

ORIJINAL MAKALE

Havadaki ve yüzeydeki bakterilerin azaltılması için ev tipi buzdolaplarında iyonlaştırıcıların uygulanması

Y. Kampmann¹, A. Klingshirn², K. Kloft¹ ve J. Kreyenschmidt¹¹ Hayvan Bilimleri Enstitüsü, Önleyici Sağlık Yönetimi Grubu, Bonn Üniversitesi, Bonn, Almanya² Ev ve Cihaz Teknolojisi Bölümü, Bonn Üniversitesi, Bonn, Almanya

Anahtar Kelimeler

hava iyonları, havadan yayımlı bakteriler, ozon, buzdolabı, yüzey bakterileri.

Yazışma

Yvonne Kampmann, Hayvan Bilimleri Enstitüsü, Önleyici Sağlık Yönetim Grubu, Bonn Üniversitesi, Katzenburgweg 7-9, D-53115 Bonn, Almanya. E-postal: y.kampmann@uni-bonn.de

2008/2059: alıntı 1 Aralık 2008, revize 20 Mart 2009 ve kabul 4 Nisan 2009

doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04359.x

Özet

Amaç: Ev tipi buzdolaplarında iyonizasyonun bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisini araştırmak**Yöntemler ve Sonuçlar:** İyonizer prototipleri, teknik gereksinimleri ve ev tipi buzdolaplarında yüzey ve hava kaynaklı kontaminasyonu azaltma yetenekleri açısından test edildi. Test edilen prototiplerin iyon ve ozon üretimi, bir iyon ölçer ve bir ozon analizörü ile çevrimiçi olarak ölçüldü. Üretilen negatif hava iyonu (NAI) ve ozon miktarları sırasıyla 1,2 ve 3,7 x 10⁶ NAI cm⁻³ ve 11 ve 19 ppb O₃ arasındaydı.İyonizasyonun yüzey kontaminasyonu üzerindeki etkisini test etmek için, gıda simülasyonu için plastik, cam ve besleyici agar gibi farklı malzemeler bakteriyel süspansiyonlarla aşılandı. Havadaki bakteriler üzerindeki etki, iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcısız buzdolaplarında *Bacillus subtilis* - süspansiyon (sporlar içeren) aerosollerinin nebulizasyonu ile test edildi. İyonizasyon nedeniyle hava kirliliğinde net bir azalma ölçülmüştür. Antimikrobiyal etki, yüzey yapısı ve buzdolabı içindeki hava akışı modelleri gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.**Vargılar:** İyonizasyon, yüzeydeki ve havadaki bakterilerin azaltılması için etkili bir yöntem gibi görünmektedir.**Çalışmanın Önemi ve Etkisi:** Bu çalışma, ev tipi buzdolaplarını dekontamine etmek için yeni bir tüketici aracı için bir başlangıçtır.

Giriş

Gıda güvenliği ve kalitesinin önemi giderek artmaktadır. Gıda üreticileri, katalitik binimli kalite yönetim sistemlerini uygulayarak tüketici gereksinimlerini karşılamaya çalışmaktadır. Birincil üretimden satış noktasına kadar tüm aşamalarda gıda güvenliğini ve kalitesini sağlamak için uygun sistemler uygulanmaktadır. Ev içinde, gıda zincirinin neredeyse en son aşamasında, gıdanın uygun şekilde saklanması ve güvenliğinden yalnızca tüketici sorumludur (Lettmann 2007)

Gıda işleme ve depolama parametreleri evlerde yüksek öneme sahiptir. Esas olarak depolama sıcaklığı ve depolama nemi ile tanımlanan yaygın mikro iklim, buzdolaplarında meydana gelen hava ve yüzey kontaminasyonu üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Aşırı

sayıda mikroorganizma çapraz bulaşma riskini artırır ve dolayısıyla bozulmayı hızlandırır (Kreyenschmidt 2003; de Jong ve diğerleri 2008; Kampmann ve diğerleri 2008).

Buzdolabı üreticileri, iç yüzeylerde bakteri sayımını azaltmak için gümüş içeren iç astarlar gibi yenilikçi yöntemlerin entegrasyonu ile tüketicileri depolama hijyeni ve gıda güvenliği konusunda aktif olarak desteklemeye çalışmaktadır (Kampmann ve ark. 2008).

Gıda endüstrilerinde havadan yayımlı bakterileri azaltmak için halihazırda kullanılan bir başka yöntem de iyonizasyondur. İyonizasyon, geniş bir hava kirleticileri (örneğin toz parçacıkları) ve biyolojik kirleticileri (örneğin mikroorganizmalar, polen ve koku molekülleri etkileyen seçici olmayan bir yöntemdir (Krueger ve Reed 1976; Comi ve diğerleri 2006).

Çalışma prensibi, tek bir hava molekülü tarafından dış elektronların ayrılmasına ve bunların nötr moleküllere

bağlanmasına dayanır. Böylece pozitif ve negatif iyonlar oluşur (Forney ve ark. 2001; Fan ve ark. 2002).

Çoğunlukla şu birincil iyonlar oluşur: H^+ , H_3O^+ , O^+ , N^+ , CO_4^+ , O^- , OH^- , H_2O^- ve O_2^- . Süperoksit (O_2^-) negatif yüklü iyonların yaklaşık %95'ini temsil eder ve diğer birincil negatif yüklü iyonlardan daha karardır (Forney ve diğerleri 2001; Wu ve diğerleri 2006a). Küme iyonları havadaki kirleticiler, aerosoller ve havadaki mikroorganizmalar üzerinde birikir ve onlara pozitif veya negatif bir yük verir. İyonlar boşaltılır ve hava kirleticileri oksitlenir. Mikroorganizmalar büyümeleri sırasında öldürülür veya inhibe edilir (Marin ve diğerleri 1989; Daniels 2001). İyonlar, nükleofiller gibi hareket ederek hücre duvarındaki fosfolipidlerin hidrolizini destekler (Belitz ve ark. 2001).

Süperoksit (O_2^-) negatif yüklü iyonların yaklaşık %95'ini temsil eder ve diğer birincil negatif yüklü iyonlardan daha karardır (Forney ve diğerleri 2001; Wu ve diğerleri 2006a). Küme iyonları havadaki kirleticiler, aerosoller ve havadaki mikroorganizmalar üzerinde birikir ve onlara pozitif veya negatif bir yük verir. İyonlar boşaltılır ve hava kirleticileri oksitlenir. Mikroorganizmalar büyümeleri sırasında öldürülür veya inhibe edilir (Marin ve diğerleri 1989; Daniels 2001). İyonlar, nükleofiller gibi hareket ederek hücre duvarındaki fosfolipidlerin hidrolizini destekler (Belitz ve ark. 2001).

Negatif yüklü hava iyonlarının salınmasıyla birlikte, iyonlaşma sürecine ozon salınımı eşlik eder (Boub 2005). Ozon güçlü bir oksitleyicidir ve bu nedenle kendi başına bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Ozon, sülfhidril grupları, enzim amino asitleri, peptitler ve proteinler gibi hayati hücresel bileşenlere saldırır ve sonuç olarak mikroorganizmaları yok eder (Güzel-Seydim ve ark. 2004). Süperoksitten daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve bakteri hücrelerinin yüzeylerine yapışır (Güzel-Seydim ve ark. 2004; Jay ve ark. 2005). İyonlarla kombinasyon halinde sinerjik etkiler ortaya çıkar (Forney ve ark. 2001; Fan ve ark. 2002).

