzyme-linked immunosorbent assay for Shiga-like toxin II using P1 glycoprotein from hydatid cysts. *J Infect Dis* 161:134-137.
4. Ackman D, Marks S, Mack P, Caldwell M, Root T, Birkhead G (1997). Swimming-associated haemorrhagic due to *Escherichia coli* O157:H7 infection: evidence of prolonged contamination of a fresh water lake. *Epid Infect* 119:1-8.
5. Adams AM, Miller KS, Wekell MM, Dong FM (1999). Survival of *Anisakis simplex* in microwave-processed arrowtooth flounder (*Atheresthes stomias*). *J Food Prot* 62(4):403-409.
6. Ahmed R, Bopp C, Borczyk A, Kasatiya S (1987). Phage-typing scheme for *Escherichia coli* O157:H7. *J Infect Dis* 155:806-809.
7. Akashi S, Joh K, Tsuji A, Ito H, Hoshi H, Hayakawa T, Ihara J, Abe T, Hatori M, Mori T (1994). A severe outbreak of haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndrome associated with *Escherichia coli* O157:H7 in Japan. *Eur J Pediatr* 153:650-651.



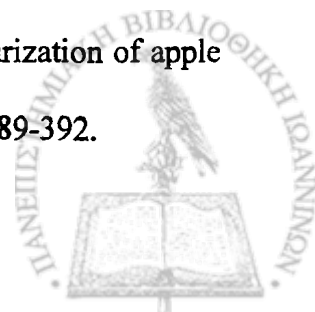
8. Albiñ A, Zimmerman U, Rehbinder V, Jansson C, Tyse'n E, Engavall A (1997). Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)-a nation-wide Swedish survey of bovine faeces. *Epidemiol Santé Anim* 31-32, 04.13.1-04.13.3.
9. Aleixo JAG, Swaminathan B, Jamesen KS, Pratt D (1985). Destruction of pathogenic bacteria in turkeys roasted in microwave ovens. *J. Food Sci* 50: 873-880.
10. Anderson ME, Marshall RT, Dickson JS (1992). Estimating depths of bacterial penetration into post-rigor carcass tissue during washing. *J Food Safety* 12:191-198.
11. Anonymous (1996). Sterilization surface by irradiation with microwaves. NASA Tech Briefs 140.
12. Arvanitidou M, Constadinidis TC, Katsouyannopoulos V (1996). Searching for *Escherichia coli* O157:H7 in drinking and recreational waters in northern Greece. *Wat Res* 30(2):493-494.
13. Ayoub JA, Berkowitz D, Kenyon EM, Wadsworth CK (1974). Continuous microwave sterilization of meat in flexible pouches. *J Food Sci* 39: 309-313.
14. Baker RC, Poon W, Vadehra DV (1983). Destruction of *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in poultry products cooked in a conventional and microwave oven. *Poult Sci* 62:805-810.
15. Baldwin TJ, Ward W, Aitken A, Knutton S, Williams PH (1991). Elevation of intracellular free calcium levels in HEp-2 cells infected with enteropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun* 59:1599-1604.
16. Bates CJ, Spencer RC (1995). Survival of *Salmonella* species in eggs poached in a microwave oven. *J Hosp Infect* 29:121-127.



17. Beckwith TD, Olsen AR (1931). Ultrasonic radiation and yeast cells. *Proc Exptil Biol Med* 29:362-364.
18. Bell BP, Goldoft M, Griffin PM, Davis M, Gordon D, Tarr P, Bartleson C, Lewis J, Barrett T, Wells J, Baron R, Kobayashi J (1994). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers: The Washington experience. *JAMA* 272:1349-1353.
19. Belongia EA, MacDonald KL, Parham GL, White KE, Korlath JA, Lobato MN, Strand SM, Casale KA, Osterholm MT (1991). An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 colitis associated with consumption of precooked meat patties. *J Infect Dis* 164:338-343.
20. Belongia EA, Osterholm MT, Soler JT, Ammend DA, Braun JE, McDonald KL (1993). Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 infection in Minnesota child day-care facilities. *JAMA* 269:883-888.
21. Benjamin MM, Datta AR (1995). Acid tolerance of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 61:1669-1672.
22. Berek HE, Wickershein KA (1988). Measuring temperatures in microwavable packages. *J Packaging Technol* 34:467-470.
23. Besser RE, Lett SM, Weber JT, Doyle M, Barrett T, Wells J, Griffin P (1993). An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. *JAMA* 269:2217-2220.
24. Beutin L, Montenegro MA, Orskov I, Orskov F, Prada J, Zimmermann S, Stephan R (1989). Close association of verotoxin (Shiga-like toxin) production with enterohemolysin production in strains of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol* 27:2559-2564.



25. Bielaszewska M, Janda J, Blahova K, Karch H, Karmali MA, Preston MA, Khakhria R, Nyc O (1997). Human *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with consumption of unpasteurized goat's milk. *Epid Infect* 119:299-305.
26. Blanco M, Blanco J, Blanco JE, Ramos J (1993). Enterotoxigenic, verotoxigenic and necrotoxigenic *Escherichia coli* from cattle in Spain. *Am J Vet Res* 54:1446-1451.
27. Bonardi S, Maggi E, Bottarelli A, Pacciarini ML, Ansiuni A, Vellini G, Morabito S, Caprioli A (1999). Isolation of Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from cattle at slaughter in Italy. *Veterin Microbiol* 67:203-211.
28. Borzyck AA, Karmali MA, Lior H, Duncan LMC (1987). Bovine reservoir for verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet* i:98.
29. Brinkmann E, Oei HB, Dehne L, Tiebach R, Baltes W (1993). Einfluss von erhizung auf den vitamin-A-gehalt und die vitamin-A-aktivität in leber und milch. In *vitamine und weitere zusatzstoffe bei mensch und tier*. Flachowsky G, Schubert R, eds, Friedrich-Schiller-Universität, Jena, p.44-48.
30. Burfoot D, Griffin WJ, James SJ (1988). Microwave pasteurization of prepared meals. *J Food Engin* 8:145-156.
31. Calderwood SB, Acheson DWK, Keusch GT, Barrett TJ, Griffin PM, Strockbine NA, Swaminathan B, Kaper JB, Levine MM, Kaplan BS, Karch H, O' Brien AD, Obrig TG, Takeda Y, Tarr PI, Wachsmuth IK (1996). Proposed new nomenclature for STL (VT) family. *ASM News* 52:118-119.
32. Cañumir JA, Celis JE, De Bruijin J, Vidal LV (2002). Pasteurization of apple juice by using microwaves. *Lebensm. -Wiss. U- Technol* 35:389-392.



