

דו"ח סופי לתכנית מחקר מספר 12-0312-430

בחינת יעילות תכשירים לחיטוי חדרי קירור ותוצרת חקלאית בערפול במערכת מודל חדשנית

מוגש לקרן המדען הראשי במשרד החקלאות ע"י

אמנון ליכטר המחלקה לחקר תוצרת חקלאית

אבינועם דעוס המחלקה לחקר תוצרת חקלאית

רפי רגב המחלקה להנדסה סביבתית

*מינהל המחקר החקלאי, בית דגן, ת.ד. 6, 50250

Amnon Lichter Dep of Postharvest Science: vtlicht@agri.gov.il

Avinoam Daus Dep. of Postharvest Science: adaus@agri.gov.il

Rafi Regev Dep. of Environmental Engineering: rafi@volcani.agri.gov.il

*All affiliations – ARO, The Volcani Center, Bet Dagan, POB 6, 50250.

הממצאים בדו"ח זה הנם תוצאות ניסויים ואינם מהווים המלצות לחקלאים

חתימת החוקר _____

ברצוני להודות ל:

בתיא חורב - שביצעה את כל העבודה המיקרוביולוגית על החיידקים

שחר איש-שלום – על הכנת התרביות של בוטרטיס

עמי שפט – עבור מכשיר האוזון

צביקה – S. Microdrop עבור מכשיר הערפול האולטרסוני

תקציר

חיטוי חדרי קירור והתוצרת החקלאית שבתוכם הוא מהלך המתבקש לנוכח הצורך להפחית את השימוש בחומרי הדברה המגנים על הפרי לאחר הקטיף. מטרת תוכנית מחקר זו היא לבחון את ההשפעה של טכנולוגיות חיטוי שונות שיתנו מענה לצרכים אלו. יישום תכשירים על ידי ערפול אולטראסוני היא אחת השיטות הרלבנטיות מאחר ובשיטה זו אפשר ליישם בחלל חדר הקירור חומרי חיטוי שיפחיתו את נוכחותם של פתוגנים שמקורם בחדר הקירור או שמובאים לחדר הקירור על ידי התוצרת החקלאית, האריזות או האוויר. בניסויים שנערכו הוגדרו התנאים ליישום יעיל של תכשיר אמוניום רביעוני (ספורקיל) על פטריות מבחן שונות וחיידקים. בבחינה כמותית של יעילות התכשיר כנגד פטריות נמצא כי מינון של 250 ח"מ למשך 60 דק' יעיל בקטילה של כל סוגי הפטריות. עבור חיידקים נמצא כי הריכוז הנדרש לקטילה בערפול היה 100 ח"מ של התכשיר (ספורקיל) למשך שעה. טכנולוגיה חלופית לערפול אולטראסוני היא דיזה דופלואידית המאפשרת קבלת הספק ערפול גבוה בעלות יחסית נמוכה. תוצאות של ניסויים בטכנולוגיה זו הראו שאחידות הפיזור של מים במיכל הערפול הייתה פחותה ויעילות הקטילה של נבגי פטרייה הייתה תלויה במיקום ולא מתאפשרת הפחתה משמעותית של ריכוז החומר או משך זמן היישום. כיוון מחקרי נוסף היה יישום של גז אוזון בשילוב עם מי חמצן בערפול. בתצפיות על עגבניות או פלפל לא נראה נזק לפרי ביישום של אוזון ממכשיר נייד (הספק של 7000 ח"מ לשעה) למשך שעה. לעומת זאת, בגז מוברש מאחסון היה נזק ברור לאחר יישום למשך שעה. באחד מ-3 ניסויים על ענבים הייתה הפחתה מובהקת של הריקבונות לאחר אחסון ביישום של אוזון או מי חמצן או שניהם. במהלך המחקר נבחנו מספר טכנולוגיות נוספות ברמה הקדמית שלא הצדיקה המשך בחינה של יעילות המכשירים או התכשירים. ברמה היישומית, בעקבות המחקר נעשה שימוש מסחרי בטכנולוגיית החיטוי של חדרי קירור. תוצרי המחקר מצביעים גם לאיזה טכנולוגיות יש פוטנציאל יישומי.

מבוא ותיאור הבעיה

בבסיס המחקר מצוי העיקרון של 'שרשרת סניטציה' האומר כי בתנאים בהם נדרשת הפחתה ברמת חומרי הדברה, יש להקפיד על הפחתה מקבילה ברמת הגורמים שיכולים לאלח את הפרי במהלך האחסון. אחת החוליות בשרשרת היא הסניטציה של חדר הקירור לפי הכנסת התוצרת וניקיון של האוויר מגורמי מחלות בזמן האחסון. הסניטציה במהלך האחסון כוללת את התוצרת החקלאית, האריזות, האוויר, הקירות ויחידות הקירור של החדרים שאליהם נספחים חלקיקי אבק ומ"א. הצירוף של מ"א, לחות וחומר אורגני שנספח לקירות יכול להוות מקור להתפתחות ביופילמים של מ"א שיכולים לזהם את התוצרת, לכן ניקוי יעיל של קירות חדרי הקירור הוא תנאי בסיסי להפחתת אוכלוסית המ"א. תהליך החיטוי הוא תהליך משלים לניקוי והוא נדרש למנוע אילוח מחודש של תוצרת חקלאית. יחד עם זאת, הניקוי והחיטוי לא יכולים להתמודד עם פתוגנים הנמצאים על התוצרת כי לאחר הטיפול המסחרי הסטנדרטי אותו הם מקבלים בביא"ר התוצרת צריכה להתמודד עם אילוח הנמצא על חומרי האריזה והאוויר. כמו כן ישנם סוגים שונים של תוצרת חקלאית שאינם מתאימים לשטיפה בהרשה (אשכולות) או שהם רגישים לחדירת מי השטיפה לרקמה.

ברמה הטכנולוגית, חיטוי יכול להתבצע על ידי חומרים בפאזה גזית או על ידי הסעת חומרי חיטוי על ידי טיפות מיקרוניות. לקבלת טיפות מיקרוניות יש להשקיע אנרגיה ויש שיקולים שונים של

הספקים ועלות שיכולים לקבוע מה השיטה האופטימלית. הניסיון הרב ביותר נצבר עד כה עם ערפול אולטראסוני המאפשר קבלת טיפות מיקרוניות בהספק נמוך יחסית אבל ביעילות כיסוי ופיזור גבוהה. שבירת הטיפה על ידי לחץ אוויר ככל שהטיפה קטנה יותר הסעתה אל היעד יכולה להתבצע על ידי דיזה דופלואידית בהספק גבוה אך בקוטר טיפה גדול יותר וכושר פיזור מופחת. שיטה אחרת שנוסתה במחקר זה הייתה באמצעות ריסוק צנטריפוגלי בו מנוע חשמלי הפועל במהירות של כ-2500 סל"ד שובר וזורק את הטיפה לחלל.

חומר החיטוי העיקרי בו נעשה שימוש במחקר זה הוא אמוניום רביעוני. יש מאות סוגים של אמוניום רביעוני והם נחשבים לא קורוסיביים ובעלי רעילות נמוכה אך במגע עם רקמות ריריות יכולה להיות צריבה. לאמוניום רביעוני יש רישוי לחיטוי משטחים במפעלי מזון ולפורמולציה של האמוניום הרביעוני Didecyldimethyl ammonium chloride (ספורקיל) יש רישוי בישראל לטיפול במספר פירות אך באירופה לא הושלם עדיין רישום של התכשיר לטיפול בתוצרת חקלאית. הפורמולציה המסחרית ספורקיל הוכחה בעבר כיעילה לקטילת פטריות שונות אבל מתוצאות המחקר עולה כי יש פער משמעותי בין כושר הקטילה בתמיסה לכושר הקטילה בערפול.

אוזון נחשב אחד מחומרי החיטוי הבטוחים לשימוש מאחר והוא אינו משאיר שאריות על התוצרת. יחד עם זאת, אורך החיים של מולקולת האוזון באוויר הוא קצר, נדרשות מערכות יקרות לייצורו ורמת החשיפה הדרושה לקטילה של נבגי פטריות היא גבוהה מאד, בסדר גודל של 700 ח"מ לליטר לשעה (Palou et al., 2006).

מטרות תכנית המחקר היו לבחון טכנולוגיות שונות לחיטוי חדרי קירור והתוצרת שבתוכם.

