

UNIVERSITATEA DUNĂREA DE JOS
FACULTATEA DE ȘTIINȚA ȘI INGINERIA ALIMENTELOR

REZUMAT TEZĂ DE DOCTORAT

*Efectul de inactivare al pulsurilor de lumină
asupra mucegaiurilor prezente în sisteme
model și sisteme alimentare*

Doctorand
Ing. Dipl. Nicoleta ARON (MAFTEI)

Coordonator științific
Prof.dr.ing. Anca Nicolau

GALAȚI
2011

CUPRINS

CAPITOLUL 1	
Stadiul actual al cunoașterii privind utilizarea pulsurilor de lumină (PL) în industria alimentară.....	2
CAPITOLUL 2	
Echipamente utilizate în experimente.....	35
CAPITOLUL 3	
Modele matematice utilizate la prelucrarea statistică a rezultatelor.....	41
CAPITOLUL 4	
Efectul de inactivarea al pulsurilor de lumină asupra mucegaiurilor prezente în sisteme model	43
CAPITOLUL 5	
Efectul de inactivarea al pulsurilor de lumină asupra mucegaiurilor prezente pe cereale	73
CAPITOLUL 6	
Efectul de inactivare al pulsurilor de lumină la tratarea sucului de mere	95
CAPITOLUL 7	
Efectul tratamentelor atermice (pulsuri de lumină, câmpuri electrice pulsatorii de înaltă intensitate, ultrasunete) și al tratamentului termic asupra inactivării mucegaiurilor prezente în lichide	122
CONCLUZII FINALE	151
CONTRIBUȚII ORIGINALE, DESCHIDERI OFERITE DE TEZA DE DOCTORAT	153
REFERINȚE BIBLIOGRAFICE	154

OBIECTIVELE ȘTIINȚIFICE ALE TEZEI DE DOCTORAT

Prelungirea perioadei de prospețime pentru alimentele procesate a fost și este o provocare continuă pentru producătorii din industria alimentară. Permanent sunt puse la punct noi modalități, noi metode de conservare, care să diminueze cât mai puțin valoarea nutritivă a produselor. Cu alte cuvinte, noile metode de conservare au două obiective, uneori dificil de armonizat: blocarea dezvoltării microorganismelor și implicit a alterării produselor, pe de-o parte, și păstrarea nemodificată a nutrienților din aliment, pe de altă parte.

Tratamentul cu pulsuri de lumină (PL) este o metodă de conservare a alimentelor care implică utilizarea unor pulsuri intense și de scurtă durată de „lumină albă”. Pentru acest tratament, radiația utilizată include, pe lângă radiația din domeniul vizibil, lungimi de undă din domeniul ultraviolet al spectrului și apropiate de regiunea infraroșu. În general, pentru majoritatea aplicațiilor, câteva pulsuri luminoase aplicate într-o fracțiune de secundă asigură un nivel ridicat de inactivare microbiană.

Teza de doctorat intitulată „*Efectul de inactivare al pulsurilor de lumină asupra mucegaiurilor prezente în sisteme model și sisteme alimentare*” reprezintă un demers de cercetare fundamentală modernă, situat la interdisciplinaritatea fizică – informatică – microbiologie. Demersul științific urmărește inactivarea mucegaiurilor prezente pe diferite alimente (cereale și sucuri), a unor mucegaiuri în sistem model și determinarea porțiunii din spectrul electromagnetic al radiației UV responsabilă de inactivarea mucegaiurilor.

Realizarea scopului propus a fost în concordanță cu îndeplinirea unor obiective specifice, derivate din evaluarea stadiului actual al cercetărilor pe plan mondial, privind inactivarea microorganismelor prin tratamente cu pulsuri de lumină, după cum urmează:

- ❖ Demonstrarea posibilității de inactivare a sporilor de *Penicillium expansum*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camembertii*, *Penicillium nalgiovense*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum* și *Geotrichum candidum* prin tratamentul cu PL.
- ❖ Determinarea eficienței PL la inactivarea mucegaiurilor prezente în microbiota naturală a grâului și secarei.
- ❖ Evaluarea potențialului PL asupra inactivării mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere.

- ❖ Compararea eficienței tehnologiilor atermice (pulsuri de lumină, câmpuri electrice pulsatorii, ultrasunete) la inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere.