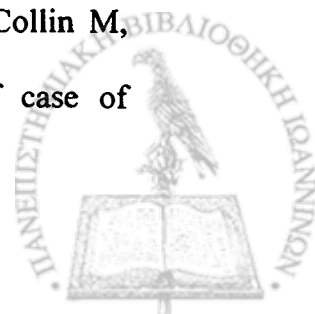
33. Casasnovas J, Anantheswaran RC, Shenk J, Puri VM (1994). Thermal processing of food packaging waste using microwave heating. *J Micr Pow Electrom En* 29:171.
34. CDR Weekly (1997). Two outbreaks of Vero cytotoxin producing *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with farms. 7(30):263.
35. CDR Weekly (1999 α). VTEC O157 outbreak associated with a farm visitor center in North Wales. 9(26):230.
36. CDR Weekly (1999 β). Verocytotoxin producing *Escherichia coli* O157:H7: phage types reported in 1998. 9(33):291.
37. Centers for Disease Control and Prevention (1995). *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to commercially distributed dry-cured salami- Washington and California, 1994. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 44:157-160.
38. Centers for Disease Control and Prevention (1996). Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with drinking unpasteurized commercial apple juice-British Columbia, California, Colorado and Washington, October 1996. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 45:975.
39. Chalmers RM, Salmon RL, Willshaw GA, Cheasty T, Looker N, Davies I, Wray C (1997). Vero-cytotoxin-producing *E. coli* O157 in a farmer handling horses. *The Lancet* 349:1816.
40. Chapman PA, Cerdan Malo AT, Ellin M, Ashton R, Harkin MA (2001). *Escherichia coli* O157:H7 in cattle and sheep at slaughter, on beef and lamb carcasses and in raw beef and lamb products in South Yorkshire UK. *International Journal of Food Microbiology* 64(1-2):139-150.



41. Chapman PA, Siddons CA, Cerdan Malo AT, Harkin MA (1997). A 1-year study of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epid Infect* 119:245-250.
42. Chapman PA, Wright DJ, Siddons CA (1994). A comparison of immunomagnetic separation and direct culture for isolation of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 from bovine faeces. *J Med Microbiol* 40:424-427.
43. Choi HK, Marth EH, Vasavada PC (1993 α). Use of microwave energy to inactivate *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter jejuni* in milk. *Milchwissenschaft* 48:134-136.
44. Choi HK, Marth EH, Vasavada PC (1993 β). Use of microwave energy to inactivate *Listeria monocytogenes* in milk. *Milchwissenschaft* 48:200-203.
45. Coote PJ, Holyoak CD, Cole MB (1991). Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* during a process simulating temperatures achieved during microwave heating. *J Appl Bacteriol* 70: 489-494.
46. Copson D (1962). *Microwave heating*. AVI Publishing Co., Westport, CT.
47. Cray WC, Moon HW (1995). Experimental infection of calves and adult cattle with *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol* 61: 1586-1590.
48. Crespo ML and Ockerman HW (1977). Thermal destruction of microorganisms in meat by microwave and conventional cooking. *J Food Prot* 40:442-444.
49. Culkin KA, Fung DYC (1975). Destruction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* in microwave-cooked soups. *J Milk Food Technol* 38:8-15.



50. Daglioglu O, Arici M, Konyali M, Gumus T (2002). Effects of tarhana fermentation and drying methods on the fate of *Escherichia coli* O157:H7 and *Staphylococcus aureus*. Eur Food Res Technol 215, 515-519.
51. Datta AK, Davidson P.M (2001). Microwave and Radio frequency processing. In: J Food Sci supplement. Kinetics of microbial inactivation for alternative processing technologies, pp 32-41.
52. Dealler SF, Lacey RW (1990). Superficial microwave heating. Nature 344:496.
53. Dean-Nystrom EA, Bosworth BT, Cray WC, Moon HW (1997). Pathogenicity of *Escherichia coli* O157:H7 in the intestines of neonatal calves. Infect Immun 65:1842-1848.
54. Decareau RV (1985). Pasteurization and sterilization. Microwave in the food processing industry. Academic Press.
55. Decareau RV (1986). Microwave food processing throughout the world. Food Technol 40(6):99-105.
56. Decareau RV (1992). Microwave foods: New product development. Food and Nutrition Press, Trumbull. Conn.
57. Dehne LI, Jurk S, Zagon, Jutta, Bögl KW (1991). Die rolle des kochsalzgehaltes bei der mikrowellenerwärmung- ein spezielles hygienisches risiko Bundesgesundheitsbl. 34:361-363.
58. Demel S, Steiner I, Washüttl J, Kroyer G (1990). Chemische und mikrobiologische untersuchungen an mikrowellenbehandelter. Milch Z Ernährungswiss 29:299-303.
59. Deschenes G, Casenave C, Grimont F, Desenclos JC, Benoit S, Collin M, Baron S, Mariani P, Grimont PA, Nivet H (1996). Cluster of case of



- haemolytic uremic syndrome due to unpasteurized cheese. *Pediatr Nephrol* 10:203-205.
60. Dontorou A, Papadopoulou C, Filioussis G, Economou E, Apostolou I, Zakkas G, Salamoura A, Kansouzidou A, Levidiotou S (2003). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods in Greece. *Int J Food Microbiol* 82:273-279.
61. Dontorou A, Papadopoulou C, Filioussis G, Apostolou I, Economou E, Kansouzidou A, Levidiotou S (2004). Isolation of a rare *Escherichia coli* O157:H7 strain from farm animals in Greece. *CIMID* 27:201-207.
62. Doyle MP, Schoeni JL (1984). Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with haemorrhagic colitis. *Appl Environ Microbiol* 48:855-856.
63. Doyle MP, Schoeni JL (1987). Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meats and poultry. *Appl Environ Microbiol* 53:2394-2396.
64. Dreyfuss MS, Chipley JR (1980). Comparison of effects of sublethal microwave irradiation and conventional heating on the metabolic activity of *Staphylococcus aureus*. *Appl Environ Microbiol* 39:13-16.
65. Duncan L, Mai V, Carter A, Carlson JAK, Borczyk A, Karmali MA (1986). Outbreak of gastrointestinal disease in Sarnia, Ontario. *Ontario Disease Surveillance Report* 7:604-611.
66. Eberhard P, Strahm W, Sieber R (1990). Pasteurisation von milch und rahm in mikrowellen-haushaltsgeräten. *Milchwissenschaft* 45:768-771.
67. Eberhard P, Strahm W, Sieber R (1991). Kann milch im mikrowellengerät pasteurisiert werden? *Schweiz Milchztg* 117(1):5.