שיטות וחומרים

נבגים של הפטריות נקצרו מצלחות PDA עם מים סטריליים המכילים Tween 20 (0.01%) וריכוזם נקבע על ידי המציטומטר. תמיסת ספורקיל בריכוז של 1% הוכנה מתמיסה מסחרית בריכוז חומר פעיל של 120 גר' לליטר. הערכת יעילות הטיפול בספורקיל על הישרדות נבגים של פטריות אחרות התבצעה על ידי הכנת תרחיף נבגים בריכוז של 5×10^7 למ"ל ופיזור טיפה של 50 מיקרוליטר על פני עיגול מתכת מגולוונת בקוטר 4 ס"מ. לוח המתכת הוצמד לקיר של מיכל בנפח 212 ליטר שחובר למתנד אולטראסוני באמצעות צינור בקוטר 3". המתנד האולטראסוני (S.) Microdrop היה בתפוקה של 0.75 ליטר לשעה. הערפל מילא את המיכל תוך כ-2-3 דקות למשך 30 דק' בחדר מבוקר בטמפרטורה של 5 או 20 מ"צ. הריכוז של ספורקיל בערפל נמדד על ידי עיבוי הערפל במשורה עם קרח ומדידה של ריכוז הספורקיל באמצעות קיט שסופק על ידי המשווק (מ.מ. ברודי סחר). לאחר הטיפול נדגמו 4 משטחי מתכת לטיפול על ידי צלחות מגע לשמרים ועובשים או חיידקים (מעבדות חי, רחובות) שהודגרו ב-25 מ"צ למשך 4 ימים. הצלחות צולמו בתנאים אחידים. והתפתחות הפטריות נמדדה באופן חצי כמותי על פי המדד הבא: 0 – קטילה מוחלטת, 1 – גידול חלקי על פני פחות ממחצית הצלחת, 2 – גידול חלקי על פני יותר ממחצית הצלחת, 3 – גידול מלא.

בבחינה כמותית של השפעת תכשירים על התפתחות חיידקים בוצעה אפליקציה של החיידקים על לוחית מתכת שהוצמדה לדופן תא הערפול. לאחר יישום הערפול, הלוחית הועברה למבחנת 50 מ"ל שהכילה 5 מ"ל מצע LB, המבחנה טולטלה בוורטקס ודגימה של 0.2 מ"ל הועברה לפלטה של

96 באריות למעקב של 16 עד 20 ש' על ידי קריאת OD באורך גל של 600 נ"מ אחת לשעה. שיטות נוספות מפורטות בגוף המחקר.

תוצאות

1. קטילת פטריות על ידי יישום אולטראסוני של אמוניום רביעוני

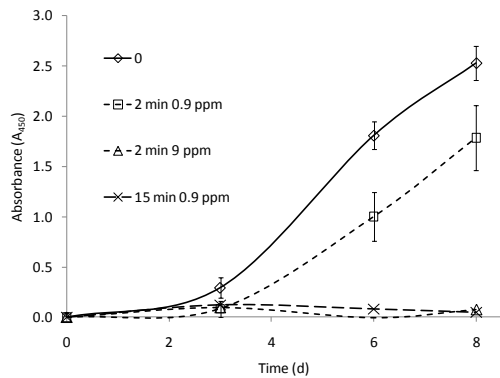
בניסויים שנערכו לפני תחילת התוכנית נבדקה ההשפעה של תכשיר האמוניום הרביעוני 'ספורקיל' ביישום אולטראסוני על התפתחות נבגים של *B. cinerea*. התוצאות הראו שקטילה משמעותית התקבלה בריכוזים של 250 ח"מ ומעלה כאשר בחלק מהניסויים 250 ח"מ מאפשרים קטילה מליאה ובאחרים היה נדרש ריכוז כפול. השאלה שעלתה הייתה מה ההשפעה של שיטת היישום ומה ההשפעה של התכשיר. לשם כך, התבצעה סדרת ניסויים שבהם נבגים של בוטריטיס נחשפו לרמות שונות של התכשיר במבחנות ולאחר מכן התכשיר נמהל במצע גידול והתבצע מעקב אחר הגידול במגשי תרבית של 48 באריות תוך כדי מעקב על התפתחות התפטיר באמצעות קורא פלטות. תוצאות ניסויים אלו מסוכמות באיור 1.1, בהם אפשר להתרשם שהריכוזים הדרושים לקטילת הנבגים הם נמוכים מאד ושזמני החשיפה האפקטיביים בריכוזים אלו נמדדים בדקות בודדות. לדוגמא, ריכוז של 9 ח"מ גרם לעיכוב מוחלט של ההתפתחות לאחר 2 דקות חשיפה או ריכוז של 0.9 ח"מ שגרם לקטילת הנבגים לאחר 15 דקות חשיפה. תוצאות אלו מוכיחות כי יעילות התכשיר אינה הגורם המגביל ביישום האולטראסוני.

ההשפעה של ריכוז הנבגים על יעילות הטיפול נמדדה בניסויים נוספים בהם נעשה שימוש בריכוז נבגים בתחום של 10^4 עד 5×10^5 לבארית (איור 1.2). התוצאות מראות כי לאחר דקה של חשיפה לספורקיל בריכוז של 0.9 ח"מ היה עיכוב חלקי בהתפתחות נבגים בריכוזי הנבגים הנמוכים בלבד לעומת זאת, לאחר 10 דקות חשיפה, לא הייתה השפעה לריכוז הנבגים והיה עיכוב משמעותי מאד בהתפתחותם. המסקנה מניסוי זה היא שנוכחות ריכוז גבוה של נבגים אינו מפחית את יעילות החומר.

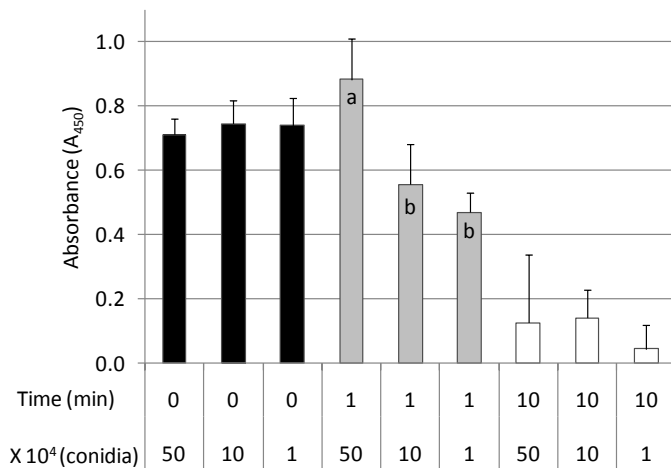
המטרה הבאה הייתה לבחון האם טווח הקטילה של התכשיר ביישום אולטראסוני הוא דומה בין מינים שונים של פטריות. הניסויים נערכו על ידי יישום של נבגים על משטחי מתכת בשני ריכוזים וחשיפה של המשטחים לערפול אולטראסוני למשך 30 דקות. לאחר הטיפול המשטחים נדגמו באמצעות צלחות מגע והגידול של הפטריות על הצלחת נאמד על פי 4 דרגות (0 – קטילה מוחלטת, 1 – גידול חלקי על פני פחות ממחצית הצלחת, 2 – גידול חלקי על פני יותר ממחצית הצלחת, 3 – גידול מלא). בניסוי שנערך על הפטרייה *Colletotrichum gleosporides* נמצא כי כמו בבוטריטיס, ריכוז של 100 ח"מ ספורקיל לא היה יעיל בקטילת הנבגים בעוד שבריכוז של 250 ח"מ היעילות הייתה תלויה בתנאי הניסוי (תוצאות לא מובאות). המסקנה מכך היא שהתגובה של נבגי בוטריטיס לטיפול אינה ייחודית. תוצאות אלו אושרו בהמשך גם עבור *Penicillium expansum* ו-*Alternaria alternata* (איור 1.3).

אחת המטרות המרכזיות הייתה לבחון האם יש הבדל ביעילות הקטילה של נבגים בטמפרטורה נמוכה או גבוהה. לשאלה זו יש משמעות יישומית רבה מאחר והיא קובעת האם אפשר ליישם את הטיפול בחדרי קירור פעילים ומעבר לכך האם כדאי ליישם את הטיפול על תוצרת חקלאית במהלך האחסון בקירור. נערכו 10 ניסויים על 4 פתוגנים שכיחים של תוצרת חקלאית לאחר הקטיף שמתוכם מוצגים ניסויים מייצגים לכל פתוגן (איור 1.3). כל הניסויים נערכו בריכוז

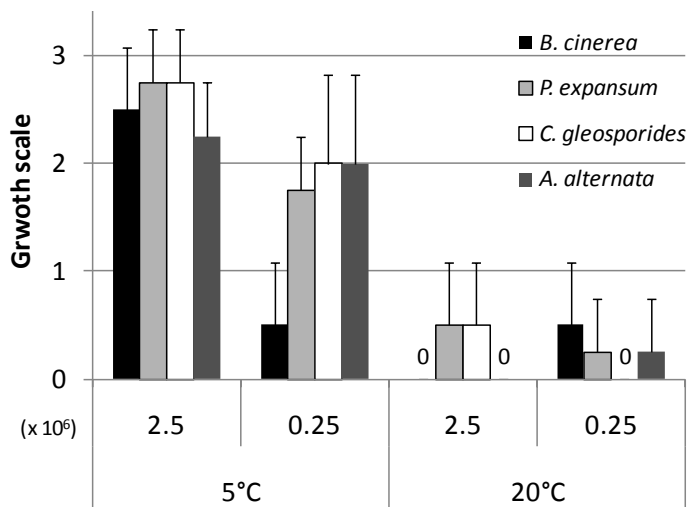
ספורקיל של 250 ח"מ למשך 30 דקות חשיפה בשני ריכוזי נבגים. התוצאות מראות באופן חד משמעי כי ב-5 מ"צ יעילות הקטילה של הנבגים הייתה נמוכה מאד בעוד שב-20 מ"צ יעילות הקטילה הייתה גבוהה מאד. בטמפרטורה הגבוהה לא הייתה השפעה למספר הנבגים על המשטחים אבל בטמפרטורה הנמוכה הייתה מגמה של יעילות קטילה גבוהה יותר במספר הנבגים הנמוך יותר.