Teza de doctorat a fost elaborată în perioada 2008-2011, în cadrul Universității „Dunărea de Jos” Galați, Facultatea de Știința și Ingineria Alimentelor, Platforma de cercetare și formare „Bioaliment” și în laboratoarele Departamentului de Tehnologii Noi din cadrul Facultății de Agronomie, Universitatea din Leida, Spania.

STRUCTURA TEZEI DE DOCTORAT

Teza de doctorat este prezentată pe 171 de pagini și se compune din două părți: o parte de studiu documentar care conține 1 capitol și o parte de cercetări originale și echipamente utilizate pe parcursul cercetărilor, structurate pe 6 capitole. Lucrarea conține 50 de figuri și grafice și 37 de tabele. Bibliografia conține 142 de titluri.

STUDIU DOCUMENTAR

Studiul documentar, intitulat *Stadiul actual al cunoașterii privind utilizarea pulsurilor de lumină (PL) în industria alimentară*, prezintă cele mai noi informații apărute pe fluxul principal de publicații în domeniul abordat, grupate într-un capitol, cu referire la:

- ✓ Descrierea pulsurilor luminoase.
- ✓ Factori care determină eficiența tratamentului cu pulsuri de lumină.
- ✓ Mecanismul de inactivare.
- ✓ Inactivarea microorganismelor cu pulsuri de lumină.

STUDIU EXPERIMENTAL

Partea experimentală prezintă rezultatele originale și contribuțiile științifice la dezvoltarea cunoașterii și este structurată în șase capitole distincte, după cum urmează.

Capitolul 2, intitulat *Echipamente utilizate în experimente*, descrie echipamentele utilizate pentru realizarea experimentelor efectuate pe parcursul stagiului doctoral.

Capitolul 3, *Modele matematice utilizate la prelucrarea statistică a rezultatelor*, prezintă modelele matematice utilizate pentru descrierea matematică a inactivării mucegaiurilor testate în experimentele acestei teze.

Capitolul 4, intitulat *Efectul de inactivare al pulsurilor de lumină asupra mucegaiurilor prezente în sisteme model*, descrie rezultatele obținute la inactivarea cu pulsuri de lumină a mucegaiurilor: *Penicillium expansum* 3.80, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camembertii*, *Penicillium nalgiovense*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum* și *Geotrichum candidum*, calculul timpului de reducere decimală și a valorii z pentru cele 8 mucegaiuri.

Capitolul 5, denumit *Efectul de inactivare al pulsurilor de lumină asupra mucegaiurilor prezente pe cereale* prezintă rezultatele obținute la inactivarea mucegaiurilor din microbiota naturală a grâului și secarei prin aplicarea de pulsuri de lumină, în prezența sau absența unor filtre de lumină. De asemenea, în acest capitol a fost studiat și efectul pulsurilor de lumină asupra capacității de germinare a cerealelor.

Capitolul 6, intitulat *Efectul de inactivare al pulsurilor de lumină la tratarea sucului de mere*

descrie rezultatele obținute la inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 inoculat artificial în suc limpede de mere, prin aplicarea de pulsuri de lumină, în prezența sau absența unor filtre de lumină. Tot în acest capitol a fost studiat și efectul pulsurilor de lumină asupra pH-ului, substanței uscate și a culorii sucului de mere inoculat artificial cu *Penicillium expansum* UdLTA 3.80.

Capitolul 7, denumit *Efectul tratamentelor atermice (pulsuri de lumină, câmpuri electrice pulsatorii de înaltă intensitate, ultrasunete) și al tratamentului termic asupra inactivării mucegaiurilor prezente în lichide* prezintă rezultatele obținute la inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 inoculat artificial în suc limpede de mere, prin aplicarea de tratamente atermice și tratamente termice. De asemenea, în acest capitol a fost studiat și efectul tratamentelor atermice și a tratamentelor termice asupra pH-ului, substanței uscate și a culorii sucului de mere inoculat artificial cu *Penicillium expansum* UdLTA 3.80.