68. El-Shibiny S, Sabour MM, Al-Alamy HA, Alam S (1982). Effect of microwaves on buffalo milk. *Egypt J Dairy Sci* 10:29-34.
69. Evans MR, Parry SM, Ribeiro CD (1995). *Salmonella* outbreak from microwave cooked food. *Epidem Infect* 115:27-230.
70. Farber JM, D' Aoust JY, Diotte M, Sewell A, Daley E (1998). Survival of *Listeria* spp. on raw chickens cooked in microwave ovens. *J Food Prot* 61(11):1465-1469.
71. Farmer JJIII, Davis BR (1985). H7 antiserum-sorbitol fermentation medium: a single tubescreening medium for detecting *Escherichia coli* O157:H7 associated with haemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 22:620-625.
72. Feng P, Hartman PA (1982). Fluorogenic assays for immediate confirmation of *Escherichia coli*. *Appl. Environ Microbiol* 41:1320-1329.
73. Field M, Rao MC, Chang EB (1989). Intestinal electrolyte transport and diarrheal disease. Part 1. *N Engl J Med* 321:800-806.
74. Fleming H (1944). Effect of high-frequency fields on microorganisms. *Elec Eng* 63:18-21.
75. Food and Drug Administration (1997). Food Code: U.S. Department of Health and Human Services, Washington, D.C.
76. Fratamico PN, Sackitery SK, Wiedmann M, Deng MY (1995). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 by multiplex PCR. *J Clin Microbiol* 33:2188-2191.
77. Fujii J, Kita T, Yoshida SI, Takeda T, Kobayashi H, Tanaka N, Ohsato K, Mizuguchi Y (1994). Direct evidence of neuron impairment by oral infection with verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H- in mitomycin- treated mice. *Infect Immun* 62:3447-3453.



78. Fujikawa H, Ushioda H, Kudo Y (1992). Kinetics of *Escherichia coli* destruction by microwave irradiation. *Appl Environ Microbiol* 58(3):920-924.
79. Gasser C, Gautier E, Steck A, Siebenmann RE, Oechslin R (1955). Hamolytischuramische Syndrome: Bilaterale Nierentrindennekrosen bei akuten erworbenen hamolytischen Anamien. *Schweiz Med Wochenschr* 85:905-909.
80. Gessner BD, Beller M (1994). Protective effect of conventional cooking versus use of microwave ovens in an outbreak of salmonellosis. *Am. J. Epidemiol.* 139:903-909.
81. Giese J (1992). Advances in microwave food processing *Food Technology*: 118-123.
82. Glass KA, Loeffelholz JM, Ford JP, Doyle MP (1992). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented dry sausage. *Appl Environ Microbiol* 58:2513-2416.
83. Goksoy EO, James C, James SJ (1999). Non-uniformity of surface temperatures after microwave heating of poultry meat. *J Micr Pow Electrom En* 34(3):149-159.
84. Goldblith SA and Wang DIC (1967). Effect of microwaves on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Appl Microbiol* 15(6):1371-1375.
85. Griffin PM (1995). *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. In Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RI, eds. *Infections of the Gastrointestinal Tract*. New York: Raven Press, Ltd, p.739-761.



86. Griffin PM (1998). Epidemiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in humans in the United States in *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* infections, p.15-22.
87. Griffin PM, Bell BP, Cieslak PR, Tuttle J, Barrett TJ, Doyle MP, McNamara AM, Shefer AM, Wells JG (1994). Large outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections in the western United States: the big picture. In Karmali MA and Goglio AG (ed), Recent Advances in Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* Infections. Elsevier, New York, p.7-12.
88. Griffin PM, Ostroff SM, Tauxe RV, Greene KD, Wells JG, Lewis JH, Blake PA (1988). Illnesses associated with *Escherichia coli* O157:H7 infections. A broad clinical spectrum. *Ann Intern Med* 109:705-712.
89. Hammermueller J, Kruth S, Prescott J, Gyles C (1995). Detection of toxin genes in *Escherichia coli* isolated from normal dogs and dogs with diarrhea. *Can J Vet Res* 59:265-270.
90. Hao YY, Brackett RE (1993). Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in modified atmosphere. *J Food Prot* 56:330-332.
91. Harlfinger L (1992). Microwave sterilization. *Food Technol* 46(12):57-61
92. Harrison MA, Carpenter SL (1989). Survival of *Listeria monocytogenes* on microwave cooked poultry. *Food Microbiol* 6:153-157.
93. Harsono KD, Kaspar CW, Luchansky JB (1993). Comparison and genomic sizing of *Escherichia coli* O157:H7 in the United States. *J Clin Microbiol* 33:3347-3348.
94. Heddleson RA, Doores S (1994). Factors affecting heating of foods and microwave induced destruction of foodborne pathogens- A review. *J Food Prot* 57(11):1025-1037.



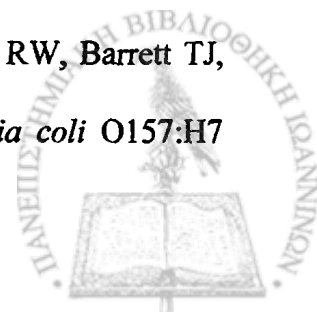
95. Heddleson RA, Doores S, Anantheswaran RC (1994). Parameters affecting destruction of *Salmonella spp* by microwave heating. *J Food Sci* 59(2):447-451.
96. Heddleson RA, Doores S, Anantheswaran RC, Kuhn GD (1996). Viability of *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot* 58, 813-818.
97. Heddleson RA, Doores S, Anantheswaran RC, Kuhn GD, Mast MG (1991). Survival of *Salmonella* species heated by microwave energy in a liquid menstruum containing food components. *J Food Prot* 54:637-642.
98. Heuvelink AE, van den Biggelaar FL, de Boer E, Herbes RG, Melchers WJG, Huis IN T Veld JHJ, Monnens LAH (1998 α). Isolation and characterization of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157 stains from the Dutch cattle and sheep. *J Clin Microbiol* 36:878-882.
99. Heuvelink AE, Bleumink B, van den Biggelaar FL, Te Giffel MC, Beumer RR, de Boer E (1998 β). Occurrence and survival of verotoxin producing *Escherichia coli* O157:H7 in raw cow's milk in Netherlands. *J Food Prot* 61(12):1597-1601.
100. Heuvelink AE, Zwartkruos-Nahuis JT, van den Biggelaar FL, van Leeuwen WJ, de Boer E (1999). Isolation and characterization of verotoxin producing *Escherichia coli* O157:H7 from slaughter pigs and poultry. *Int J Food Microbiol* 52 (1-2):67-75.
101. Hilborn ED, Mshar PA, Fiorentino TR, Dembek ZF, Barrett TJ, Howard RT, Cartter MC (2000). An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections and haemolytic uremic syndrome associated with consumption of unpasteurized apple cider. *Epidem Infect* 124:31-36.