איור 1.1: השוואה של התפתחות בוטריטיס לאחר חשיפה למשך 2 דקות או 15 דקות לריכוז של 0.9 או 9 ח"מ של ספורקיל (חומר פעיל). נבגים של 10^4 נחשפו לספורקיל במבחנות והתפתחות התפטיר נמדדה בפלטה של 48 באריות עם מצע גידול על ידי מדידת הבליעה באורך גל של 450 נ"מ במשך 8 ימים. ערכי סטיות התקן (Std) ניתנים כקווים אנכיים.



איור 1.2: התפתחות בוטריטיס לאחר חשיפה לספורקיל בריכוז 0.5 ח"מ למשך 1 או 10 דקות בהשוואה לביקורת. הניסוי התבצע ב-3 ריכוזי נבגים. קווי השגיאה הם שגיאות תקן של 4 חזרות.

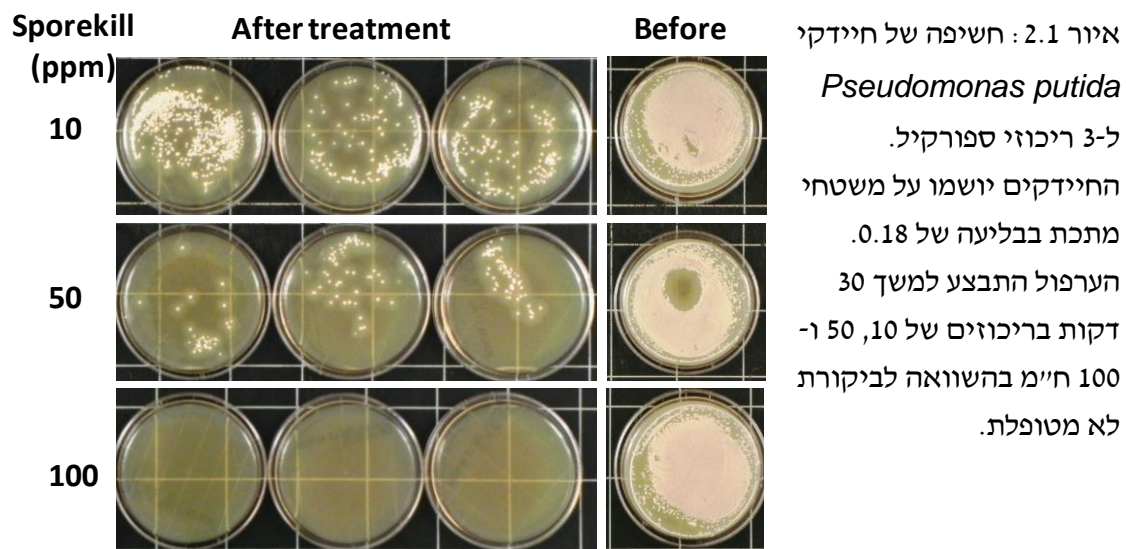


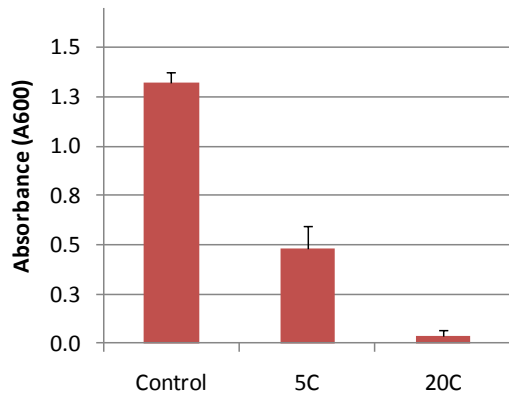
איור 1.3: ההשפעה של הטמפרטורה על יעילות הקטילה של ספורקיל ביישום אולטראסוני. נבגים של 4 פטריות בשני ריכוזים פוזרו על משטחי מתכת. ספורקיל יושם בריכוז של 250 ח"מ למשך 30 דקות ובשתי טמפרטורות. הניסויים בוצעו ב-4 חזרות.

2. קטילת חיידקים ביישום אולטרסוני של אמוניום רביעוני

במהלך המחקר נערכו למעלה מ-20 ניסויים בשיטות שונות לבדיקת כושר הקטילה של חיידקים על משטחים באמצעות חומרי חיטוי. השיטות שנוסו היו:

1. אפליקציה של חיידקים על לוחיות מתכת עגולות ולאחר יישום התכשיר בערפול, שימוש בצלחות מגע לבחינה חצי כמותית של החיידקים שנקטלו.
 2. יישום של החיידקים על גבי צלחות LB, חשיפה של הצלחות לטיפול וספירת מושבות של חיידקים ששרדו את הטיפול או על ידי שטיפה של החיידקים מהאגר וזריעה על צלחות לספירה חיה.
 3. יישום של חיידקים על גבי לוחיות מתכת מוארכות, חשיפה של הלוחיות לטיפול, הכנסה של הלוחיות למבחנות 50 מ"ל שהכילו 5 מ"ל LB וזריעה של הנוזל על צלחות לקבלת ספירה חיה.
 4. יישום כמו ב-3 ומדידה של הישרדות החיידקים בפלטות של 96 באריות.
- בניסוי על החיידק *Pseudomonas putida* נבדק כושר ההישרדות שלו על משטחי מתכת. הניסוי נערך על ידי הנחת כמות ידועה של החיידק על המשטח, ייבוש של המשטח במנדף ואיסוף של החיידק מהמשטח לאחר שעה. התוצאות מראות כי כאשר ערך הבליעה ההתחלתי של החיידק היא 0.17 בערך מחושב של (1.1×10^{11} cfu/ml) אחוז ההישרדות לאחר שעה היה 1.2%. כאשר כמות זהה של חיידקים הונחה על משטחי הטיפול במערכת האולטרסונית נמצא כי ריכוז של 250 או 500 ח"מ הביא לקטילה מוחלטת של החיידק בעוד שבריכוז של 50 ח"מ הייתה לטיפול השפעה חלקית. תוצאות אלו מראות כי העמידות של החיידק לטיפול נמוכה בהרבה בהשוואה לנבגים של פטריות. נערכה בחינה של יעילות הטיפול בספורקיל ברמות של 10, 50 ו-100 ח"מ כאשר ריכוז החיידקים ההתחלתי היה $A_{600}=0.18$. התוצאות הראו קטילה מליאה ב-100 ח"מ, קטילה ברמה של 1 ב-50 ח"מ וברמה של 2 ב-10 ח"מ (איור 2.1). תוצאות אלו אושרו בניסוי נוסף. על מנת לבחון את הרגישות של הטיפול לטמפרטורה נבחרה הרמה הגבולית של 50 ח"מ ספורקיל לטיפול ב-20 מ"צ ו-5 מ"צ. לאחר הרחפה של החיידקים שהתפתחו על הצלחות ומדידה של הבליעה, התוצאות הראו הפחתה של ריכוז החיידקים על ידי ספורקיל ב-5 מ"צ לרמה של 37% מהביקורת ובטיפול ב-20 מ"צ לרמה של 2.7% מהביקורת. תוצאות אלו מלמדות כי כמו בפטריות, היישום של ספורקיל בטמפרטורה נמוכה מפחית מאד את יעילות הטיפול.





איור 2.3 : חשיפה של חיידקי

-ל *Pseudomonas putida*

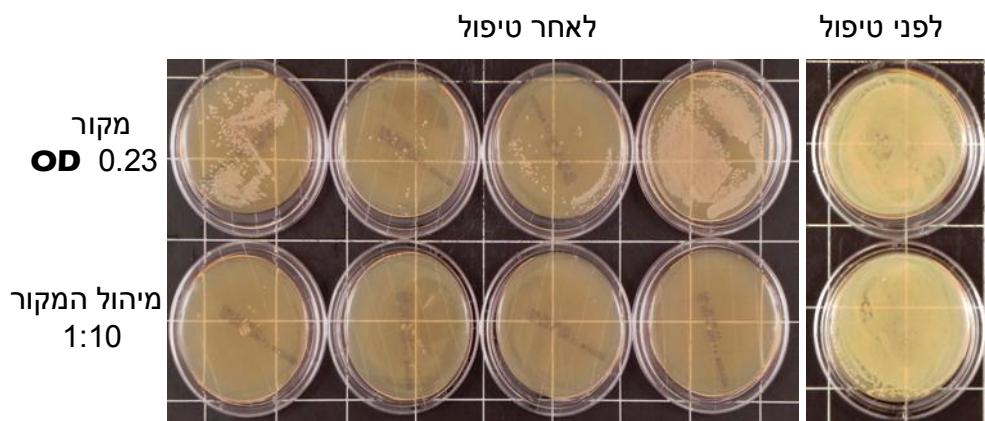
לספורקיל. בשתי טמפרטורות. החיידקים

יושמו על משטחי מתכת בבליעה של 0.017.