Daha yüksek konsantrasyonlarda ozon, insanlara ve ayrıca gıda ürünlerine zararlıdır. Ozon için eşik sınır değeri (TLV), ışın yoğunluğuna bağlı olarak 50 ile 100 ppb arasındadır (NIOSH 1993). Goldstein ve ark. (1992), korona deşarjı $-3 \pm 0,1$ kV'u geçmezse iyonlaştırıcılar tarafından üretilen ozon seviyesinin normal ortam koşulları seviyesini (30–50 ppb) aşmadığını göstermiştir. Bu sonuçların aksine Song ve ark. (2000), yaklaşık 2,5 kV voltajda 250 ppb'ye kadar bir konsantrasyonu ölçtü.

İyonizasyonun gıda endüstrisinde uygulanmasının yanı sıra, halihazırda çok çeşitli diğer endüstrilerde kullanılmaktadır, örn. tozsuz odalarda ve çeşitli tıbbi teknolojilerde. İyonizasyon, hem toz azaltma hem de bakterisit özelliklerin gerekli olduğu durumlarda özellikle önemlidir (Forney ve diğerleri 2001; Arnold ve Mitchell 2002; Boub 2005; Comi ve diğerleri 2006). Ancak günümüze kadar bu yöntemin ev içi soğutma alanında uygulanmasına yönelik çalışmalar oldukça azdır.

Bu çalışmada, iyonlaştırıcılar (Xi'an KongHong Information Technology Co., Xi'an, Shaanxi, Çin), yüzey kontaminasyonunu ve havadaki bakterileri azaltma yetenekleri ve ev buzdolaplarında kullanılma fizibilitesi açısından test edildi. Test edilen iyonlaştırıcının güç kaynağı, şebeke AC voltajını düzleştirilmiş bir DC voltajına dönüştürür ve iyonlaştırıcıya gerekli olan 12 V DC giriş voltajını sağlar. Elektrotlar arasındaki negatif yüksek voltaj $-4,5 \pm 0,5$ kV DC idi.

Malzemeler ve Yöntemler

İyonizasyon işlemlerinin antimikrobiyal etkisini araştırmak ve ev tipi buzdolaplarındaki uygulamasını test etmek için çeşitli farklı deneyler yapıldı. İlk aşamada, prototiplerin teknik performans parametreleri (tek modül ve plastik bir muhafaza içinde) test edildi. Bir sonraki aşamada, statik soğutmalı buzdolaplarında iyonlaşmanın farklı yüzeylerdeki bakteri sayılarına etkisi analiz edilmiştir.

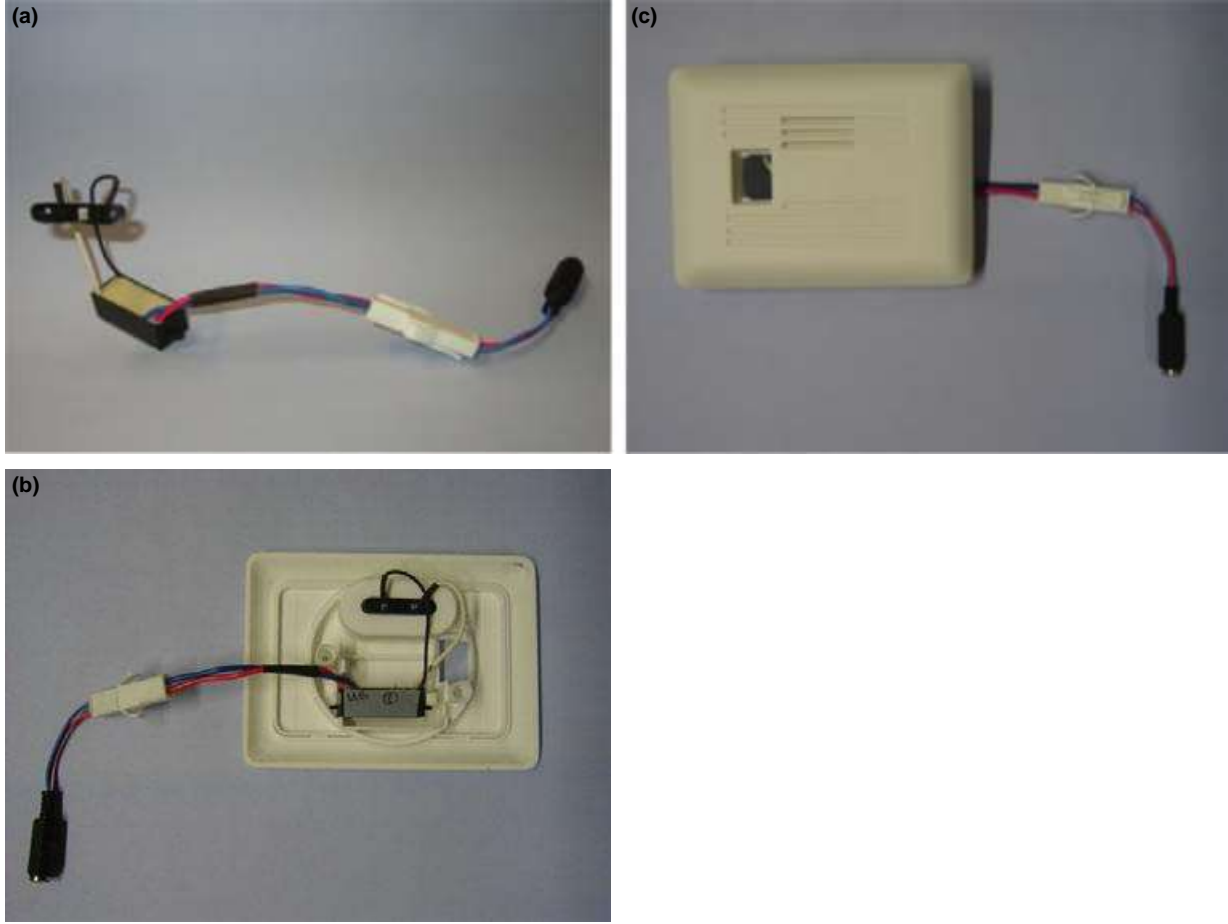
Bir sonraki aşamada, statik soğutmalı buzdolaplarında iyonlaşmanın farklı yüzeylerdeki bakteri sayılarına etkisi analiz edilmiştir. Üçüncü aşamada, buzdolaplarında iyonizasyonun havadaki bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi, özellikle statik ve dinamik soğutma koşullarının etkisine odaklanılarak araştırıldı. Ev tipi buzdolaplarında kullanım için, iyonlaştırıcılar tek bir modül olarak test edildi ve bir plastik muhafaza prototipine entegre edildi (Şekil 1). Plastik bir muhafaza içindeki bir iyonlaştırıcı modülün analizi, buzdolaplarındaki son uygulama koşullarını simüle etmek için ek olarak uygulandı ve aynı zamanda iyonlaştırıcı modülü ve tüketici için bir koruma sağladı.

İyonizasyon sırasında iyon ve ozon üretiminin ölçümü

Negatif hava iyonu (NAI) konsantrasyonunu belirlemek için bir iyon ölçer kullanıldı (Air Ion Counter 2000; AlphaLab, Salt Lake City, UT, ABD). İyon ölçer, hava örneklerini $800 \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$ oranında negatif polariteye sahip bir kollektör plakasına taşır ve kollektör plakasına çarpan saniyedeki temel yüklerin sayısını hesaplar. Hava iyon ölçer, 10 NAI cm^{-3} hassasiyetle $8 \times 10^6 \text{ NAI cm}^{-3}$ ölçüm aralığına sahiptir. Örnekleme, iyonlaştırıcı elektrottan 5 cm'lik bir mesafe içinde 5 dakika boyunca gerçekleştirilir.