102. Hollywood NW, Varabioff Y, Mitchell GE (1991). The effect of microwave and conventional cooking on the temperature profiles and microbial flora of minced beef. *Int. J Food Microbiol* 14:67-76.
103. Honish A (1986). Summary of *Escherichia coli* O157:H7 at an Edmonton extended care facility. *Alberta Soc Services Commun Health* 10:363-368.
104. IFT (1989). Microwave food processing. A scientific status summary by the IFT expert panel on food safety and nutrition. *Food Technol* 43(1):117-126.
105. Issacson M, Canter PH, Effler P, Arntzen L, Bomans P, Heenan R (1993). Haemorrhagic colitis epidemic in Africa. *Lancet* 341:961.
106. Jahngen EGE, Lentz RR, Pesheck PS, Sackett P (1990). Hydrolysis of adenosine triphosphate by conventional or microwave heating. *J Org Chem* 55:3406-3409.
107. Jaynes HO (1975). Microwave pasteurization of milk. *J Milk Food Technol* 38:386-387.
108. Jeng DKH, Balasky G, Kaczmarek KA, Woodworth AG (1987). Mechanism of microwave sterilization in the dry state. *Appl Environ Microbiol* 53(9):2133-2137.
109. Jeppson MR, Harper JC (1967). Microwave heating substances under hydrostatic pressure. Cryodry Corporation. US Patent 3,335,253.
110. Jerse AE, Yu J, Tall BD, Kaper JB (1990). A genetic locus of enteropathogenic *Escherichia coli* necessary for the production of attaching and effacing lesions in tissue culture cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:7839-7843.



111. Juneja VK, Snyder OPJr, Marmer BS (1997). Thermal destruction of *Escherichia coli* O157:H7 in beef and chicken: determination of D- and z-values. Intern J Food Microbiol 35:231-237.
112. Juneja VK, Marmer BS (1999). Lethality of heat to *Escherichia coli* O157:H7: D- and z-value determinations in turkey, lamb and pork. Food Res Intern 32:23-28.
113. Kadu-Mulindw DH, Aisu T, Gleier K, Zimmermann S, Beutin L (2001). Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in fecal samples from children with diarrhea and from healthy zebu cattle in Uganda. Int J Food Microbiol 66(1-2):95-101.
114. Kansouzidou A, Charitidou C, Pombrou E, Mitka S, Daniilidis VD (1998). Incidence of *Escherichia coli* O157:H7 in humans in northern Greece. FEMS '98 Supported Meeting, Athens, Greece.
115. Karmali MA (1989). Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Clin Microbiol Rev 2:15-38.
116. Karmali MA, Arbus GS, Petric M, Patrick ML, Roscoe M, Shaw J, Lior H (1988). Hospital-acquired *Escherichia coli* O157:H7 associated hemolytic uraemic syndrome in a nurse. The Lancet i:526.
117. Karmali MA, Steele BT, Petric M, Lim C (1983). Sporadic cases of haemolytic ureamic syndrome associated with faecal cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. Lancet i:619-620.
118. Kazbekov EN, Vyacheslavov LG (1987). Effects of microwave irradiation on some membrane-related processes in bacteria. Gen. Physiol. Biophys 6:57-64.
119. Keene WE, Hedberg K, Herriott DE, Hancock DD, McKay RW, Barrett TJ, Fleming DW (1997a). A prolonged outbreak of *Escherichia coli* O157:H7



- infections caused by commercially distributed raw milk. *J Infect Dis* 176:815-818.
120. Keene WE, McAnulty J, Hoesly F, Williams LJ, Hedberg K, Oxman G, Barrett T, Pfaller M, Fleming D (1994). A swimming-associated outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7 and *Shigella sonnei*. *N Engl J Med* 331:579-584.
121. Keene WE, Sazie E, Kok J, Rice DH, Hancock DD, Balan VK, Zhao T, Doyle MP (1997β). An outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections traced to jerky made from deer meat. *JAMA* 227:1229-1231.
122. Khalil H, Villota R (1986). A comparative study on the thermal inactivation of *B.stearothermophilus* spores in microwave and conventional heating. In M. LeMaguer and P. Jelen (eds). *Food Engineering and Process Applications*. Vol 1. Transport Phenomena, Elsevier Applied Science Publishers, New York, NY.
123. Khalil H, Villota R (1988). Comparative study on injury and recovery of *Staphylococcus aureus* using microwave and conventional heating. *J Food Prot* 51:181-186.
124. Khalil H, Villota R (1989). The effect of microwave sublethal heating on the ribonucleic acids of *Staphylococcus aureus*. *J Food Prot* 52:544-548.
125. Kinoshita KJr, Tsong TY (1977). Formation and resealing of pores of controlled sizes in human erythrocyte membrane. *Nature* 268(5619):438-441.
126. Knutson KM, Marth EH, Wagner MK (1987). Microwave heating of food. *Lebensm Wiss Technol* 20:101-110.
127. Knutson KM, Marth EH, Wagner MK (1988). Use of microwave ovens to pasteurize milk. *J Food Prot* 51:715-719.



128. Kobayashi M, Sasaki T, Saito N, Tamura K, Suzuki K, Watanabe H, Agui N (1999). Houseflies: not simple mechanical vectors of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Am J Trop Med Hyg* 61(4):625-629.
129. Konowalchuk J, Speir JJ, Stavric S (1977). Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. *Infect Immun* 18:775-779.
130. Kozempel MF, Annous BA, Cook RD, Scullen OJ, Whiting RC (1998). Inactivation of microorganisms with microwaves at reduced temperatures. *J Food Prot* 61(5):582-585.
131. Kozempel MF, Annous BA, Cook RD, Scullen OJ, Whiting RC (2000). Development of a process for detecting non-thermal effects of a microwave energy on microorganisms at low temperature. *J Food Processing*. In print.
132. Kudra T, van de Voort FR, Raghavan GSV, Ramaswamy HS (1991). Heating characteristics of milk constituents in a microwave pasteurization system. *J Food Sci* 56(4):931-934.
133. Kudva I, Hatfield PG, Hovde CJ (1996). *Escherichia coli* O157:H7 in microbial flora of sheep. *J Clin Microbiol* 34:431-433.
134. Lahtie E, Keskimaki M, Rantala L, Hyvonen P, Siitonen A, Honkanen-Buzalski T (2001). Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7 in Finnish cattle. *Vet Microbiol* 79(3):239-251.
135. Lau MH, Tang J (2002). Pasteurization of pickled asparagus using 915MHz microwaves. *J Food Engineer* 51:283-290.
136. Lechowich RV, Beuchat LR, Fox KI, Webster FH (1969). Procedure for evaluating the effects of 2450 MHz microwaves upon *Streptococcus faecalis* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl Microbiol* 17:106-110.