Echipamente. Modele matematice

Pentru realizarea experimentelor au fost utilizate următoarele echipamente: *Instalația de laborator pentru procesul cu pulsuri de lumină*, din cadrul Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor, *Instalația cu pulsuri de lumină XeMaticA-2L System*, *Instalația pentru tratamentul cu câmpuri electrice pulsatorii de înaltă intensitate tip OSU-4F*, *Instalația de laborator pentru tratamentul cu ultrasunete tip UP400S Hielscher*, *Instalația de laborator pentru tratamentul termic*, din cadrul Departamentului de Tehnologii Noi, Universitatea Lleida. În ceea ce privește prelucrarea matematică a rezultatelor obținute în cadrul experimentelor s-au utilizat două modele matematice: Bigelow și Weibull. Rezultatele experimentale au fost analizate cu ajutorul programului Statgraphics Plus Versiunea 5.1 (Statistical Graphics Co., Rockville, MD, USA). Pentru prelucrarea statistică a rezultatelor s-a utilizat testul Duncan (coeficient semnificativ de 5%).

REZULTATE EXPERIMENTALE

4. Efectul de inactivare al pulsurilor de lumină asupra mucegaiurilor prezente în sisteme model

Microorganisme - Au fost studiate următoarele mucegaiuri: *Penicillium expansum* 3.80, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium camembertii*, *Penicillium nalgiovense*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum* și *Geotrichum candidum*.

Metode de numărare a microorganismelor - Pentru stabilirea concentrației de spori de mucegai din inocul s-a utilizat metoda de numărare cu camera Thoma (Tofan et al., 2002). Pentru stabilirea numărului de spori viabili înainte și după tratamentele de inactivare cu PL, numărul de mucegaiuri a fost determinat în conformitate cu standardul ISO 21527-2/2009.

Metoda de inactivare a sporilor de mucegai

Pe o lamă de sticlă sterilă, s-a trasat cu marker-ul o suprafață de 4 cm². În această suprafață s-au repartizat câte 100 μL suspensie de spori din fiecare mucegai utilizat în acest studiu. Suspensia a fost uscată la temperatura camerei în curent de aer cald. După uscare, lamele cu suspensie de spori au fost supuse tratamentului cu pulsuri de lumină (U = 1000-2000V, fluența 0,774, 1,741 și 3,096 J/cm², timp 0,02 – 0,3 sec., numărul de pulsuri: 0, 10, 20 și 30). După tratarea cu pulsuri de lumină, lama de sticlă a fost introdusă într-un Erlenmeyer cu 10 mL ser fiziologic steril. Pentru a trece spori de pe lamă în ser fiziologic, Erlenmeyer-ele au fost agitate pe shaker timp de 5 minute la 200 rot/min.

Rezultate obținute și interpretarea lor

Efectul PL asupra aceluiași tip de spor și cu aceeași culoare

Mucegaiurile utilizate în acest prim experiment au fost: *Penicillium expansum* 3.80 cu *Penicillium roqueforti* și *Penicillium camembertii* cu *Penicillium nalgiovense*. Variația numărului de spori viabili de *Penicillium expansum* 3.80 și *Penicillium roqueforti*, la diferite fluențe (0,774, 1,741 și 3,096 J/cm²) este reprezentată în figura 4.1. și 4.2. Datorită fluențelor relativ scăzute utilizate în timpul experimentelor, care sunt limitate de instalația utilizată comparativ cu alte instalații, cel mai înalt nivel de inactivare atins a fost de 4,59 log ufc/cm² și

3,91 log ufc/cm² pentru *Penicillium expansum* 3.80 și respectiv *Penicillium roqueforti* la aplicarea a 30 de pulsuri la fluența de 3,096 J/cm².