הערפול התבצע למשך 30 דקות בריכוז 50

ח"מ בהשוואה לביקורת לא מטופלת.

השפעת הטיפול בספורקיל נמדדה על הישרדות החיידק *Pectobacterium carotovorum* באמצעות שיטת צלחות המגע. בניסוי אחד נבדקה השפעת טיפול ב-25 או 50 ח"מ ספורקיל כאשר על פלטות המתכת פוזרו חיידקים בריכוז של 0.22 ו-0.022 OD. התוצאות הראו כי ריכוז של 25 ח"מ הפחית את ריכוז החיידקים ביחס לביקורת ונראה שבריכוז של 50 ח"מ הייתה קטילה מליאה של החיידקים (תוצאות לא מוצגות). יחד עם זאת, נראתה הפחתה לא מוסברת בריכוז חיידקי הביקורת של הטיפול ב-50 ח"מ ספורקיל (שפוזרו על פלטות המתכת, אך לא נחשפו לטיפול). בניסוי המשך בתנאים דומים עם 50 ח"מ נראתה הפחתה משמעותית של ריכוז החיידקים לאחר הטיפול. בניסוי נוסף רמה של 100 ח"מ ביישום למשך 30 דקות הפחיתה אך לא גרמה לקטילה



מוחלטת של החיידקים שפוזרו על לוחות המתכת (איור 2.3).

איור 2.3. הישרדות של חיידקי *P. carotovorum* על משטחים לאחר ערפול ב-100 ח"מ ספורקיל למשך 30 דקות. המשטחים נדגמו באמצעות צלחות מגע לאחר גמר הטיפול וצולמו למחרת הטיפול (ניסוי 30).

ניסויים שנערכו בניסיון לקבוע את כמות החיידקים ששרדו את הטיפול לא עלו יפה: לדוגמא, בחשיפה של חיידקי *P. carotovorum* ל-50 ח"מ על גבי צלחות LB שנתלו במיכל הערפול נמצאה אוכלוסיה של 2.8×10^{10} בביקורת לעומת 2×10^{10} חיידקים לאחר 30 דקות טיפול וגם רמות של 100 ח"מ לא נתנו תוצאות סבירות.

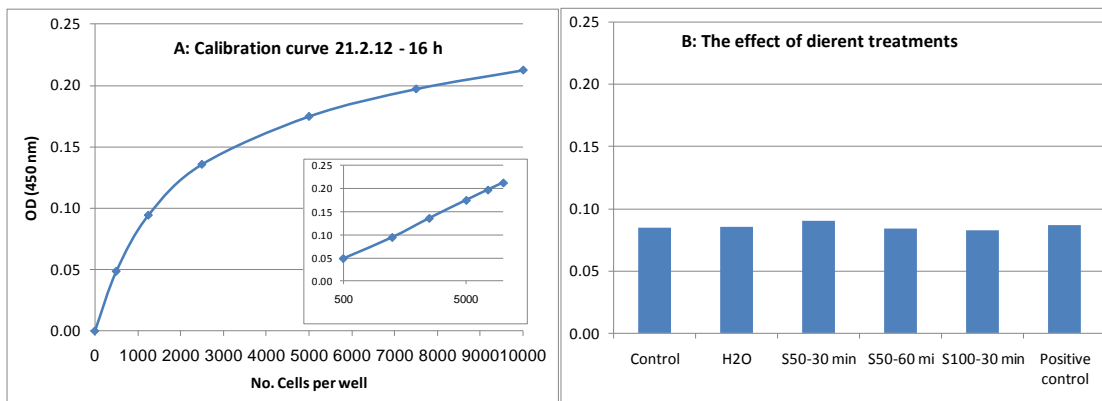
השיטה של פיזור החיידק על לוחות מתכת, חשיפתן לערפול, שטיפת החיידקים השורדים וזריעתם בפלטות של 96 באריות ומעקב אחר החיידקים למשך 20 שעות, אומצה כשיטה היעילה

ביותר אך במהלך הניסויים היו בעיות שונות. לדוגמה בניסוי שנערך ב-21.2.12 בוצעו הטיפולים הבאים :

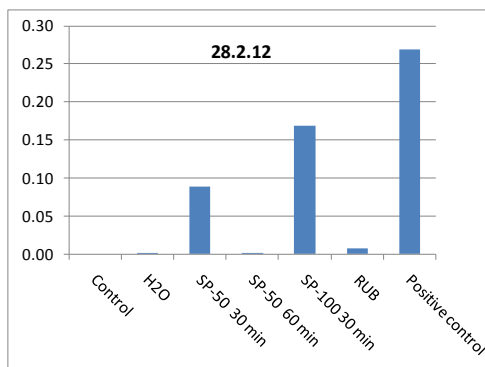
1. ביקורת מצע גידול ללא חיידקים
2. ערפול של מים
3. ספורקיל 50 ח"מ למשך 30 דקות
4. ספורקיל 50 ח"מ למשך 60 דקות
5. ספורקיל 100 ח"מ למשך 30 דקות.

במקביל הועמדה עקומת כיול שהכילה 5 רמות של חיידקים לבארית גידול בתחום של 500 עד 10,000 חיידקים לבארית.

התוצאות לאחר 16 שעות של גידול הראו עקום גידול לוגריטמי אופייני (איור 2.4). ביישום של החיידקים על גבי לוחיות נמצא שלא הייתה התפתחות של החיידקים כולל ביקורת חיובית (חיידקים שהונחו על גבי הלוחית אך לא נחשפו לשום טיפול). בבדיקה שנערכה לאחר מכן הסתבר שהלוחיות נוקו לפני הניסוי בעזרת נייר לטש לפני שעברו שטיפה וחיטוי ב-70% אתנול ויתכן שלפעולה זו היה אפקט אנטי בקטריאלי ברמה של האינטראקציה עם המתכת. בניסוי נוסף (איור 2.5) הביקורת החיובית הייתה תקינה והחיידקים לא שרדו על טיפול של ליטוש הלוחיות. כמו כן הייתה הפחתה תלוית-מינון בהשרדות החיידקים בעקבות טיפול ערפול בספורקיל אבל החיידקים לא שרדו את ביקורת ערפול המים ולכן לא ניתן להסיק מניסוי זה כל מסקנה.

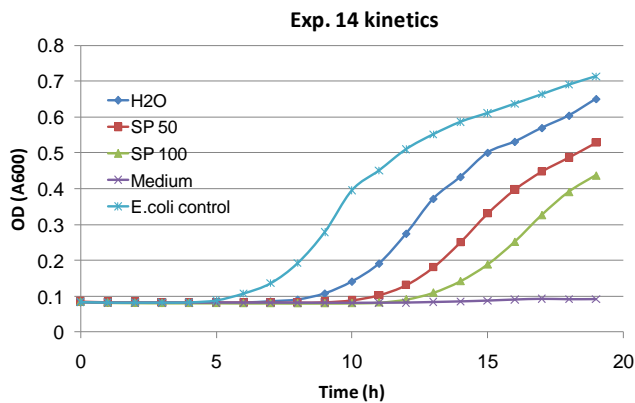


איור 2.4 : עקום כיוול (משמאל) והשפעת טיפולי ערפול שונים על השרדות *E. coli* על גבי לוחיות מתכת. S – ספורקיל. ביקורת – מצע גידול ללא חיידקים. H₂O – ערפול במים למשך 30 דקות. S50 ריכוז ספורקיל של 50 ח"מ וכו'. הביקורת החיובית היא חיידקים שעברו ששטפו מלוחית שלא עברה ערפול.