137. Leung PH, Yam WC, Hg WW, Peiris JS (2001). The prevalence and characterization of verotoxin-producing *Escherichia coli* isolated from cattle and pigs in an abbatoir in Hong Kong. *Epidem Infect* 126(2):173-179.
138. Levine MM, Xu J, Kaper JB, Lior H, Prado V, Tall B, Nataro J, Karch H, Wachsmuth K (1987). A DNA probe to identify enterohemorrhagic *Escherichia coli* of O157:H7 and other serotypes that cause hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. *J Infect Dis* 156:175-182.
139. Lin YL, Chou CC, Pan TM (2001). Screening procedure from cattle feces and the prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in Tawian dairy cattle. *J Microbiol Immunol* 34(1):17-24.
140. Lindsay RE, Krissinger WA, Fields BF (1986). Microwave vs conventional cooking of chicken: Relationship of internal temperature to surface contamination by *Salmonella typhimurium*. *J Am Dietet. Assoc.* 86:373-374.
141. Louise CB, Orbig TG (1995). Specific interactions of *Escherichia coli* O157:H7- derived shiga-like toxin II with human renal endothelial cells. *J Infect Dis.* 172:1397-1401.
142. Lund BM, Knox MR, Cole MB (1989). Destruction of *Listeria monocytogenes* during microwave cooking. *Lancet* 1:218.
143. Lunden A, UgglA A (1992). Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. *Internat J Food Microb* 15(3-4):357-363.
144. March SB, Ratman S (1986). Sorbitol-MacConkey Medium for detection of *Escherichia coli* O157:H7 associated with hemorrhagic colitis. *J Clin Microbiol* 23(5): 869-872.



145. March SB, Ratman S (1989). Latex agglutination test for detection of *Escherichia coli* serotype O157. *J Clin Microbiol* 27:1675-1677.
146. Mass S, Altieri C, Quarantana V, De Pace R (1997). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in yoghurt during preparation and storage at 4 degrees. *C Lett. Appl Microbiol* 24: 347-350.
147. Mattar S, Vàsquez E (1998). *Escherichia coli* O157:H7 infection in Colombia. *Emerg Infect Dis* 4:126-127.
148. Maule A (2000). Survival of verotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 in soil, water and on surfaces. *Symp Ser Soc Appl Microbiol* 29:71S-78S.
149. McDonnell RJ, Rampling A, Crook S, Cockcroft PM, Wilshaw GA, Cheasty T, Stuart J (1997). An outbreak of Vero cytotoxin *Escherichia coli* O157 infection associated with takeaway sandwiches. *CDR Vol 7 Rev No 13*.
150. McIntyre L, Fung J, Paccagnella A, Issac-Renton J, Rockwell F, Emerson B, Preston T (2002). *Escherichia coli* O157 outbreak associated with the ingestion of unpasteurized goat's milk in British Columbia, 2001. *Can Comm Dis Rep* 28(1):6-8.
151. Mechie SC, Chapman PA, Siddons CA (1997). A fifteen month study of *Escherichia coli* O157:H7 in a dairy herd. *Epidem Infect* 118:17-25.
152. Medrano A, Hernandez A, Prodanov M, Vidal-Valverde C (1994). Riboflavin, tocopherol and retinol retention in milk after microwave heating. *Lait* 74:153-159.
153. Meltz ML, Eagan P, Erwin DN (1989). Absence of mutagenic interaction between microwaves and mitomycin C in mammalian cells. *Environ Molec Mutagen* 13:294-303.



154. Meng J, Doyle MP (1998). Microbiology of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in foods, p. 92-108 in Kaper JB and O'Brein AD eds, *Escherichia coli* O157:H7 and other Shiga toxin-producing *E. coli* strains, ASM Press, Washington D.C.
155. Merin U, Rosenthal I (1984). Pasteurization of milk by microwave irradiation. *Milchwissenschaft* 39:643-644.
156. Mermin JH, Hilborn ED, Voetsch A, Swarz M, Lambert-Fair MA, Farrar J, Vugia D, Hadler J, Slutsker L (1997). A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with eating mesclun mix lettuce, abstr V74/I, p.9 in VTEC '97 3rd International Symposium and Workshop on Shiga Toxin (Verocytotoxin)-Producing *Escherichia coli* Infections.
157. Mertens B, Knorr D (1992). Developments of nonthermal processes for food preservation. *Food Technol* 46(5):124-133.
158. Metaxas R, Meredith RJ (1988). *Industrial Microwave Heating*. Peter Peregrinus. London. UK.
159. Metaxas R (1996). *Foundations of Electroheat: A Unified Approach*. John Wiley and Sons. Chichester. UK.
160. Miyao Y, Kataoka T, Nomoto T, Kai A, Itoh T, Itoh K (1997). Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* harbored in the intestine of cattle in Japan. *Veterin Microbiol* 61:137-143.
161. Montenegro MA, Bulte M, Trumpf T, Alecsic S, Reuter G, Bulling E, Helmuth R (1990). Detection and characterization of fecal verotoxin-producing *Escherichia coli* from healthy cattle. *J Clin Microbiol* 28:1417-1421.



162. Morgan D, Newman CP, Hutchinson DN, Walker AM, Rowe B, Majid F (1993). Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 infections associated with the consumption of yoghurt. *Epidem Infect* 111:181-187.
163. Morgan GM, Newman CP, Palmer SR, Allen JB, Shepherd W, Rampling AM, Warren RE, Gross RJ, Scotland SM, Smith HR (1988). First recognized community outbreak of haemorrhagic colitis due to Verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in the UK. *Epidem Infect* 101:83-91.
164. Morris CF, Robertson JL, Mann PC, Clark S, Divers TJ (1987). Hemolytic uremic-like syndrome in two horses. *J Am Vet Med Assoc* 191:1453-1454.
165. Mudgett RE (1982). Electrical properties of foods in microwave processing. *Food Technol* 36:109-115.
166. Mudgett RE.(1989). Microwave food processing. *Food Technol* 43:117-126.
167. Mudgett RE, Schwartzberg HG (1982). Microwave food processing: Pasteurization and sterilization: A review. *AIChE Symposium Series*. 78(218):1-11.
168. Nakazawa M, Akiba M, Sameshima T (1999). Swine as a potential reservoir of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in Japan. *Emerg Infect Dis* 5:833.
169. O'Brein AD, Tesh VL, Donohue-Rolfe A, Jackson MP, Olsnes S, Sandvig K, Lindberg AA, Keusch GT (1992). Shiga toxin: biochemistry, genetics, mode of action and role in pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 180:65-94.
170. Ohlsson T (1983). Fundamentals of microwave cooking. *Microwave World* 4:4-9.
171. Olsen SJ, Miller G, Breuer T, Kennedy M, Higgins C, Walford J, McKee G, Fox K, Bibb W, Mead P (2002). A waterborne outbreak of *Escherichia coli*