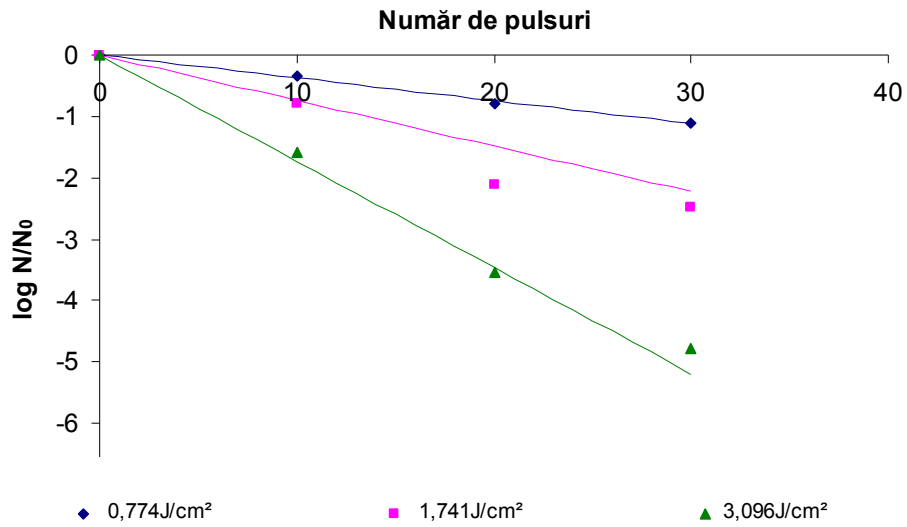


Figura 4.1. Cinetica inactivării mucegaiului *P. expansum* la diferite fluențe și număr de pulsuri

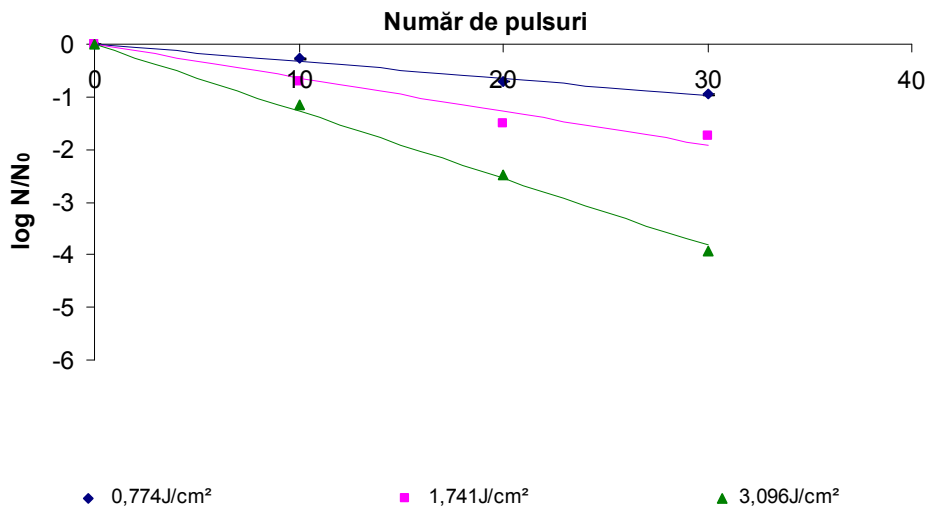


Figura 4.2. Cinetica inactivării mucegaiului *P. roqueforti* la diferite fluențe și număr de pulsuri

Cinetica inactivării sporilor de mucegai de *P. expansum* și *P. roqueforti* a fost modelată cu ajutorul modelului de ordinul întâi, modelul Bigelow și așa cum se observă în figurile 4.2. și

4.3. curbele de inactivare obținute prin aplicarea modelului linear Bigelow descriu cu acuratețe inactivarea celor două mucegaiuri.

De asemenea, din valorile obținute pentru coeficienții de regresie (R^2) și factorul de precizie (A_f) (tabelul 4.4. și 4.5.) rezultă că modelul Bigelow a fost capabil să estimeze cu acuratețe viteza supraviețuirii sporilor de *P. expansum* și *P. roqueforti* în tratamentul de inactivare cu PL.

Tabelul 4.4. Valorile D la diferite fluențe pentru *P. expansum*

Fluența (J/cm ²)	D (sec.)	R ²	Deviația standard	Eroarea standard	Factorul de precizie (A _f)
0,774	26,876	98,841	0,253	0,052	1,043
1,741	11,192	95,962	0,116	0,233	1,141
3,096	5,779	99,482	0,156	0,121	1,038

Tabelul 4.5. Valorile D la diferite fluențe pentru *P. roqueforti*

Fluența (J/cm ²)	D (sec.)	R ²	Deviația standard	Eroarea standard	Factorul de precizie (A _f)
0,774	30,593	98,759	0,095	0,048	1,073
1,741	15,679	95,018	0,108	0,177	1,096
3,096	7,839	99,632	0,141	0,103	1,041

În ceea ce privește mucegaiurile *Penicillium camembertii* și *Penicillium nalgiovense*, după tratamentul cu PL, cel mai bun nivel de inactivare obținut a fost de: 4,18 log ufc/cm² pentru *Penicillium nalgiovense* și 3,76 log ufc/cm² pentru *Penicillium camembertii* (Fig. 4.5 și 4.6.).