İyon konsantrasyonu ile birlikte buzdolabı atmosferinde biriken ozon konsantrasyonu ölçüldü. Ozon seviyesinin evrimi, ozon analizörü O341M (Environment S.A., Paris, Fransa) kullanılarak çevrimiçi olarak izlendi. Ölçüm prensibi, ozon moleküllerinin 254 nm'de ultraviyole absorpsiyonuna dayanmaktadır. Ozon konsantrasyonu, gaz numunesinin kendisinin ve ozonun bir katalitik konvertör tarafından filtre edildiği gaz numunesinin sapmasının hesaplanmasıyla belirlenir. Numune alma gazı, ozonla ayarlanmış numunenin iletim hızını belirlemek için her 10 saniyede bir ozon filtresi aracılığıyla ölçüm ampulüne yönlendirilir ve daha sonra ozon içeren numune alma gazının iletim hızı ile karşılaştırılır.

Ozon konsantrasyonu, entegre sıcaklık ve basınç sensörleri



Şekil 1 Kong Hong iyonlaştırıcının tek bir modül (a) olarak ve plastik bir muhafazaya entegre edilmiş resmi – (b)'de arkadan görünüm ve (c)'de önden görünüm

ile standart koşullara ayarlanan Beer-Lambert yasasının uygulanmasıyla hesaplanır.

Ozon analizörü, 0,1 ppb O_3 'lük bir alt tespit edilebilir limit ve F.S (fonksiyonel spesifikasyon) olarak $\pm\%1$ 'lik bir doğrusallık sağlar. Örnek akış hızı, 30 s'lik bir yanıt süresiyle 60 l h^{-1} 'e ayarlanmıştır. Gaz örnekleri doğrudan buzdolabı atmosferinden alınmıştır. Ozon analizörünün numune alma ağzından 5 mm çapında teflon tüp buzdolabının yan duvarında açılan bir delikten buzdolabı bölümüne beslendi. Örnekleme tüpü, 20 cm'lik bir ayırma mesafesi ile iyonlaştırıcı modülünün karşısına yerleştirildi. Ozon konsantrasyonunun gelişimi her iyonlaştırıcı için 2–yaklaşık 3 saat analiz edildi..

Depolama atmosferinin ozon konsantrasyonu üzerindeki etkilerini belirlemek için sıcaklık ve nem kaydediciler (EBI-2TH-611; Ebro, Ingolstadt, Almanya) kullanılarak hem sıcaklık hem de bağıl nem (RH) paralel olarak $\pm\%2$ RH ve $\pm 0,3^\circ\text{C}$ doğrulukla ölçüldü.

Yüzey bakterileri üzerinde iyonlaşmanın antimikrobiyal aktivitesi

Ön testlerde belirgin olarak 287 l'lik buzdolaplarında (KSR30425; Bosch, Giengen, Almanya) iyonizasyondan kaynaklanan yüzeylerde antimikrobiyal aktivite net olarak tespit edilemediğinden, test hacmi azaltılmıştır. İki buzdolabının iki sebze çekmecesinde (hacim 16 l) incelemeler yapılmıştır. Çekmecelerden biri tek iyonlaştırıcı modülüyle (Xi'an KongHong Information Technology Co.) donatıldı, diğer çekmece referans olarak kullanıldı. İyonlaştırıcı, dezenfekte edilmiş sebze çekmecesinin iç astarına sabitlendi. Kapalı bir test alanı sağlamak için çekmecelerin üstleri cam plakalarla kaplanmıştır. Kötü depolama koşullarının simüle edilmesi gerektiği için deney 8°C 'de gerçekleştirildi.

İyonizasyonun yüzey alanı üzerindeki antimikrobiyal etkisini test etmek için, her biri Bacillus subtilis (DSM no. 704), Lactobacillus brevis ve Pseudomonas fluorescens'den üç farklı bakteri süspansiyonu hazırlandı. Lactobacillus ve

Pseudomonas türleri, Bonn, Almanya Hayvan Bilimleri Enstitüsü'nün stok kültüründen türemiştir. Tarif edilen türlerin bir ilmeği kültür plakasından alındı ve her kültür için 9 ml salin solüsyonu ve 1 ml besin suyu içeren ayrı bir tüpe aktarıldı. İnkübasyondan sonra (24 saat/25°C), alt kültürler tuzlu su solüsyonunda 10^3 CFU ml⁻¹ (*B. subtilis*, *L. brevis*) ve 10^4 CFU ml⁻¹ (*P. fluorescens*) seyreltildi.

Antimikrobiyal etki üç farklı malzeme üzerinde araştırıldı: steril plastik malzeme (buzdolabı iç astarlarını simüle etmek için), steril cam tabaklar (cam rafları simüle etmek için) ve seçici agar tabakları (gıda ürünlerini simüle etmek için).

Plastik malzeme ve cam plakalar (steril Petri kaplarına yerleştirildi), her biri 500 µl üç bakteri süspansiyonu (*B. subtilis*, *L. brevis* ve *P. fluorescens*) ile aşılandı. Seçici agar plakaları (inokulaya bağlı olarak, *B. subtilis* için: CASO (kazein-soya-pepton) agar; Roth, Karlsruhe, Almanya; *L. brevis* için: de Mann Rogosa Sharpe veya MRS agar; Merck, Darmstadt, Almanya ve *P. fluorescens* için: CFC (sefaloridin fucidin setrimid) agar ek CFC Takviyesi; Oxoid, Hampshire, GB) 100 µl uygun bakteri süspansiyonu ile aşılanmıştır.

Üç farklı yüzeye sahip Petri kapları (her biri üç farklı bakteri süspansiyonlu iki kopya halinde), daha önce açıklanan iyonlaştırıcılı ve iyonlaştırıcısız test odalarına yerleştirildi. Tüm numuneler, iyonların önceden aşı kurumadan yüzeye temas etmesini sağlamak için kapaksız 8°C'de saklandı. 72 saatlik bir saklama süresinden sonra, aşılanmış plastik ve cam plakalara sahip Petri kapları, uygun seçici agarlar ile dökme plaka yöntemine göre işleme tabi tutulmuştur. Aşılanmış agar plakaları başka bir işleme tabi tutulmadan inkübe edildi. Koloni oluşturan birimler *B. subtilis* (aerobik) ve *L. brevis* (anaerobik), 30°C'de 72 saatlik inkübasyondan sonra ve *P. fluorescens*, 25°C'de (aerobik) 48 saat sonra numaralandırılmıştır. Referans test odasında depolanan yüzeylerdeki canlı sayımlar, iyonlaştırıcı ile test odasında depolanan yüzeylerdeki canlı sayımlarla karşılaştırıldı.

İyonizasyonun havadan yayımlı bakteri konsantrasyonu üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

İyonizasyonun havadan yayımlı bakterilere karşı antimikrobiyal etkisini test etmek için, aynı yapıda iki buzdolabı kullanıldı (KSR30425; Bosch, Giengen, Almanya; hacim 287 l). Petri kaplarının önceden belirlenmiş zaman aralıklarında buzdolabının kapısı açılmadan değiştirilmesine olanak sağlamak ve dışarıdan bulaşmayı önlemek için kesin konumlandırılmalı petri kaplarını taşıyan bölümlü bir çekmece yerleştirildi. Mikroorganizmaların püskürtülmesini kolaylaştırmak için kapıya kilitlenebilir bir açıklık yerleştirildi. Dinamik ve statik soğutma koşullarını simüle etmek için her iki buzdolabına da açma kapama anahtarı içeren bir vantilatör entegre edildi.