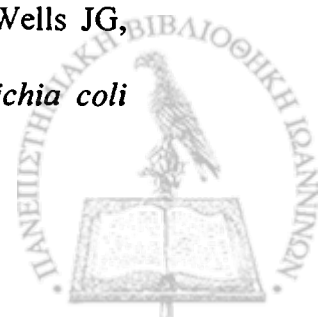
- O157:H7 infections and hemolytic uremic syndrome: implications for rural water systems. *Emerg Infect Dis* 8(4):370-375.
172. Orskov F, Orskov I, Villar JA (1987). Cattle as a reservoir of verotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet* ii :276.
173. Osek J, Winiarczyk S (2001). Prevalence of eae and shiga toxin genes among *Escherichia coli* strains isolated from healthy calves. *J Vet Microbiol B Infect Dis Vet Public Health* 48(1):67-72.
174. Ostroff SM, Kobayashi JM, Lewis LH (1989). Infections with *Escherichia coli* O157:H7 in Washington State. The first year of statewide disease surveillance. *JAMA* 262:355-359.
175. Padhye NV, Doyle MP (1991 α). Rapid procedure for detecting Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in food. *Appl Environ Microbiol* 57:2693-2698.
176. Padhye NV, Doyle MP (1991 β). Production and characterization of a monoclonal antibody specific for enterhemorrhagic *Escherichia coli* of serotypes O157:H7 and O26:H11. *J Clin Microbiol* 29:99-103.
177. Palumbo S, Call J, Schultz F, Williams A (1995). Minimum and maximum temperatures for growth and verotoxin production by hemorrhagic strains of *Escherichia coli*. *J Food Prot* 58:352-356.
178. Papadopoulou C, Demetriou D, Panagiou A, Levidiotou S, Gessouli H, Ioannides K, Antoniadis G (1995). Survival of Enterobacteria in liquid cultures during microwave radiation and conventional heating. *Microbiol Res* 150:305-309.
179. Papadopoulou C, Demetriou D, Panagiou A, Levidiotou S, Gessouli H, Ioannides K, Antoniadis G (1996). An experimental study of the microwave



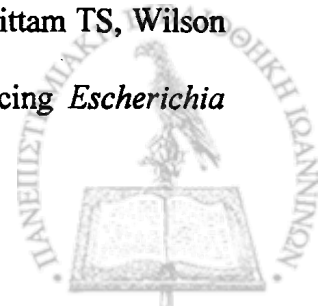
- radiation lethal effect on Gram-positive pathogenic bacteria. *Microec Therap* 22:54-61.
180. Paunio M, Pebody R, Keshimäki M, Kokki M, Ruutu P, Oinonen S, Vuotari V, Siitonen A, Lahti E, Leinikki P (1999). Swimming-associated outbreak of *Escherichia coli* O157:H7. *Epidem Infect* 122:1-5.
181. Pavia AT, Nichols CR, Green DP, Tauxe RV, Mottice S, Greene KD, Wells JG, Siegler RI, Brewer ED, Hannon D, Blake PA (1990). Hemolytic-uremic syndrome during an outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections in institutions for mentally retarded persons: clinical and epidemiologic observations. *J Pediatric* 116:544-551.
182. Pilipcinec E, Tkacikova L, Naas HT, Cabadaj R, Mikula I (1999). Isolation of verotoxigenic *Escherichia coli* O157 from poultry. *Folia Microbiol* 44(4):455-456.
183. Plessi M, Bertelli D, Miglietta F (2002). Effect of microwaves on volatile compounds in white and black pepper. *Lebensm. -Wiss.u.- Technol* 35:260-264.
184. Pothakamury UR, Barbosa-Canovas GV, Swanson BG (1993). Magnetic-field inactivation of microorganisms and generation of biological changes. *Food Technol* 47(12):85-93.
185. Raghubeer EV, Matches JR (1990). Temperature range for growth of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and selected coliforms in *E. coli* medium. *J Clin Microbiol* 28:803-805.
186. Ramaswamy H, Koutchma T, Tajchakavit S (2000). Enhanced thermal effects under microwave conditions. International Conference of Engineering and Food (ICEF-8). Puebla, MX.



187. Ramesh MN, Wolf W, Tevini D, Bognar A (2002). Microwave blanching of vegetables. *J Food Sci* 67(1): 390-398.
188. Ratnam S, March SB, Ahmed R, Bezanson GS, Kasatiya S (1988). Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *J Clin Microbiol* 26(10):2006-2012.
189. Read SC, Clarke RC, Martin A, De Grandis SA, Hill J, McEwen S, Gyles CL (1992). Polymerase chain reaction for detection of verocytotoxin *Escherichia coli* isolated from animal and food sources. *Molec Cellul Probes* 6:153-161.
190. Renwick SA, Wilson JB, Clarke RC, Lior H, Borczyk A, Spika JS, Rahn K, McFadden K, Brouwer A, Copps A (1994). Evidence of direct transmission of *Escherichia coli* O157:H7 infection between calves and a human-Ontario. *Canada Commun Dis Rep* 20(9):73-75.
191. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Plcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML (1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med* 308:681-685.
192. Riordan DCR, Duffy G, Sheridan JJ, Whiting RC, Blair IS, McDowel DA (2000). Effects of acid adaptation, product pH and heating on survival of *Escherichia coli* O157:H7 in pepperoni. *Appl Environ Microbiol* 66:1726-1729.
193. Roberts CL, Mshar PA, Carter ML, Hadler JL, Sosin DM, Hayes PS, Barrett TJ (1995). The role of heightened surveillance in an outbreak of *Escherichia coli* O157:H7. *Epidem Infect* 115:447-454.
194. Rodrigue DC, Mast EE, Greene KD, Davis JP, Hutchinson MA, Wells JG, Barreyy TJ, Griffin PM (1995). A university outbreak of *Escherichia coli*



- O157:H7 infections associated with roast beef and an unusually benign clinical course. *J Infect Dis* 172:1122-1125.
195. Rosen C-G (1972). Effects of microwaves on food and related materials. *Food Technol* 26:36-40, 55.
 196. Rosenberg U, Bögl W (1987). Microwave pasteurization, sterilization, blanching, and pest control in the food industry. *Food Technol* 41(6):92-99.
 197. Rosenberg U, Bögl W (1987a). Microwave thawing, drying and baking in the food industry. *Food Technol* 41(6):85-91.
 198. Roussy G, Pearce J (1995). *Foundations and Industrial Applications of Microwave and Radio Frequency fields*. New York. Wiley.
 199. Rowe PC, Walop W, Lior H, McKenzie AM (1991). Haemolytic anemia after childhood *Escherichia coli* O157:H7 infection: are females at increased risk? *Epidem Infect* 106:523-530.
 200. Ryan CA, Tauxe RV, Hosesek GW, Wells JG, Stoesz PA, McFadden HW, Smith PW, Wright GF, Blake PA (1986). *Escherichia coli* O157:H7 diarrhea in a nursing home: clinical, epidemiological and pathological findings. *J Infect Dis* 154:631-638.
 201. Sagripanti JL, Swicord ML, Davis CC (1987). Microwave effects on plasmid DNA. *Radiat Res* 110:219-231.
 202. Salmon RL, Farrell ID, Hutchinson JG, Coleman DT, Gross R, Fry N (1989). A christening party outbreak of hemorrhagic colitis and haemolytic ureamic syndrome associated with *Escherichia coli* O157:H7. *Epidem Infect* 103:249-254.
 203. Samadpour M, Ongerth JE, Liston J, Tran N, Nguyen D, Whittam TS, Wilson RA, Tarr PI (1994). Occurrence of Shiga-like toxin-producing *Escherichia*