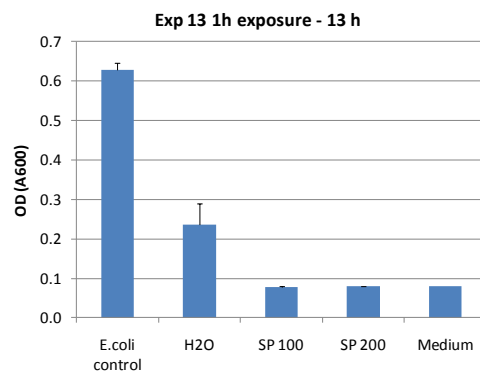
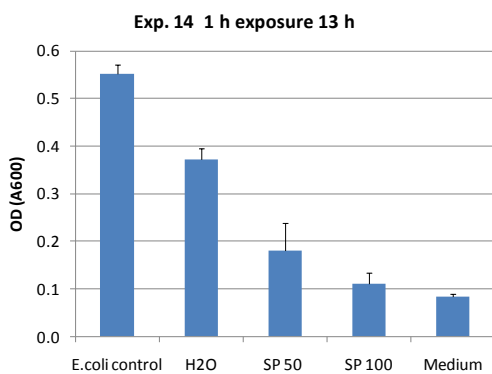


איור 2.5 : השפעת טיפולים שונים על השרדות חיידקים. המדידות -לאחר 13 שעות של אינקובציה בפלטת גידול. SP – ספורקיל. ביקורת – מצע גידול ללא חיידקים. H₂O – ערפול במים למשך 30 דקות. SP50 ריכוז ספורקיל של 50 ח"מ וכו'. הביקורת החיובית היא חיידקים שעברו ששטפו מלוחית שלא עברה ערפול.

אחת המסקנות שהתקבלו על סמך הניסיון המצטבר הייתה שמיני החיידקים השונים איתם עבדנו רגישים ליובש ולכן הם אינם שורדים על גבי הלוחיות כאשר מייבשים אותם לפני הערפול. על כן, הניסויים בהמשך נערכו מייד לאחר יישום החיידקים על הלוחיות. בניסוי המוצג באיור 2.6 אפשר לראות את הקינטיקה של התפתחות החיידקים לאחר הטיפול. הביקורת החיובית היא של חיידקים שהונחו על הלוחיות אך לא עברו ערפול ובהם הגידול הוא המהיר ביותר. הערפול במים הפחית את כמות החיידקים ובהשוואה אליו, הטיפול בספורקיל 50 או 100 עיכב את הגידול בתלות בריכוז החומר (איור 2.6). מגרף הקינטיקה אפשר ללמוד שבריכוז של 100 ח"מ ספורקיל הייתה התפתחות מאוחרת של חיידקים. בניסוי נוסף נמצא כי בריכוזים של 100 ו-200 ח"מ לא הייתה התפתחות של חיידקים גם לאחר זמן אינקובציה ממושך (איור 2.7) ותוצאות דומות התקבלו גם עבור ריכוזים של 200 ו-400 ח"מ בניסוי אחר (לא מוצג). מתוצאות אלו אפשר להסיק כי ריכוז של 100 ח"מ הוא גבולי ולכן הריכוז המינימלי הדרוש לקטילת חיידקי *E.coli* כתאים 'חופשיים' הוא 200 ח"מ.



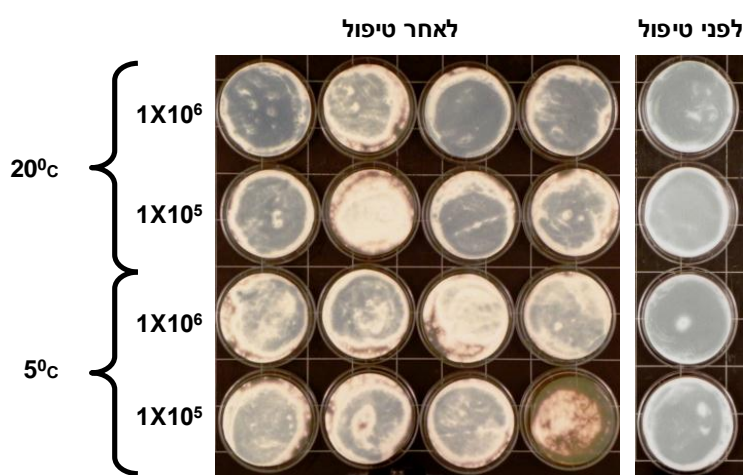
איור 2.6 : הקינטיקה של התפתחות חיידקים לאחר טיפולי ערפול למשך 60 דקות.



איור 2.7 : השפעת ריכוזי ספורקיל על קטילה של חיידקי *E.coli* לאחר 13 שעות של גידול. באיורים מוצגות תוצאות של שני ניסויים שונים.

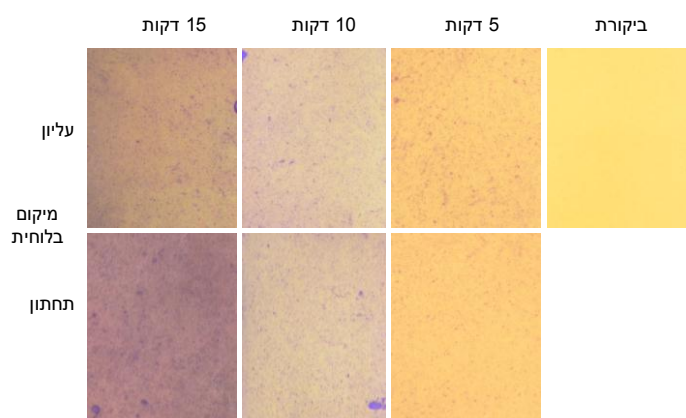
3. בחינת יעילות דיזה דופלואידית על קטילת נבגים של *P. expansum*

דיזה דופלואידית פועלת על עיקרון של שאיבה ונטורית של נוזל באמצעות לחץ אויר וריסוק טיפות לקוטר של כ-20-10 מיקרון. הדיזה הדופלואידית יושמה דרך פתח בחלקו העליון של מיכל 200 ליטר וכוונה להספק מינימאלי שעמד על 1.5 ליטר לשעה. הדיזה הופעלה למשך 10 דקות בלבד (250 מ"ל) מאחר ומשך זמן ארוך יותר גרם לזליגה של טיפות על גבי פלטות המתכת שעליהם התבצע האילוח של הנבגים. מהתוצאות באיור 3.1 אפשר להתרשם שבתנאי הניסוי הללו לא הייתה השפעה של היישום על התפתחות נבגים. יישום בריכוזים גבוהים יותר של 250 ח"מ לא שיפר את התוצאות (תוצאות לא מוצגות). נמצא גם כי בחלק העליון של משטחי המתכת הייתה השפעה יחסית של התכשיר לעומת החלק התחתון של משטחי המתכת שבו לא הייתה השפעה ליישום התכשיר בהתאמה לפיזור של יותר תרסיס על אינדיקטור (איור 3.2). ככלל ניתן להגיד שישום של דיזה דופלואידית בתנאים הנתונים לא אפשר לקצר את משך היישום המקובל באמצעות ערפול אולטראסוני או להפחית את הריכוזים הנדרשים לקטילה והייתה בעיה של פיזור הומוגני של התרסיס במיכל.



תמונה 3.1: השפעת יישום של ספורקיל 100 ח"מ באמצעות דיזה דופלואידית על קטילת נבגים של *P. expansum*. הדיזה הדופלואידית סיפקה 250 מ"ל של תכשיר במשך 10 דקות. הנבגים יושמו על פלטות מתכת בכמות של 10^5 ו- 10^6 נבגים והפלטות נדגמו באמצעות צלחות מגע. הניסוי התבצע בשתי טמפרטורות (5 ו-20 מ"צ).

בחינת זמנים שונים לכיסוי נוזל בדיזה דופלואידית (כ-25 סמ"ק לדקה).



תמונה 3.2: דגם פיזור תרסיס על ידי דיזה דופלואידית. האינדיקטור הונח בחלק העליון או התחתון של לוחית מתכת בהפרש גבהים של כ-20 ס"מ. דגימות מהאינדיקטור הוצאו כל 5 דקות לבדיקה.

4. קטילת חיידקים באמצעות תכשיר Nocolyse Food (NF) במערכת Nocospray (NS)

מכשיר ה-NS מצויד במנוע חשמלי השובר את טיפות התכשיר NF לגודל כ-5 מיקרון ולטענת היצרן מסוגל לפזר את התכשיר בחדרי קירור של 25 מטר מעוקב, דוגמת חדר הקירור בו נערכו הניסויים. בשלב ראשון נערכו ניסויים על תכשיר NF בפורמולציה של 6% מי חמצן. לוחיות מאולחות בנבגים של בוטריטיס (10^6 -ו- 10^7 נבגים) הוצבו בשתי מקומות בחדר ויושמה כמות של 150 מ"ל מהתכשיר שהיא גבוהה יותר מהכמות המומלצת על ידי היצרן. לאחר שעה של הפעלה והמתנה, הלוחיות נדגמו באמצעות צלחות מגע ולאחר אינקובציה של 4 ימים לא נראה שלטיפול הייתה כל השפעה (תוצאות לא מוצגות). בניסוי נוסף נערכה חשיפה ישירה של הלוחיות המאולחות לטיפול במרחק 1 מ' מהדיזה. התוצאות הצביעו על קטילה מוחלטת של הנבגים (תוצאות לא מוצגות). בניסוי שלישי הופחת ריכוז הנבגים של בוטריטיס (10^5 -ו- 10^6 נבגים) והמערכת הוצבה כך שהלוחיות נמצאות בזווית חדה (שעה 2) ביחס לדיזה במרחק של כ-2 מטר. התוצאות בניסוי זה הראו כי בריכוז נבגים של 10^6 הטיפול לא היה יעיל כלל בעוד שבריכוז נבגים של 10^5 הייתה הפחתה משמעותית מאד בכמות הנבגים שהתפתחו על גבי צלחות המגע (איור 5.1). בניסוי נוסף שנערך על החיידק *Pseudomonas putida* במי חמצן בריכוז של 9% למשך 30 דקות חשיפה נמצאה קטילה מוחלטת של 10^6 חיידקים שהונחו על גבי הלוחיות. יחד עם זאת, לא היו בניסוי זה ביקורות לקבוע מה הייתה תמותת החיידקים בערפול מים ולכן התוצאות שנויות במחלוקת.