Buzdolaplarından biri, daha önce açıklanan elektronik iyonlaştırıcı (Xi'an KongHong Bilgi Teknolojisi A.Ş.) ile donatılmıştı. İyonlaştırıcı, tek bir modül olarak test edildi ve yarıkları olan plastik bir muhafazaya entegre edildi (Şekil 1). İkinci buzdolabı referans olarak kullanıldı

Deneyler sırasında bakteri ve sporların buzdolapları içinde eşit dağılımını sağlamak için raflar buzdolabından çıkarılmıştır. Buzdolaplarından birinde iyonlaştırıcı, iç astarın sol tarafına, levhaya ve vantilatöre yakın bir yere sabitlendi, böylece negatif iyonlar buzdolabının hava akımıyla birlikte taşındı. Statik deneyler için vantilatörler kapatıldı.

Dezenfeksiyon iki adımda gerçekleştirildi: (i) yeni bir deney başlamadan önceki akşam, her iki buzdolabı da Meliseptol rapid (*B. Braun*, Melsongen, Almanya) ile temizlendi ve dezenfekte edildi; (ii) deneyin başlamasından hemen önce, buzdolapları etanol (%80) ile silindi. Etanolün buharlaştırılmasından (30 dakika) sonra iyonlaştırıcı ve buzdolapları (8°C'ye ayarlanmış) açıldı.

İnokulumun hazırlanması

Dondurularak kurutulmuş *B. subtilis* (DSM no. 704) kültürü, DSMZ'nin talimatlarına göre yetiştirildi ve 30°C'de 10 ml'lik bir besleyici et suyunda (Roth, Karlsruhe, Almanya) 24 saat inkübe edildi. Bu *B. subtilis* süspansiyonunun bir halkası, 500 ml taze, steril besi suyunu aşımak için kullanıldı. Endospor oluşumunu sağlamak için süspansiyon, 30°C'de <5 gün süreyle inkübe edildi. Sporların gelişimi, gram boyama ve ardışık mikroskopi ile doğrulandı. Canlı hücre sayısı her seferinde kullanımdan hemen önce belirlendi ve sürekli olarak 10^6 CFU ml⁻¹ civarındaydı. Dört hafta sonra aynı şekilde yeni bir süspansiyon hazırlandı.

B. subtilis süspansiyonunun (sporlar içeren) homojen dağılımı için, her iki buzdolabında bir pistole (Beginner ESB 100; Revell GmbH & Co. KG, Bünde, Almanya) kullanılarak tarif edilen süspansiyonun 4 ml'si nebulize edildi. Tanımlanmış zaman aralıklarında (0-5, 1, 1-5, 2 ve 2-5 saat), havadan yayımlı bakteri konsantrasyonu, her biri 30 dakika boyunca dört CASO agar plakası (Roth) ile sedimentasyon yöntemi kullanılarak belirlendi. 30°C'de 72 saatlik inkübasyonun ardından CFU sayımı azalımı aşağıdaki formülle hesaplandı:

$$\text{Azalım} = \frac{T_{x,Re} - T_{x,ion}}{T_{x,Re}} \times 100;$$

iyonizasyonlu buzdolabında x saat inkübasyondan sonra Ø (ortalama) havadan yayımlı bakteri $T_{x,ion}$ ve iyonizasyonsuz buzdolabında x saat inkübasyondan sonra Ø (ortalama) havadan yayımlı bakteri $T_{x,Re}$

İstatistiksel Analizler

Kalıntıların normalliğini doğrulamak için Kolmogorow-Smirnow testi yapıldı. Tek modül ile muhafaza prototipi arasındaki iyon ve ozon üretimindeki farklılıklar, Minitab Yazılımında (Minitab Inc., State College, PA, ABD) iki örnekli t testi kullanılarak analiz edildi. Bakteriyel büyümedeki farklılıklar, bağımsız numuneler için t-testi ile anlamlılık açısından analiz edildi. Analizler SPSS 17.0 for Windows^a (SPSS Inc., Chicago, IL) kullanılarak yapıldı.

Anlamlılık düzeyi şu şekilde tanımlanmıştır: (i) $P > 0,05$ anlamlılık olmadığını gösterir (n.s.) ve (ii) $P \leq 0,05$ anlamlı farkı belirtir (*).

Sonuçlar

İyonizasyon sırasında ozon ve iyon üretimi (teknik performans parametreleri)

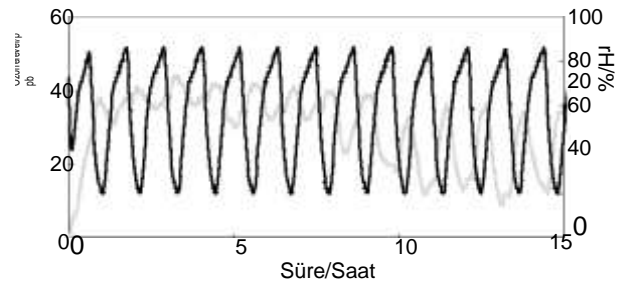
Tek iyonlaştırıcı modülü, ortalama $3,7 \times 10^6$ iyon cm^{-3} iyon salınımı gösterir. İyonlaştırıcının prototip muhafazasına yerleştirilmesi, iyon salınımında önemli bir düşüşe $1,2 \times 10^6$ iyon cm^{-3} neden oldu.

Buzdolabı içindeki ozon seviyesi, 20 dakikalık iyonlaştırıcı çalışma süresinden sonra sabit bir seviyeye ulaşır. Buzdolabı atmosferi içindeki bağıl neme yüksek bağımlılık nedeniyle, ozon konsantrasyonu ortalama 10 ppb O_3 genliğinde dalgalanır (Şekil 2). Yüksek bağıl nem seviyelerinde, ozon konsantrasyonu düşüktür ve bunun tersi de geçerlidir.

Analiz edilen cihazlardaki ozon konsantrasyonu, maksimum 28 ppb O_3 konsantrasyonu ve tek modüller için ortalama 19 ppb O_3 gösterir. İyonlaştırıcı muhafaza prototipi, ortalama 11 ppb O_3 göstererek, buzdolabı atmosferi içindeki ozon konsantrasyonunda önemli bir azalmaya neden olur.

Yüzeylerde bakteri sayımında iyonlaşmanın antimikrobiyal aktivitesi

Tablo 1-3, iyonizasyonun farklı yüzeyler üzerindeki bakterisit etkisini göstermektedir. İndirgeme hızının kullanılan malzemeye ve kullanılan bakteriyel



Şekil 2 Bağıl nemin buzdolabı atmosferi içindeki ozon konsantrasyonu üzerindeki etkisi. (— $0,303$ (ppb) ve — $\%RH$ (%)).

Tablo 1 Tanımlanmış bir test odasında iyonizasyon yoluyla aşılınmış plastikler üzerindeki bakterilerde \log_{10} azalım

Test	Kullanılan bakteri türü ve agar	Süre (gün)	Depolamadan sonra referans buzdolabında ortalama CFU (\log_{10} CFU kap bazında)	Depolamadan sonra referans buzdolabında ortalama CFU İyonizerli (\log_{10} CFU kap bazında)	\log_{10} azalım
P1	Bacillus subtilis (PC)	3	2.2	1.3	0.9
	Lactobacillus brevis (MRS)		2.1	1.1	1.0
	Pseudomonas fluorescens (CFC)		>2.5	>2.5	n.e.
P2	Bacillus subtilis (PC)	3	1.8	1.1	0.7
	Lactobacillus brevis (MRS)		2.1	0	2.1
	Pseudomonas fluorescens (CFC)		>2.5	0	>2.5

n.e., değerlendirilemez; MRS, de Mann Rogosa Sharpe agar; PC, plate count agar; CFC, ceftrimidin-fucidin-cephaloridin agar.