- coli* in retail fresh seafood, beef, lamb, pork, and poultry from grocery stores in Seattle, Washington. *Appl Environ Microbiol* 60:1938-1040.
204. Schiffmann FR (1992). Microwave processing in the US Food Industry. *Food Technol* 46:50-52.
 205. Schiffmann RF (1986). Food product development for microwave processing. *Food Technol* 40:94-98.
 206. Schiffmann RF (1990). Microwave foods: Basic design considerations. *Tappi J* 73:209-212.
 207. Schlegel W (1992). Commercial pasteurization and sterilization of food products using microwave technology. *Food Technol* 46(12):62-63.
 208. Schnepf M, Barbeau WE (1989). Survival of *Salmonella typhimurium* in roasting chickens cooked in a microwave, convection microwave and conventional electric oven. *J Food Safety* 9:245-252.
 209. Schoeni JL, Doyle MP (1994). Variable colonization of childrens personally inoculated with *Escherichia coli* O157:H7 and subsequent contamination of eggs. *Appl Environ Microbiol* 60:2958-2962.
 210. Scotland SM, Rowe B, Smith HR, Willshaw GA, Gross RJ (1988). Verocytotoxin-producing strains of *Escherichia coli* from children with haemolytic uremic syndrome and their detection by specific DNA probes. *J Med Microbiol* 25:237-243.
 211. Scotland SM, Willshaw GA, Smith HR, Rowe B (1987). Properties of strains of *Escherichia coli* belonging to serogroup O157 with special reference to production of verocytotoxins VT1 and VT2. *Epidem Infect* 99:613-624.
 212. Sharma GP, Prasad S (2001). Drying of garlic (*Allium sativum*) cloves by microwave – hot air combination. *J Food Engineer* 50: 99-105.



213. Sigman M, Burke KI, Swarner OW, Shavlik GW (1989). Effects of microwaving human milk: changes in IgA content and bacterial count. *J Am Diet Ass* 89:690-692.
214. Smith HR, Scotland SM (1993). Isolation and identification methods for *Escherichia coli* O157 and other Verocytotoxin-producing strains. *J Clin Pathol* 46:10-17.
215. Spika JS, Parsons JE, Nordenberg D, Wells JG, Gunn RA, Blake PA (1986). Hemolytic uremic syndrome and diarrhea associated with *Escherichia coli* O157:H7 in a day care center. *J Pediatr* 109:287-281.
216. Stearns G, Vasavada PC (1986). Effect of microwave-processing on quality of milk. *J Food Prot* 49:853.
217. Sun W, Guy P, Jahngen JH, Rossomando EF, Jahngen E (1988). Microwave-induced hydrolysis of phosphoanhydride bonds in nucleotide triphosphates. *J Org Chem* 53:4414-4416.
218. Swami S, Mudgett RE (1981). Effect of moisture and salt content on the dielectric behavior of liquid and semi-solid foods. *Proc. Intl. Microwave Power Inst. Symp* 16:48-50.
219. Tajchakavit S, Ramaswamy HS, Fustier P (1998). Enhanced destruction of spoilage microorganisms in apple juice during continuous flow microwave heating. *Food Res Internat* 31(10): 713-722.
220. Tarr PI (1995). *Escherichia coli* O157:H7: clinical, diagnostic, and epidemiological aspects of human infections. *Clin Infect Dis* 20:1-8.
221. Tassinari AD, Landgraf M (1997). Effect of microwave heating on survival of *Salmonella typhimurium* in artificially contaminated ready-to-eat foods. *J Food Safety* 17(4), 239-248.



222. Thayer DW, Boyd G (1993). Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in meats by gamma irradiation. *Appl Environ Microbiol* 59:1030-1034.
223. Thompson JS, Thompson A (1990). In-home pasteurization of raw goat's milk by microwave treatment. *Int J Food Microbiol* 10:59-64.
224. Tilden J, Young W, McNamara AM, Custer C, Boesel B, Lambert-Fair MA, Majkowski J, Vugia D, Werner SB, Hollingsworth J, Morris JG (1996). A new route of transmission for *Escherichia coli*: infection from dry fermented salami. *Am J Public Health* 86:1142-1145.
225. Tinga WR (1970). Interaction of microwaves with materials. Proc. Of IMPI short course for users of microwave power. Intl. Microwave Power Inst., Vienna, VA.
226. Tops R (2000). Managing Director, Tops Foods, Lammerides 26, Olen, Belgium.
227. Tzipori S, Wachsmuth IK, Chapman C, Birmer R, Brittingham J, Jackson C, Hogg J (1986). The pathogenesis of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* O157:H7 in gnotobiotic piglets. *J Infect Dis* 154:712-716.
228. Van Zante HJ (1973). The microwave Oven. Houghton Mifflin Co, Boston.
229. Vela GR, Wu JF (1979). Mechanism of lethal action of 2450MHz radiation on microorganism. *Appl Environ Microbiol* 37(3):550-553.
230. Vold L, Klungseth Johansen B, Kruse H, Skjerve E, Wasteson Y (1998). Occurrence of shigatoxigenic *Escherichia coli* O157 in Norwegian cattle herds. *Epidemiol Infect* 120:21-28.
231. Vuddhakul V, Patararungrong N, Pungrasamee P, Jitsurong S, Morigaki T, Asai N, Nishibuchi M (2000). Isolation and characterization of *Escherichia*