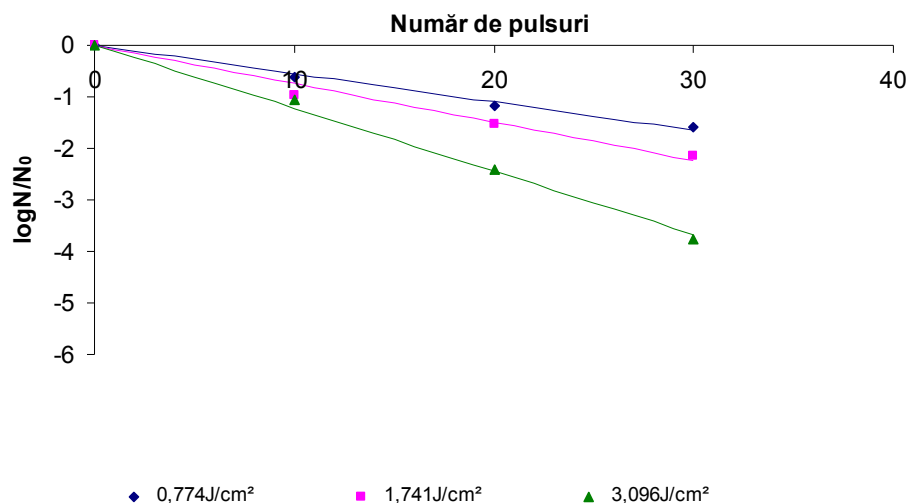


Figura 4.5. *Cinetica inactivării mucegaiului P. camembertii la diferite fluențe și număr de pulsuri*

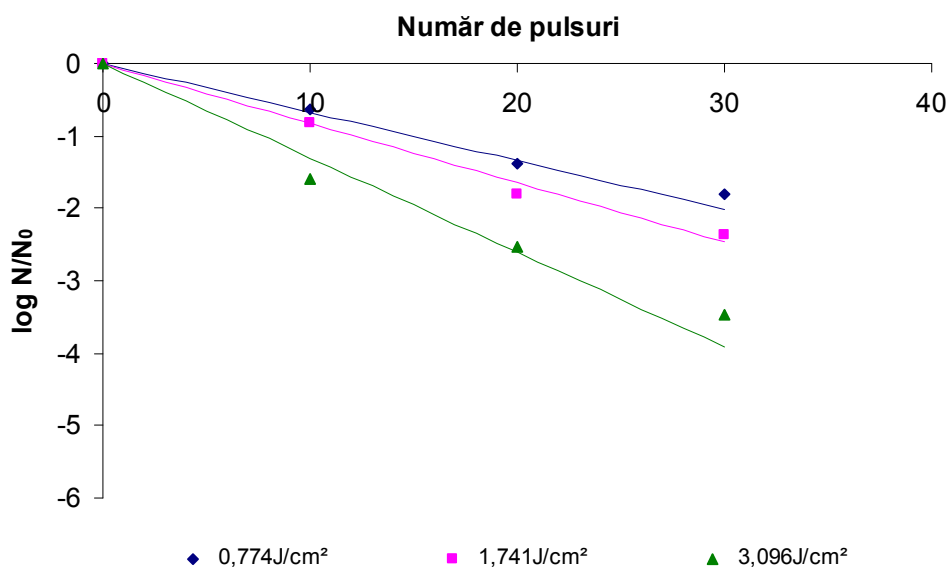


Figura 4.6. *Cinetica inactivării mucegaiului P. nalgiovensis la diferite fluențe și număr de pulsuri*

Din tabele 4.6 și 4.7. se observă că pentru sporii de *P. camembertii* timpul de reducere decimală a scăzut odată cu creșterea fluenței aplicate. Valorile pentru timpul de reducere decimală pentru *P. camembertii* a variat de la 18,159 secunde la 8,175 secunde, între fluența de 0,744 J/cm² și 3,096 J/cm², ceea ce reprezintă o scădere de 2,22 ori, acest lucru reprezentând faptul că viteza de inactivare a sporilor de mucegai crește odată cu creșterea fluenței. Pentru

sporii de *P. nalgiovense*, timpul de reducere decimală a variat de la 14,894 secunde la 7,671 secunde, acest lucru reprezentând o scădere de 1,94 ori, în aceleași condiții de tratament.