Tablo 2 İyonizasyon ile tanımlanmış bir test odasında aşılınmış cam slaytlardaki bakterilerde \log_{10} azalım

Test	Kullanılan bakteri türü ve agar	Süre (gün)	Depolamadan sonra referans buzdolabında ortalama CFU (\log_{10} CFU kap bazında)	Depolamadan sonra referans buzdolabında ortalama CFU İyonizerli (\log_{10} CFU kap bazında)	\log_{10} azalım
G1	Bacillus subtilis (PC)	3	1.0	0	1.0
	Lactobacillus brevis (MRS)		1.9	0	1.9
	Pseudomonas fluorescens (CFC)		>2.5	0.3	>2.2
G2	Bacillus subtilis (PC)	3	1.5	0.5	1.0
	Lactobacillus brevis (MRS)		1.9	0	1.9
	Pseudomonas fluorescens (CFC)		>2.5	0	>2.5

MRS, de Mann Rogosa Sharpe agar; PC, plate count agar; CFC, ceftrimidin-fucidin-cephaloridin agar.

^a 2009 The Authors

Table 3 iyonizasyon ile tanımlanmış bir test odasında inkübe edilmiş agar plakalarındaki bakterilerde log₁₀ azalım

Test	Kullanılan bakteri türü ve agar	Süre (gün)	Depolamadan sonra referans buzdolabında ortalama CFU (log ₁₀ CFU per dish)	Depolamadan sonra referans buzdolabında ortalama CFU iyonizerli (log ₁₀ CFU per dish)	log ₁₀ azalım
A1	Bacillus subtilis (CASO)	3	2.2	2.2	–
	Lactobacillus brevis (MRS)		>2.5	>2.5	–
	Pseudomonas fluorescens (CFC)		>2.5	>2.5	–
A2	Bacillus subtilis (CASO)	3	2.3	2.3	–
A3	Bacillus subtilis (PC)	3	1.7	1.7	–
	Lactobacillus brevis (MRS)		>2.5	>2.5	–
	Pseudomonas fluorescens (CFC)		>2.5	>2.5	–
A4	Bacillus subtilis (CASO)	3	1.2	0.7	0.5

–, antimikrobiyal aktivite yok; MRS, de Mann Rogosa Sharpe agar; CASO, casein-soya-peptone agar; CFC, cetrimidin-fucidin-cephaloridin agar; PC, plate count agar.

süspansiyona bağlı olduğu aşık hale gelir. Tablo 1, iyonlaşmanın plastik yüzeyler üzerindeki etkisini göstermektedir. B. subtilis için, L. brevis'in canlı hücre sayısı ortalama olarak 1.0 ile 2.1 log₁₀ birim arasında azalırken, 0.7-0.9 log₁₀ birimlik bir ortalama azalma hesaplanmıştır. P. fluorescens (P1) ile yapılan ilk test çalışması, her iki test odasında saklanan plakaların yüzeyleri bakterilerle aşırı büyüdüğü için belirlenemedi. Ancak iyonizerli haznede saklanan plakalardaki koloni sayıları görsel olarak belirgin şekilde azaldı. İkinci test çalışmasında, azaltma oranı 2.5 log₁₀ birimden daha yüksekti. Referans odasında, P. fluorescens büyümesi plaka başına 300 CFU'nun oldukça üzerindedir (petri kabı başına F 2.5 log₁₀ CFU). Bunun aksine, iyonlaştırıcı içeren haznede saklama süresinden sonra bakteri tespit edilmemiştir.

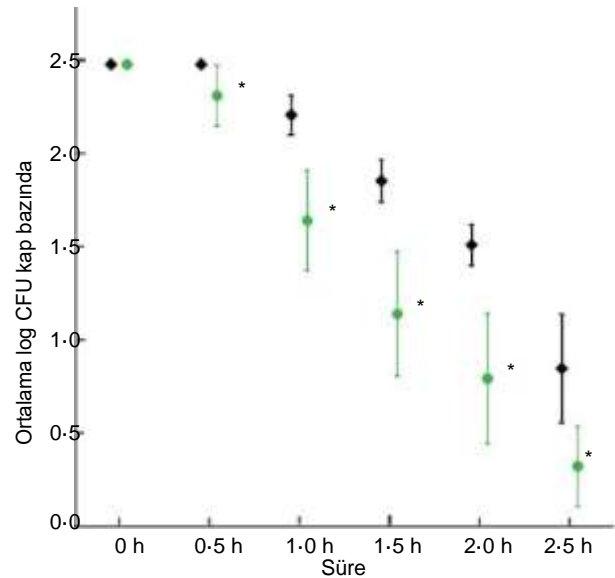
Tablo 2, inkübe edilmiş cam yüzeyler üzerinde iyonizasyon etkisinin test edilmesinin sonuçlarını göstermektedir. Referans test odasında saklanan cam plakalar üzerindeki canlı B. subtilis sayısı, iyonlaştırıcı haznede tabak başına ortalama 0–0.5 log₁₀ CFU ile karşılaştırıldığında, tabak başına ortalama 1.0 ve 1.5 log₁₀ CFU arasındadır. Bu, her biri 1.0'lık bir log₁₀ azalmasına eşittir. İnokulum olarak L. brevis kullanılarak, referans odasında tabak başına ortalama 1.9 log₁₀ CFU tespit edilirken, her iki test çalışmasında da iyonlaştırıcı ile test odasında saklandıktan sonra cam plakalar üzerinde hiçbir bakteri tespit edilmedi. Bu, 1.9 log₁₀ birimlik bir azalma oranına eşittir. Benzer bir etki, P. fluorescens ile belirlendi. Referans test odasında, her iki test çalışmasında da cam plakalar Pseudomonas ile büyümüş, iyonlaştırıcı test odasında ise neredeyse tüm bakteriler öldürülmüştür. Bu, 2.2 log₁₀ birimden daha yüksek bir azalma oranı anlamına gelir.

Tablo 3, gıda ürünlerinin simülasyonu için besin agar üzerindeki iyonizasyonun etkisini göstermektedir. A1-A3 test çalıştırmalarında hiçbir antimikrobiyal aktivitenin ölçülmediği açıktır. Bununla birlikte, referans kolonilere kıyasla iyonizasyonun etkisinden dolayı kolonilerin boyutları çok daha küçük olduğundan, morfoloji iyonizasyon ile değişmiştir. Yalnızca son test

çalıştırmasında (A4), B. subtilis'te hafif bir azalma ölçülmüştür. Referans plakalardaki ortalama CFU, iyonizasyonlu plaka başına 0.7 log₁₀ CFU'ya kıyasla plaka başına 1.2 log₁₀ CFU idi. Bu, iyonizasyon yoluyla 0.5 log₁₀ birimlik bir azalmaya eşittir.

İyonizasyonun havadaki bakteri konsantrasyonu üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

Araştırmalar, iyonizasyonun ev tipi buzdolaplarında havadaki bakterileri azaltmak için uygun ve etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir. Şekil 3, iyonlaştırıcı tek modülü olan ve olmayan statik buzdolaplarında (vantilatör kapalı) havadaki bakterilerin gelişimini gösterir.