המסקנות מניסויים אלו הן שריכוז מי חמצן של 6% יעיל בקטילה של 10^5 נבגים אך לא 10^6 , כלומר צריכה להיות התאמה בין ריכוז הפטרייה לריכוז חומר החיטוי. כתוצאה מניסוי זה הוכנה פורמולצית NF בריכוז גבוה יותר (9%). יחד עם זאת, נראה כי יש בעיה של אחידות בפיזור התכשיר בחדר הקירור.

5. יישום אוזון בשילוב עם מי חמצן בערפול אולטרסוני

אוזון ידוע כטיפול חיטוי שעשוי להיות יעיל מאד אך תלוי בשיטת היישום. מי חמצן הם חומר חיטוי ותיק. מטרת הניסויים הייתה לבחון האם ניתן לשלב בין הטיפולים.

שיטות

אוזונטור – מכשיר נייד של חברת 'הסוף לריח' (contact@stopsmell.co.il) בהספק של 7000 ח"מ לשעה. המכשיר חובר דרך צינור שרשורי של 3" לתא של 200 ליטר (איור 6.1) והופעל למשך 30 עד 120 דקות לפי הפירוט בניסויים.

פירות גזר מוברש (מאחסן), פלפל ועגבנייה שימשו לבחון האם הטיפול באוזון משרה נזק על הפרי. אלא עם כן צוין אחרת, התצפיות נערכו על 10 פירות לטיפול.

מערפל אולטרסוני נייד בהספק של 0.75 ליטר שעה חובר בצינור שרשורי לאותו תא של 200 ליטר. הערפול התבצע עם מי חמצן בריכוז של 1% בתוספת חומצה ציטרית – 0.1%.



איור 5.1: אוזונטור על גבי מערפל אולטרסוני נייד מחוץ לחדר הקירור ותא של 200 ליטר עם ארגזי ענבים.

תוצאות

בשלב ראשון נערכו תצפיות על גזר, פלפל ועגבניות על מנת לבחון האם הטיפול גורם לנזק לפרי. בהמשך מערכו ניסויים על ענבי מאכל.

20.2.13 – 1 תצפית

פלפל ועגבניות נחשפו לאוזון ל-30 או 60 דק' בהשוואה לביקורת ללא חשיפה לאוזון. הפרי נבחן לאחר שבוע או שבועיים ב-20 מ"צ. לא נראו כל סימני נזק על הפרי (תוצאות לא מובאות). אלטרנריה נראתה על 2-3 פירות בכל טיפול ובוטריטיס על 6 פירות בטיפול האוזון ו-2 פירות בביקורת.

26.2.13 – 2 תצפית

פלפל, עגבניות וגזר נחשפו לאוזון ל-30 או 60 דק' בהשוואה לביקורת ללא חשיפה לאוזון. הפרי נבדק ב-17.3.13 לאחר השהיה ב-20 מ"צ. בגזר נראו השחרות על פרי שנחשף ל-30 דקות לאוזון

אבל בפרי שנחשף לשעה רמת ההשחרות הייתה נמוכה ולכן אי אפשר לקשור את התופעה לאוזון (איור 5.2). לא נראו סימני נזק בפרי מטופל באוזון בעגבניה ובפלפל ורמת הריקבונות הייתה דומה בין הטיפולים כך שאי אפשר לייחס לטיפול השפעה חיובית (טבלה 5.1).



איור 5.2 : השחרות בגזר (צילום ב-18.3.13).



איור 5.3 : השפעה של חשיפה של גזר לאוזון למשך שעה או שעתיים יממה לאחר הטיפול (צילום ב-21.3.13).



איור 5.4 : השפעה של חשיפה של גזר לאוזון למשך שעה או שעתיים בטיפול אוזון 17 יום לאחר הטיפול (צילום ב-7.4.13).



איור 5.5 : השפעה של זמני חשיפה של גזר לאוזון למשך 15 דק' או 60 דק' על מראה הגזר לאחר 3 ימים ב-20 מ"צ (צילום ב-7.4.13). הצילום לאחר שעה של חשיפה בוצע בתנאי תאורה שונים מהביקורת.

טבלה 5.1 : שכיחות סימפטומים עיקריים על גזר, עגבניות ופלפל לאחר חשיפה לאוזון.

	גזר (השחרות)	עגבניות (אלטרנריה)	פלפל (בוטריטיס)
ביקורת	1	6	7
30 דק' אוזון	8	5	8
60 דק' אוזון	3	4	8

תצפית 3 – 19.3.13

גזר נחשף לאוזון למשך 60 או 120 דק' לעומת ביקורת ללא טיפול. התוצאות לאחר יממה מראות נזק לפרי לאחר שעה והתגברות של הנזק לאחר שעתיים חשיפה (איור 5.3). לאחר אחסון של 17 יום יש התגברות של הנזק שבא לידי ביטוי בהשחרות קשות (איור 5.4).

תצפית 4 – 4.4.13

גזר נחשף לאוזון למשך 15, 30 ו-60 דק'. התוצאות לאחר 3 ימים ב-20 מ"צ מצביעות על התפתחות נזק לקליפה לאחר שעה של חשיפה לאוזון (איור 5.5). הצילום לאחר 30 דק' חשיפה לא מצביע על נזק אך בוצע בתנאי תאורה שונים מהביקורת (לא מובא).

תצפית 5 – 17.4.13

גזר, פלפל ועגבניה נחשפו לאוזון למשך 30 דק'. טיפול משנה היה אוזון יבש או אוזון לאחר ערפול עד רוויה של תא הטיפול. מחצית מהפרי עברה פציעה בדוקרן על מנת לבחון את השפעת הטיפול באוזון על רקמה פצועה. לאחר שבוע ב-20 מ"צ לא התפתח נזק או ריקבונות על פרי פצוע. בניתוח של הטיפולים הראשיים כמשתנה נמצאה עדיפות לטיפול האוזון הרטוב (טבלה 5.2).

טבלה 5.2 : ממוצע משוקלל של אחוזי הריקבון בכל סוגי הפירות

טיפול	SE	ממוצע (%)
אוזון יבש	7.2	17.4
אוזון רטוב	2.6	11.2
ביקורת	11.3	26.1

ניסוי ענבים 1 – 7.3.13

הניסוי נערך על שני זני ענבים, פליים ומידנייט ביוטי (8 אשכולות לטיפול). האשכולות טופלו באוזון, ערפול במי חמצן או שילוב שלהם למשך חצי שעה ונארזו בשקיות נייר. לאחר הטיפול הפרי אוחסן ב-0 מ"צ עד ה-18.8.13. בתאריך ההוצאה מהקירור, רמת הריקבונות הייתה גבוהה מאד והתבצעה הערכה של איכות השיזרות (5-1 : 1 ירוק, 5-חום) והערכת ריקבונות (1 : 0-1 גרגרים נגועים, 2 : 5-2 גרגרים נגועים, 3 : 10-6 גרגרים נגועים, 4 : 20-11 גרגרים נגועים, 5 : יותר מ-20 גרגרים נגועים). התוצאות (טבלה 5.3) מראות על רמת ריקבונות מקסימאלית בכל טיפולי הפליים והעדר הבדלים בין הטיפולים ברמת השיזרות. במידנייט מדד הריקבון בטיפול במי חמצן היה טוב יותר משאר הטיפולים אך מאחר ולא התקבלה תוצאה דומה בטיפול המשולב, יש ספק

באמינות התוצאות. גם מדד איכות השיזרות היה עדיף בטיפול במי חמצן, ככל הנראה כתוצאה מהפחתת ריקבונות ע"ג השיזרה.

טבלה 5.3 : השפעת טיפולים באוזון ומי חמצן על ענבי פליים ומידנייט ביוטי לאחר אחסון.