- coli* O157:H7 from retail beef and bovine feces in Thailand. FEMS Microbiol Lett 182(2):343-347.
232. Walker SJ, Bows J, Richardson P, Banks JG (1989). Effect of recommended microwave cooking on the survival of *Listeria monocytogenes* in chilled retail product. Campden Food and Drink Research Association, Chipping Campden, Glos GL55 6LD.
233. Weagant S, Bryant JL, Bark DH (1994). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in mayonnaise and mayonnaise-based sauces at room and refrigerated temperatures. J Food Prot 57:629-631.
234. Wells JG, Davis BR, Wachsmuth IK, Riley LW, Remis RS, Sokolow R, Morris GK (1983). Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with rare *Escherichia coli* serotype. J Clin Microbiol. 18:512-520.
235. Wells JG, Shipman LD, Greene KD, Sowers EG, Green JH, Cameron DN, Downes FP, Martin ML, Griffin PM, Ostroff SM, Potter ME, Tauxe RV, Wachsmuth IL (1991). Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga-like toxin-producing *E. coli* from dairy cattle. J Clin Microbiol 29:985-989.
236. Welt BA, Tong CH, Rossen JL, Lund DB (1994). Effect of microwave irradiation on inactivation of *Clostridium sporogenes* (PA 3679) spores. Appl Environ Microbiol 60(2):482-488.
237. WHO Surveillance Programme (1996). Newsletter: Outbreak of EHEC infections in Bavaria. FAO/WHO Collaborating Centre 49/50:1-2.
238. Wickersheim KA (1989). On-line measurements in microwave ovens. Polymers, Tappi Proc., Laminations and Coating Conference, Book1, Vol. 8:51-58.



239. Willshaw GA, Thrilwell J, Jones AP, Parry S, Salmon RL, Hickey M (1994). Vero cytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in beefburgers linked to an outbreak of diarrhea, haemorrhagic colitis and haemolytic ureamic syndrome in Britain. *Lett Appl Microbiol* 19:304-307.
240. Wilson JB, McEwen SA, Clarke RC, Leslie KE, Wilson RA, Waltner-Toews D, Gyles CL (1992). Distribution and characteristics of verocytotoxigenic *Escherichia coli* isolated from Ontario dairy cattle. *Epidem Infect* 108:423-429.
241. Wright DJ, Chapman PA, Siddons CA (1994). Immunomagnetic separation as a sensitive method for isolating *Escherichia coli* O157 from food samples. *Epidem Infect* 113:31-39.
242. Wright-Rudolph L, Walker HW, Parish FC (1986). Survival of *Clostridium perfringens* and aerobic bacteria in ground beef patties during microwave and conventional cookery. *J Food Prot* 49:293-206.
243. Yen AC, Lui S (1934). Effects and supersonic waves on bacteria. *Proc Soc Exptil Biol Med* 31:1250-1252.
244. Yilmaz I, Yetim H, Ockerman HW (2002). The effect of different cooking procedures on microbiological and chemical quality characteristics of Tekirdag meatballs. *Nahrung* 46(4):276-278.
245. Zadik PM, Chapman PA, Siddons CA (1993). Use of tellurite for the selection of Verocytotoxigenic *Escherichia coli* O157. *J Med Microbiol* 39:155-158.
246. Zhang H, Datta AK (1999). Coupled electromagnetic and thermal modeling of microwave oven heating of foods. *J Microwave Power Electromagnetic Energy*. 43



247. Zhang H, Datta AK, Taub I, Doona C (1999). Experimental and numerical investigation of microwave sterilization of solid foods. Accepted pending revision in AICHE Journal.
248. Zhao T, Doyle MP, Besser RE (1993). Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in apple cider with and without preservatives. Appl Environ Microbiol 59:2526-2530.
249. Zimmermann U, Pilwat G, Riemann F (1974). Dielectric breakdown of cell membranes. Biophys J 14(11):881-889.
250. Zimmermann WJ (1983). Evaluation of microwave cooking procedures and ovens for devitalizing trichinae in pork roasts. J Food Sci 48:856-860,899.
251. Αμπραχίμ Α, Κανσουζίδου Α, Παπά Α, Δανηλίδης Β, Καραϊωάννογλου Πρ (1997). Αναζήτηση *Listeria* spp, *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp και *Escherichia coli* O157:H7 στο προσωπικό και στο περιβάλλον του μαγειρίου ενός νοσοκομείου. Δελτίο Ελληνικής Μικροβιολογικής Εταιρείας 42(1):141-145.
252. Γεωργιάκης Σ. Α (1986). Μικροκύματα. Στο: Τεχνολογία Τροφίμων Ζωικής Προέλευσης. University Studio Press, Θεσσαλονίκη, σελ. 126-127.
253. Κανσουζίδου-Κανακούδη Α, Λίτκε ΟΜ, Καραμπαζόγλου Δ, Δανηλίδης Β (1994). Αναζήτηση *Escherichia coli* O157:H7 σε κόπρανα ζώων και κινιά. Εφαρμ Κλιν Μικροβ Διαγν 9(4):264-268.
254. Ντόντορου Α (2003). Αναζήτηση της *Escherichia coli* O157:H7 σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Διδακτορική διατριβή, Ιατρική Σχολή. Ιωάννινα.
255. Τσελεπίδης Σ, Θεοδωρίδης ΑΚ (1995). Επεξεργασία των τροφίμων με την τεχνολογία των μικροκυμάτων. Δελτίο Ελλ. Κτην. Εταιρείας 46(3):202-207.



256. Χήτα Ν, Αργαλιάς Ι, Καββαδίας Σ, Παπαμιχαήλ Δ, Λεβειδιώτου-Στεφάνου Σ (2002). Μικροβιολογική διερεύνηση οξείων εντεριτιδων σε παιδιά και ενήλικες. 2^ο Πανεπειρωτικό Ιατρικό Συνέδριο, Ιωάννινα, Περίλ. 195, σελ. 203.



1. ...
 2. ...
 3. ...
 4. ...
 5. ...
 6. ...
 7. ...
 8. ...
 9. ...
 10. ...
 11. ...
 12. ...
 13. ...
 14. ...
 15. ...
 16. ...
 17. ...
 18. ...
 19. ...
 20. ...
 21. ...
 22. ...
 23. ...
 24. ...
 25. ...
 26. ...
 27. ...
 28. ...
 29. ...
 30. ...
 31. ...
 32. ...
 33. ...
 34. ...
 35. ...
 36. ...
 37. ...
 38. ...
 39. ...
 40. ...
 41. ...
 42. ...
 43. ...
 44. ...
 45. ...
 46. ...
 47. ...
 48. ...
 49. ...
 50. ...
 51. ...
 52. ...
 53. ...
 54. ...
 55. ...
 56. ...
 57. ...
 58. ...
 59. ...
 60. ...
 61. ...
 62. ...
 63. ...
 64. ...
 65. ...
 66. ...
 67. ...
 68. ...
 69. ...
 70. ...
 71. ...
 72. ...
 73. ...
 74. ...
 75. ...
 76. ...
 77. ...
 78. ...
 79. ...
 80. ...
 81. ...
 82. ...
 83. ...
 84. ...
 85. ...
 86. ...
 87. ...
 88. ...
 89. ...
 90. ...
 91. ...
 92. ...
 93. ...
 94. ...
 95. ...
 96. ...
 97. ...
 98. ...
 99. ...
 100. ...