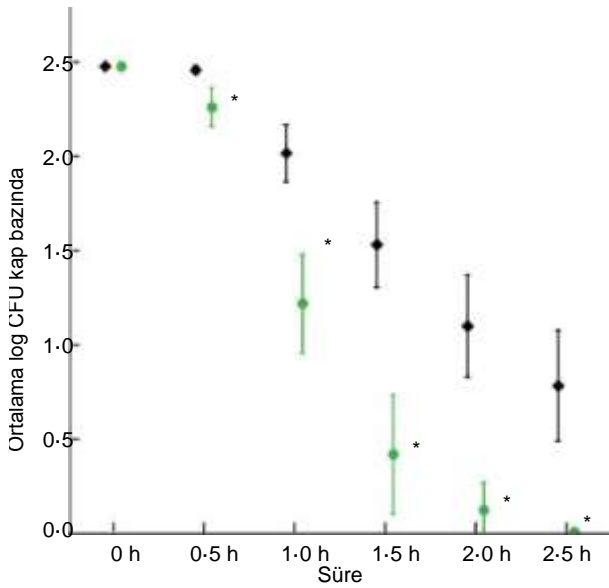
Şekil 3 Zaman içinde belirli noktalarda (n = 16) iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcı olmayan statik buzdolaplarında çanak başına log CFU cinsinden ortalama havadaki bakteri (Bacillus subtilis). (◆), referans; (●), iyonlaştırıcı; (T), referans ve (T) iyonlaştırıcı; (*) referans ve iyonlaştırıcı arasındaki önemli farkı gösterir. Hata çubukları %95 güven aralığını gösterir.

0.5 saat sonra toplam canlı sayımın (TVC), iyonlaştırıcı buzdolabında ortalama olarak plaka başına $2.3 \log_{10}$ CFU ve referans buzdolabında plaka başına $2.5 \log_{10}$ CFU olduğu ortaya çıkar. Bu, $0.2 \log_{10}$ birimlik orta derecede önemli bir azalmaya eşittir. Diğer tüm ölçüm noktalarında, azalma oranı $0.5-0.7 \log_{10}$ birim ile oldukça önemlidir.

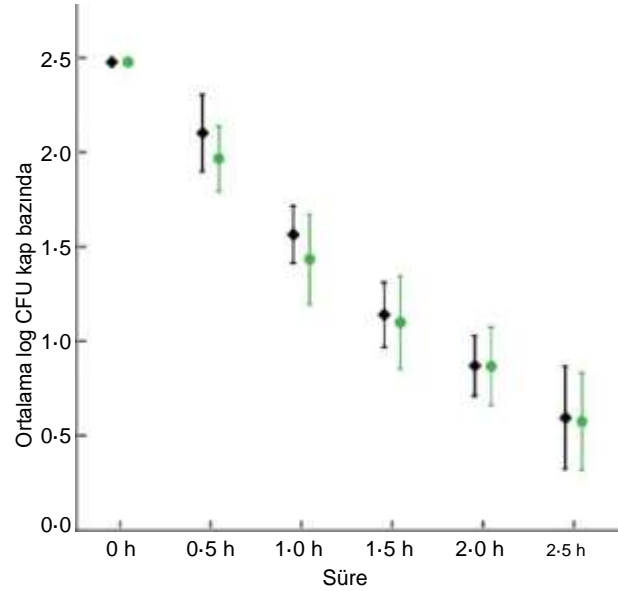
Şekil 4, tek modül iyonlaştırıcısı olan ve olmayan dinamik buzdolaplarında (vantilatörlü) havadaki bakterilerin gelişimini göstermektedir. Referans ve iyonlaştırıcı buzdolaplarındaki bakteri sayısı arasındaki fark, başlangıç konsantrasyonu dışında tüm 0.5 saat sonra ortalamadaki fark 0.2'dir. Diğer ölçüm noktalarında farklar ortalama olarak 0.8 ile $1.1 \log_{10}$ birim arasındadır.

Plastik bir mahfaza içinde iyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcısız statik buzdolaplarında havada uçan bakterilerin gelişimi Şekil 5'te gösterilmektedir. iyonizasyon ile hesaplanan azalmanın önemli olmadığını gösterir. Referans buzdolabında ve iyonlaştırıcı buzdolabında çanak başına ortalama havadaki bakteri arasındaki fark, başlangıç noktasından 0.5 saat sonra en yüksek $0.14 \log_{10}$ birimdir.

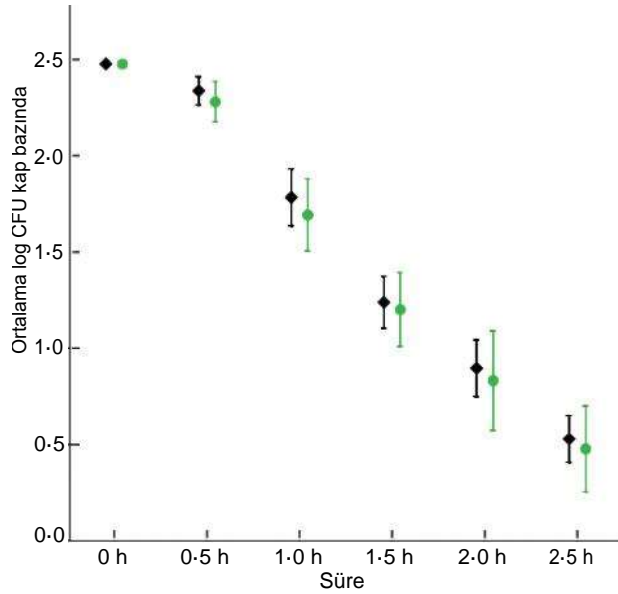
Ayrıca vantilatörlü buzdolaplarında, farklı ölçüm noktalarındaki ortalama hava kirleticileri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemli değildir.



Şekil 4 İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcısız (tek modül) dinamik buzdolaplarında belirli zaman noktalarında (n = 12) çanak başına log CFU cinsinden ortalama hava kaynaklı bakteri (*Bacillus subtilis*). (◆), referans; (●), iyonlaştırıcı; (T), referans ve (T) iyonlaştırıcı; (*) referans ve iyonlaştırıcı arasındaki önemli farkı gösterir. Hata çubukları %95 güven aralığını gösterir.



Şekil 5 İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcısız, plastik muhafazaya entegre edilmiş statik buzdolaplarında, belirli zaman noktalarında (n = 10) çanak başına log CFU cinsinden ortalama hava kaynaklı bakteri (*Bacillus subtilis*). (◆), referans; (●), iyonlaştırıcı; (T), referans ve (T) iyonlaştırıcı. Hata çubukları %95 güven aralığını gösterir.



Şekil 6 İyonlaştırıcı ve iyonlaştırıcısız, plastik muhafazaya entegre edilmiş dinamik buzdolaplarında, belirli zaman noktalarında (n = 12) çanak başına log CFU cinsinden ortalama hava kaynaklı bakteri (*Bacillus subtilis*). (◆), referans; (●), iyonlaştırıcı; (T), referans ve (T) iyonlaştırıcı. Hata çubukları %95 güven aralığını gösterir.

(Şekil. 6). Prototip muhafaza hızında iyonlaştırıcı tarafından ortalama azalma, 0.04 ile $0.09 \log_{10}$ birim arasında değişir.

Vantilatörlü ve vantilatörsüz buzdolaplarında tek bir modül ve plastik bir muhafazanın ayrılmaz parçası olarak iyonlaştırıcıların antimikrobiyal aktivitesi karşılaştırıldığında, ayrı iyonlaştırıcı modüller kullanıldığında bakteri azaltma çok daha yüksektir.