	פליים		מידנייט ביוטי		
	שיזרה	ריקבון	שיזרה	ריקבון	
ביקורת	3	5	2.7 AB	4.9 A	
אוזון	3	5	2.9 A	4.6 A	
מי חמצן	3	5	2.6 B	3.1 B	
אוזון & מי חמצן	3	5	2.9 A	5.0 A	

ניסוי ענבים 2 – 28.8.13

הניסוי נערך על ענבי קרימסון. בכל טיפול היו 16 אשכולות שנחשפו לחצי שעה של טיפול. הפרי אוחסן למשך 30 יום בקירור, הערכות איכות נגיעות בוצעו בהוצאה מקירור והערכת איכות שיזרות בהוצאה מקירור ולאחר חיי מדף. ספירה של גרגרים נגועים התבצעה לאחר חיי מדף ומספר הגרגרים הנגועים לק"ג פרי חושב על פי משקלי האשכולות ביום הבציר. התוצאות מראות על איכות בינונית של השיזרות בהוצאה מקירור ואיכות ירודה לאחר חיי מדף. ברמת הריקבונות לא היו הבדלים לאחר הוצאה מקירור אך לאחר חיי מדף הטיפולים במי חמצן או אוזון הפחיתו מאד את הנגיעות של הפרי (טבלה 5.4).

טבלה 5.4 : השפעת טיפולים באוזון ומי חמצן על ענבי קרימסון לאחר אחסון.

	*שיזרות		*ריקבון		*שיזרות		
	**אלטרנריה	**בוטריטיס	**אלטרנריה	**בוטריטיס	**אלטרנריה	**בוטריטיס	
ביקורת	2.8 B	1.4 A	3.8 A	9.8 A	2.9 A	12.7 A	
מי חמצן	3.3 A	1.1 A	4.1 A	1.3 B	2.1 AB	3.3 B	
אוזון	2.9 B	1.0 A	4.1 A	0.9 B	0.7 AB	1.6 B	
אוזון & מי חמצן	2.8 B	1.1 A	3.7 A	1.1 B	0.3 B	1.4 B	

*מדד הערכות מ-1 עד 5. **מספר גרגרים נגועים לק"ג פרי.

טבלה 5.5 : השפעת טיפולים באוזון ומי חמצן על ענבי יזני לאחר אחסון.

	שיזרות		בוטריטיס		אלטרנריה		סכ"ה
	מדד	גרגרים נגועים לק"ג פרי	מדד	גרגרים נגועים לק"ג פרי	מדד	גרגרים נגועים לק"ג פרי	
ביקורת	2.6 A	10.2 AB	10.4 A	20.6 B			
מי חמצן	2.5 A	14.2 A	12.6 A	26.8 AB			
אוזון	2.6 A	14.6 A	18.9 A	33.5 A			

19.5 B	10.1 A	9.4 B	2.5 A	אוזון & מי חמצן
--------	--------	-------	-------	--------------------

ניסוי ענבים – 16.9.13

הניסוי נערך על ענבי 'זנני'. בכל טיפול היו 16 אשכולות שנחשפו לחצי שעה של טיפול. הפרי אוחסן למשך 30 יום בקירור, הערכת איכות שיזרות וספירה של גרגרים נגועים התבצעה לאחר חיי מדף ומספר הגרגרים הנגועים לק"ג פרי חושב על פי משקלי האשכולות ביום הבציר. התוצאות מניסוי זה לא מצביעות על השפעה מובהקת של הטיפולים ביחס לביקורת הלא מטופלת (טבלה 5.5).

סיכום

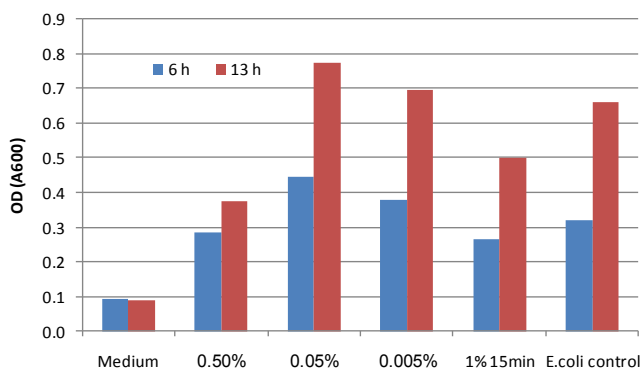
מהתצפיות על גזר מוברש אפשר להתרשם שטיפול באוזון גורם לנזק לקליפה שיכול להתבטא בהשחרות של הקליפה. אין אינדיקציות לנזק בעגבניות ופלפל, ככל הנראה כתוצאה מהגנה של שעווה טבעית על הפירות. לא היו אינדיקציות לשיפור איכות הפרי ברמה של מדבק טבעי בגודל המדגם של התצפיות.

הניסוי הראשון על ענבים סבל מעומס ריקבנות גדול מדי. הניסוי השני על קרימסון הראה השפעות חיוביות של הטיפול באוזון ומי חמצן שדורשות אימות. הניסוי השלישי על ענבי 'זנני' לא הראה תוצאות חיוביות לטיפולים.

6. בחינות הקדמיות של תכשירים ומכשירים לקטילת מיקרואורגניזמים

6.1 המיצוי הצמחי GUP

המיצוי הצמחי GUP (של חברת GreenUp) הוכח כקוטל חיידקים ופטריית בריכוזים של עשרות אחוזים (תוצאות לא מוצגות). השאלה הייתה האם החומרים הפעילים במיצוי זה יעילים בתחום רלבנטי לערפול תכשירים. בניסוי המוצג באיור 6.1 אפשר לראות כי חשיפה של החיידקים לתכשיר למשך 15 דקות לא הראתה כושר קטילה משמעותי כמו גם חשיפה ממושכת במצע הגידול לריכוז של 0.5%. מתוצאת אלו אפשר להסיק כי תכשיר זה אינו מהווה בסיס מספיק להמשך מחקר.



איור 6.1 : השפעה של המיצוי הצמחי GUP על התפתחות חיידקי *E. coli*. התכשיר הוסף למצע הגידול בריכוזים של 0.5, 0.05 או 0.005% או שהחיידקים נחשפו לתכשיר בריכוז של 1% למשך 15 דקות.

6.2 ציפויים אנטימיקרוביאליים

קירות של חדרי קירור או משטחים שבאים במגע עם תוצרת חקלאית עשויים להיות מקור לזיהומים של תוצרת בחדר הקירור. אחת האפשרויות למנוע זאת היא לצפות את המשטחים בחומרים אנטימיקרוביאליים. בבחינה הקדמית נערך אילוח של פלטות מתכת מצופות בפורמולציות שונות של טיטניום דיאוקסיד עם או בלי יוני כסף או תוסף אנטיבקטריאלי שסופקו על ידי חברת Nanoplate. פלטות נתלו בחדר קירור ונדגמו לאחר שבוע על ידי צלחות מגע. התוצאות הראו שצלחות המגע היו מאולחות כמו הביקורת (תוצאות לא מובאות). לא נעשו בחינות המשך של פוטנציאל הציפויים האנטימיקרוביאליים, ולכן אי אפשר לשלול כי בשיטת בדיקה אחרת לא יתקבלו תוצאות חיוביות.

6.3 תוספי תוצרי אלקטרוליזה לחיטוי

אלקטרודות נחושת או כסף יכולות לשחרר יונים בעלי אפקט אנטי מיקרוביאלי. מתקנים מסוג זה הוכחו כמפחיתים רמות של מיקרואורגניזמים במים. מתקן מחקרי של חברת Necon הובא לבדיקה על מנת לבחון האם לתוצרי האלקטרוליזה של מתקן זה יש אפקט חיטוי בערפול. המים האלקטרוליטיים יוצרו ברמה של 6 ח"מ יוני נחושת ועורפלו על לוחיות מתכת מאולחות בפטריות למשך 30 דק'. לוחיות המתכת נדגמו על ידי צלחות מגע ועל פי התוצאות לא היה הבדל בין ריסוס, או ערפול של החומר למשך 60 דקות בהשוואה לערפול מים.