Tartışma

Yüzeydeki ve havadaki bakterilerin azaltılması için iyon miktarları c. $5 \times 10^4 - 5 \times 10^6$ iyon cm^{-3} gereklidir. Test edilen iyonlaştırıcı prototipi, hedef bölge içinde olan $1.2-3.7 \times 10^6$ iyon cm^{-3} iyon miktarı üretir. Yan ürün ozon, iyonizasyonun antimikrobiyal etkisini destekler. Ozon yoksa, antimikrobiyal etki iyonların ve ozonun birleşik etkisinden çok daha düşüktür (Song ve diğerleri 2000; Forney ve diğerleri 2001; Palou ve diğerleri 2001; Fan ve diğerleri 2002). Bununla birlikte, aşırı ozon konsantrasyonlarının gıda yüzeylerinde renk bozulmasına ve ayrıca oksitleme işlemlerinden kaynaklanan kötü tatlara yol açabileceği göz önünde bulundurulmalıdır (Fan ve ark. 2002). Bu nedenle milyarda yüz parça aşılmamalıdır (NIOSH 1993). Test edilen prototip tarafından üretilen ozon konsantrasyonları 10 ile 45 ppb arasında değişmekte olup, bunlar hala sınır değerler içindedir.

Hem iyon hem de ozon konsantrasyonları için, havadaki su molekülleri iyonlar için potansiyel reaksiyon ortakları olduğundan, bağıl nem onların aktiviteleri üzerinde indirgeyici bir etkiye sahiptir (Forney ve diğerleri 2001; Wu ve diğerleri 2006a). Nemin ozon üretimi üzerindeki etkisi de araştırmalarımızda görünür hale geldi (bkz. Şekil 2).

Test edilen tek modül iyonlaştırıcı, buzdolaplarında yüzey ve havadaki bakterilere karşı iyi derecede antimikrobiyal aktivite sağlar. Gıda endüstrisi dışındaki diğer endüstrilerde iyonlaştırıcıların antimikrobiyal aktivitesini tanımlayan birkaç çalışma vardır. Mitchell et al. (1998, 2000), Gast ve diğerleri. (1999) ve Holt ve diğerleri. (1999), iyonizasyon yoluyla yüzeydeki ve havadaki bakterilerin azaltılmasının genel olasılığını gösterdi. Ayrıca Seo ve ark. (2001), iyonizasyonun antimikrobiyal aktivitesini %95-99 azalma oranıyla Salmonella enteritidis'e karşı kanıtlamıştır.

Araştırmalar, yüzey malzemesinin ve yapısının antimikrobiyal aktiviteyi etkilediğini ortaya koydu. Aşılınmış plastik veya cam ile karşılaştırıldığında aşılınmış besleyici agarda azalma seviyesi ölçülmüştür. Bunun nedeni, Lajcikova ve diğerleri tarafından tarif edildiği gibi farklı yüzey katkısı olabilir. (1999) ve Yao ve diğerleri. (2005). Plastik ve camın aksine agarın yüzeyi daha gözeneklidir. Ayrıca, agarın su içeriği iyonların inaktivasyonunu kolaylaştırır. Bu, iyonlaştırıcıların buzdolaplarına entegrasyonunda, buzdolabı iç yüzeyleri ve cam plakalar gibi buzdolabı malzemeleri üzerindeki bakteri konsantrasyonunun bu yöntemle azaltılabileceği anlamına gelir. Aksine, gıda ürünlerinin simülasyonu için aşılınmış agar plakaları ile yapılan ilk araştırmalar, gıdada

iyonizasyondan kaynaklanan bakteri sayısında azalma olmadığını veya düşük olduğunu göstermektedir.

Ayrıca, kullanılan bakteri türü, plastik ve cam yüzeylerdeki azalma oranını etkiler. Dört test çalışmasının üçünde, iyonizasyon yoluyla gram negatif *P. fluorescens* suşundaki azalma 2.2 log birimden daha yüksekti. İnokula olarak Gram pozitif türler *B. subtilis* veya *L. brevis* kullanıldığında, azalma oranı 1.0 ile 2.1 arasında, sırasıyla 0.7 ile 1.0 log birim arasındaydı. Bu, hücre duvarındaki farklılıklardan kaynaklanan Gram pozitif türlerin daha düşük duyarlılığını gösterir.

Yüzeyler üzerindeki antimikrobiyal etkisinin yanında, iyonlaşmanın havadaki bakteriler üzerinde engelleyici bir etkisi vardır. Azalma oranı, test edilen prototip plastik muhafaza tarafından büyük ölçüde azaltılmıştır. Test edilen tek modül iyonlaştırıcı, $1.1 \log_{10}$ üniteye kadar azalma sağlarken, plastik bir muhafazaya entegre edilmiş iyonlaştırıcı, maksimum $0.14 \log_{10}$ ünite azaltma seviyesine ulaşır. Bu gözlemin olası bir nedeni, plastik mahfaza gibi izolasyon malzemelerinin elektrostatik olarak yüklenebilmesi ve dolayısıyla iyonların geçişini engelleyebilmesidir (Anon. 1990). Ayrıca ölçümler, plastik muhafazalar sayesinde ozon emisyon oranının 19 ppb'den 11 ppb'ye düşürüldüğünü göstermektedir. Ozon kendi başına bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğundan, ozon konsantrasyonundaki azalma antimikrobiyal aktivitede bir azalmaya yol açar. Bu nedenle, test edilen prototip, iyonlaştırıcı muhafazası olarak kullanıma uygun değildir. Kıvrım şekillerinden etkilenmiş bir yüzeye sahiptir ve bu, iyonların boşalmasını teşvik eder ve muhtemelen ozon emisyonunu önler (Lajcikova et al. 1999). Ancak, iyonlaştırıcıların buzdolaplarına entegrasyonu için, iyonlaştırıcı yayıcıları toz, nem ve mekanik hasardan koruduğu için plastik bir muhafaza kaçınılmazdır. Elbette, iyonların ve ozon emisyonunun yayılmasına izin vermek için büyük yarıkların ve iyonların boşalmasını önlemek için muhafazanın yuvarlak, pürüzsüz bir yüzeyi olmalıdır.

İyonizer tipine ek olarak, buzdolabındaki hava sirkülasyonu, havadaki bakteriler üzerindeki antimikrobiyal aktivite üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Araştırmalar, dinamik buzdolaplarındaki azalma oranının statik buzdolaplarına göre çok daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bunun nedeni ventilatörün kullanımı yoluyla artan hareketlilik olabilir.

Ayrıca, iyonlaştırıcının buzdolabı içinde konumlandırılması çok önemlidir. İyonlaştırıcının aşılınmış yüzeyden uzaklığı ile karşılaştırıldığında test odasının boyutu, anti-mikrobiyal aktivite seviyesi üzerinde büyük bir etkiye sahiptir (Wu ve diğerleri 2006a,b). Yüzey kontaminasyonu ile ilgili araştırmalarımız da iyonlaştırıcının bakterilere olan mesafesinin artmasıyla iyonlaştırıcıların antimikrobiyal etkisinin azaldığını göstermiştir. Normal bir buzdolabında (287 l) aşılınmış yüzeyler üzerinde bakteri öldürücü iyonizasyon etkisi tespit edilmedi ancak buzdolabının (16 l) içindeki daha küçük test odasında tespit edildi.

Özetlemek gerekirse, araştırmalar iyonizasyon ile elde edilen azalma oranının birkaç faktöre bağlı olduğunu ortaya koymuştur, bunlar şunlardır: iyonlaştırıcı muhafazasının yapısal düzeni ve malzeme özellikleri, buzdolabı içindeki hava sirkülasyonu ve iç hacim.

İyonizasyon nedeniyle antimikrobiyal aktiviteyi etkileyen tüm faktörlerin yanı sıra, koku alma yönleri de dikkate alınmalı ve analiz edilmelidir. Daniels'ın (2001) iyonizasyonun kokuyu nötralize edebileceği görüşünün aksine, yaptığımız çalışmalarda rastgele örnekleme, iyonlaştırıcı buzdolaplarında 'doğal olmayan' bir koku veya koku (bazı elektronik cihazlardan yayılan gibi) tespit etti. Bu etkinin bir açıklaması, yan ürün olan ozonun keskin bir karakteristik kokuya sahip olması olabilir (Güzel-Seydim et al. 2004).

Bu sonuçların ötesinde, reaktif türlerin gıda ürünlerinin yanı sıra buzdolabı malzemeleri üzerindeki etkisine ilişkin araştırmalara ihtiyaç vardır. Sonuç olarak, iyonlaştırma, yüzeydeki ve havadaki bakterilerin azaltılması için olası bir yöntemdir. Ancak ev tipi buzdolaplarına entegrasyondan önce iyonların ve ozonun buzdolabında homojen dağılımını sağlamak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Teşekkür

Yazarlar, bu çalışmaya verdiği destek için Dr Sandro Kohn'a teşekkür eder.

Referanslar

- 90) Luftentkeimung durch Mikrooxidation. Die Ernährungsindustrie 3, 48–49.
- Arnold, J.W. and Mitchell, B.W. (2002) Use of negative air ionisation for reducing microbial contamination on stain-less steel surfaces. *J Appl Poult Res* 11, 179–186.
- Belitz, H.-D., Grosch, W. and Schieberle, P. (2001) *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, 5th edn. Berlin, Heidelberg, Germany: Springer-Verlag.
- Boub, T. (2005) *Ionisation in der Praxis. Leitfaden über Wirkungsweise und Anwendung von Ionisatoren*. Statech Systems AG STS, Eschenbach.
- Comi, G., Osualdini, M., Manzano, M., Lovo, A., Bortolussi, N., Berton, A. and Bustreo, G. (2006) Decontaminazione di superfici di strutture e attrezzature utilizzate in aziende alimentari attraverso l'impiego di apparecchi ionizzatore. *Industria Alimentare* 45, 1–9.
- Daniels, S.L. (2001) Applications of Air Ionization for Control of VOCs and PM₁₀. Paper # 918 (session AB-7a: Advances in, and Evaluation of, IAQ Control), Midland.
- Fan, L., Song, J., Hildebrand, P.D. and Forney, C.F. (2002) Interaction of ozone and negative air ions to control microorganisms. *J Appl Microbiol* 93, 144–148.
- Forney, C.F., Fan, L., Hildebrand, P.D. and Song, J. (2001) Do negative air ions reduce decay of fresh fruits and vegetables? *ISHS Acta Horticult* 553 (IV International Conference on Postharvest Science), 421–424.
- Gast, R.K., Mitchell, B.W. and Holt, P.S. (1999) Application of negative air ionization for reducing experimental airborne transmission of Salmonella enteritidis to chicks. *Poult Sci* 78, 57–61.
- Goldstein, N.I., Goldstein, R.N. and Merzlyack, M.N. (1992) Negative air ions as a source of superoxide. *Int J Biometeorol* 36, 118–122.
- Guzel-Seydim, Z.B., Greene, A. and Seydim, A.C. (2004) Use of ozone in the food industry. *Lebensm-Wiss u -Technol* 37, 453–460.
- Holt, P.S., Mitchell, B.W., Seo, K.H. and Gast, R.K. (1999) Use of negative air ionization for reducing airborne levels of Salmonella enterica serovar enteritidis in a room containing infected caged layers. *J Appl Poult Res* 8, 440–446.
- Jay, J.M., Loessner, M.J. and Golden, D.A. (2005) *Modern Food Microbiology*, 7th edn. New York, USA: Springer Science & Business Media, Inc.
- de Jong, A.E.I., Verhoeff-Bakkenes, L., Nauta, M.J. and de Jonge, R. (2008) Cross-contamination in the kitchen: effect of hygiene measures. *J Appl Microbiol* 105, 615–624.
- Kampmann, Y., De Clerck, E., Kohn, S., Patchala, D.K., Langerock, R. and Kreyenschmidt, J. (2008) Study on the antimicrobial effect of silver-containing inner liners in refrigerators. *J Appl Microbiol* 104, 1808–1814.
- Kreyenschmidt, J. (2003) Modellierung des Frischeverlustes von Fleisch sowie des Entfärbeprozesses von Temperatur-Zeit-Integratoren zur Festlegung von Anforderungsprofilen für die produktbegleitende Temperaturüberwachung, Bonn, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Diss. Dr.-Ing.
- Krueger, A.P. and Reed, E.J. (1976) Biological impact of small air ions. *Science* 193, 1209–1213.
- Lajcikova, A., Mathauserova, Z. and Bencko, V. (1999) Electro-ionic microclimate and materials used in the indoor environment. *Cent Eur J Public Health* 7, 15–18.
- Lettmann, T. (2007) Distributions-, Transport- und Lagerungsmodell (DTL-Modell) zur Prognose des Frischeverlustes kühlbedürftiger Lebensmittel. Herzogenrath, Germany, Shaker Verlag.
- Marin, V., Moretti, G. and Rasso, M. (1989) Effects of ionization of the air on some bacterial strains [Effetti della ionizzazione dell'aria su alcuni ceppi batterici]. *Ann Ig* 1, 1491–1500.
- Mitchell, B.W., Buhr, R.J., Berrang, M.E., Bailey, J.S. and Cox, N.A. (1998) Reduction of airborne bacteria in the hatching cabinet with an electrostatic space charger. *Poult Sci* 77(Suppl. 1), 151.
- Mitchell, B.W., Holt, P.S. and Seo, K.H. (2000) Reducing dust in a caged layer room: an electrostatic space charge system. *J Appl Poult Res* 9, 292–296.

- NIOSH (1993) International Chemical Safety Cards (WHO / IPCS / ILO): Ozone. <http://www.cdc.gov/niosh/ipcsneng/neng0068.html>.
- Palou, L., Crisosto, C.H., Smilanick, J.L., Adaskaveg, J.E. and Zoffoli, J.P. (2001) Evaluation of the effect of ozone exposure on decay development and fruit physiology behaviour. *ISHS Acta Horticult* 553 (IV International Conference on Postharvest Science), 429–430.
- Seo, K.H., Mitchell, B.W., Holt, P.S. and Gast, R.K. (2001) Bactericidal effects of negative air ions on airborne and surface *Salmonella enteritidis* from an artificially generated aerosol. *J Food Prot* 64, 113–116.
- Song, J., Fan, L., Hildebrand, P.D. and Forney, C.F. (2000) Biological effects of corona discharge on onions in a commercial storage facility. *HortTechnology* 10, 608–610.
- Wu, C.C., Lee, G.W.M., Yang, S., Yu, K.P. and Lou, C.L. (2006a) Influence of humidity and the distance from the source on negative air ion concentration in indoor air. *Sci Total Environ* 370, 245–253.
- Wu, C.C., Lee, G.W.M., Cheng Yang, P.S. and Yu, K.P. (2006b) Effect of wall surface materials on deposition of particles with the aid of negative air ions. *Aerosol Sci* 37, 616–630.
- Yao, M., Mainelis, G. and An, H.R. (2005) Inactivation of microorganisms using electrostatic fields. *Environ Sci Tech-nol* 39, 3338–3344.