סיכום ודיון

התוצאות של הניסויים המוצגים בדוח זה מראות כי יישום אולטראסוני של תכשיר חיטוי על בסיס אמוניום רביעוני – ספורקיל מאפשר קטילה של נבגי פטריות כאשר ריכוז החומר הפעיל הוא 250 ח"מ. על סמך התוצאות ניתן להעריך כי מרבית הפטריות רגישות לריכוז זה מאחר וכל 4 המינים שנבדקו הגיבו באופן דומה. כמות הנבגים שיושמה הייתה בתחום של 10^5 - 10^6 נבגים ולכן מדובר בהפחתה של 5 סדרי גודל לפחות הנחשבת משמעותית מאד. למרות זאת, אין להוציא מכלל חשבון שמינים ספציפיים או מוטנטים בעלי עמידות מוגברת לתכשיר קיימים בטבע או עשויים לעבור סלקציה בטיפולים חוזרים. כמו כן, הודגם באופן חד משמעי שיעילות הטיפול תלויה בתנאי היישום. בטמפרטורה נמוכה יעילות הטיפול בקטילה של נבגים הייתה נמוכה מאד. תוצאה זו הייתה צפויה לגבי תכשיר זה מאחר ומדובר בתכשיר פעיל שטח שגורם להמסת הממברנות וידוע שממברנות יציבות הרבה יותר בטמפרטורה נמוכה. יתכן גם שהארגון המולקולרי של החומר בטמפרטורה נמוכה הוא כזה שבו אין שחרור של המולקולות הפעילות לתווך הממברנלי של התאים. על פי התוצאות של חשיפה ישירה של נבגי בוטריטיס לתכשיר נראה כי הריכוזים הדרושים לקבלת קטילה של הנבגים הם נמוכים בשני סדרי גודל בהשוואה ליישום האולטרסוני. לא ברור עדיין מה הסיבה לפער זה אבל ברור שהוא לא נובע מאי היכולת של המתנד האולטרסוני להרחיף את החומר מאחר והריכוז שנמדד בערפל היה דומה לריכוז שנמדד בתמיסת המקור. יש אפשרות שמרכיב נוסף בתוך התכשיר המסחרי אינו עובר הרחפה יעילה או ששבירת הארגון הבין-מולקולרי של החומר הפעיל מפחיתה את יעילותו. למטרה זו, יש לבצע ניסויים נוספים עם החומר הפעיל הנקי שילמדו האם ניתן לשפר את יעילות הטיפול. כמו כן, דרושה מעורבות של כימאי כדי לבחון את השאלה של הארגון הבין-מולקולרי. ביחס להשפעה של היישום האולטרסוני על חיידקים, נמצא כי רגישותו של המין שנבדק גבוהה בהרבה יותר לתכשיר. תוצאות דומות

התקבלו גם למינים אחרים של חיידקים אבל מצד שני עמידותם ליובש וכושר הישרדותם על המשטחים בתנאי הניסוי היא נמוכה בהרבה ביחס לנבגי הפטריות ולמעשה היה צורך לבחון את שרידותם במצב של ביופילמים של אותם חיידקים ולא דווקא של חיידקים במצב סוליטרי.

המסקנות המעשיות כתוצאה ממחקר זה הם כי ניתן להשתמש ביישום אולטרסוני של 'ספורקיל' לחיטוי חדרי קירור לפני הפעלתם אבל במהלך ההפעלה שלהם בטמפרטורה נמוכה, יעילות הטיפול צפויה להיות נמוכה מאד. יש לצפות לקטילה יעילה מאד של פתוגנים בחדר הקירור אבל עם התוצאות שהוצגו כאן נכונות, לא סביר שניתן יהיה לטפל בתוצרת חקלאית תוך כדי האחסון בקירור, אלא אם כן יעשה שימוש בריכוזים הרבה יותר גבוהים של התכשיר ולמטרה זו יידרש תכשיר בעל מנגנון פעולה שונה.

ברמה הטכנולוגית לדיזה דופלואידית יש עדיפות על ערפול אולטרסוני מאחר והציוד הנדרש להפעלתה הוא הדיזה עצמה ומקור לחץ אוויר והעלות ביחס להספק נמוכה מאד. יחד עם זאת, הטיפות הנוצרות על ידי הדיזה הדופלואידית גדולות, עובדה הפוגעת בהסעה ופיזור יעיל של חומר החיטוי בחלל. בניסויים במיכל של 200 ליטר, לא הוכחה יעילות גבוהה יותר של טכנולוגיה זו ברמת זמן או משך היישום. על מנת להשוות בין הטכנולוגיות נדרש יישום בחדר קירור מסחרי בתנאים מבוקרים תוך בחינה של יעילות קטילה של פטריות בכל החלל. הטכנולוגיה של שבירת טיפה צנטריפוגלית אינה בשלה ליישום בקנה מידה מסחרי, ברמת יכולת הפיזור של החומר.

השילוב של מי חמצן בערפול ואוזון גזי הוא מעניין כי השילוב של שתי תכשירי חיטוי במנגנון פעולה שונה עשוי להיות סינרגיסטי. מעבר לכך, העובדה שאוזון גזי פעיל הרבה יותר בלחות גבוהה ולכן ערפול של מי חמצן לפני יישום האוזון נראה כרעיון טוב. הבעיה היא שתפוקת המכשיר הנייד עומדת על 7000 ח"מ לשעה בעוד שהרמה הנדרשת לקטילה של בוטריטיס בלחות גבוהה היא למעלה מ-700 ח"מ לליטר לשעה ולכן נדרש מכשיר ייצור אוזון חזק יותר. הציפייה הייתה שהשילוב עם מי חמצן עשוי לאפשר מניעה יעילה של התפתחות בוטריטיס על ענבים. בפועל זה קרה רק בתנאים של לחץ הדבקה נמוך ולכן נראה שנדרש שינוי גישה. ברמה היישומית, לא נראה שניתן ליישם אוזון ברמה התיאורטית הנדרשת בעלות סבירה. אפשרות אחרת היא להעלות את ריכוז מי החמצן או להשתמש בתכשיר חיטוי אחר.

מבחינת הטכנולוגיות האחרות שנבדקו, ברמה הקדמית. התוצאות שהתקבלו ממחישות את הצורך בבחינה יסודית של תכשירים שיש לגביהם טענות על אפקטיביות.

ספרות

Palou, L., Smilanick, J. and Margosan, D. 2006. Ozone applications for sanitation and control of postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. In: Recent Advances in Alternative Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits & Vegetables, Eds: Troncoso-Rojas, R., Tiznado-Hernández, M. E., and González-León, A. ISBN: 81-7895-244-0.

Ozkan, R., J.L. Smilanick, and O.A. Karabulut. 2011. Toxicity of ozone gas to conidia of *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, and *Botrytis cinerea* and control of gray mold on table grapes. Postharvest biology and technology 60: 47-51.

<p>מטרות המחקר לתקופת הדו"ח תוך התייחסות לתוכנית העבודה.</p>
<ol style="list-style-type: none"> 1. בחינה של השפעת חומרי חיטוי בערפול אולטרסוני על פטריות וחיידקים 2. בחינת השימוש בטכנולוגיות נוספות ליישום תכשירי חיטוי 3. בחינת יעילות תכשירים נוספים (מי חמצן, אוזון, מיצוי צמחי)
<p>עיקרי הניסויים והתוצאות שהושגו בתקופה אליה מתייחס הדו"ח.</p>
<ol style="list-style-type: none"> 1. נמצא כי נדרש ריכוז של 250 ח"מ אמוניום רביעוני בערפול לקטילה של פטריות וריכוז זה מאפשר גם קטילה יעילה של חיידקים. 2. נמצא כי היישום של אוזון על פלפל או עגבנייה לא פגע באיכות הפרי אבל גזר מוברש סבל מנזקים במשכי חשיפה שעלו על 30 דק'. אוזון ומי חמצן נמצאו יעילים בהפחתת רקבונות על ענבים לאחר אחסון בתנאי לחץ מחלה נמוך. 3. נבחנה היעילות של מכשירים ותכשירים שונים לחיטוי חדרי קירור ועל פי רוב לא נמצאו תוצאות שמצדיקות המשך בחינה יסודית.
<p>המסקנות המדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר בתקופת הדו"ח</p>
<ol style="list-style-type: none"> 1. הוכח כי הסיבה לחוסר ההתאמה בין חשיפה ישירה של תכשיר החיטוי לחיידקים ופטריות אינה בשיטת היישום. הוכח גם כי יישום תכשיר חיטוי בערפול הוא השיטה היעילה ביותר לקטילה של פטריות או חיידקים.
<p>הבעיות שנתרו לפתרון ו/או השינויים שחלו במהלך העבודה (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים); התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנתרה לביצוע תוכנית המחקר.</p>
<ol style="list-style-type: none"> 1. יש חשיבות לבחינה שיטתית של טכנולוגיות שונות לטיפול בחדרי קירור או תוצרת חקלאית, הן כדי לאפשר התפתחות ויישום של שיטות חדשות והן כדי לצמצם החדרה של שיטות לא יעילות. 2. לא נערכה השוואה של ערפול אולטרסוני של חומרי חיטוי מול יישום בדיזה דופלואידית בחדר קירור מסחרי, כולל השוואת עלויות. 3. נדרשים ניסויים נוספים בשילוב של אוזון ומי חמצן בריכוז גבוה יותר של מי חמצן.
<p>האם הוחל כבר בהפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח - יש לפרט: פרסומים – כמקובל בביוגרפיה, פטנטים - יש לציין מס' פטנט, הרצאות וימי עיון - יש לפרט מקום ותאריך. Daus, A, Horev, B., Dvir, O., Ish-Shalom, S. and Lichter, A. (2011). The efficacy of ultrasonic fumigation for disinfection postharvest pathogens in storage facilities. Postharvest Biol. Technol. 62: 310-313.</p>
<p>פרסום הדו"ח: אין מגבלה על הפצת הדו"ח</p>