Tabelul 4.6. Valorile D la diferite fluențe pentru *P. camembertii*

Fluența (J/cm ²)	D (sec.)	R ²	Deviația standard	Eroarea standard	Factorul de precizie (A _f)
0,774	18,159	99,251	0,008	0,059	1,048
1,741	13,404	97,351	0,082	0,147	1,088
3,096	8,175	96,536	0,091	0,301	1,051

Tabelul 4.7. Valorile D la diferite fluențe pentru *P.nalgiovense*

Fluența (J/cm ²)	D (sec.)	R ²	Deviația standard	Eroarea standard	Factorul de precizie (A _f)
0,774	14,894	93,098	0,056	0,227	1,105
1,741	12,190	98,879	0,175	0,108	1,036
3,096	7,671	97,989	0,377	0,202	1,281

Efectul PL asupra unor tipuri diferite de spori cu aceeași culoare

În acest experiment au fost utilizate pulsuri de lumină generate la diferite fluențe pentru a inactiva spori de mucegai diferiți – fialospori, blastospori și arthrospori. Mucegaiurile utilizate într-un prim experiment au fost *Penicillium camembertii*, *Aspergillus candidus* și *Geotrichum candidum*, iar în cel de-al doilea experiment au fost utilizate mucegaiurile *Aspergillus niger* și *Cladosporium herbarum*. După tratamentul cu PL, cel mai bun nivel de inactivare obținut a fost de: 3,76 log ufc/cm² pentru *Penicillium camembertii*; 5,07 log ufc/cm² pentru *Aspergillus candidus* și 3,08 log ufc/cm² pentru *Geotrichum candidum*. Din figurile 4.9., 4.10. și 4.11. se poate observa că a existat o reducere semnificativă a populației de mucegaiuri împreună cu creșterea numărului de pulsuri și a fluenței aplicate (p< 0,05).

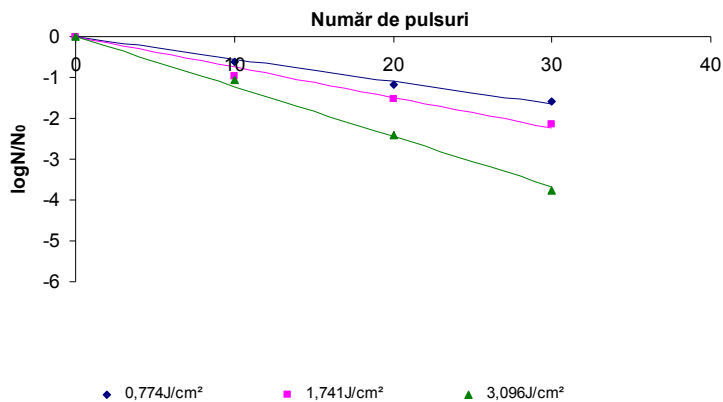


Figura 4.9. *Cinetica inactivării mucegaiului P. camembertii la diferite fluențe și număr de pulsuri*

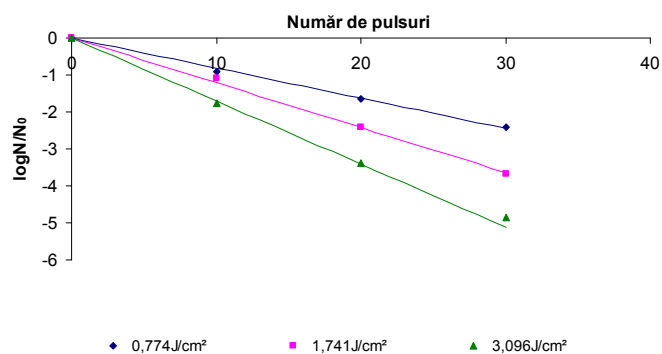


Figura 4.10. *Cinetica inactivării mucegaiului Aspergillus candidus la diferite fluențe și număr de pulsuri*

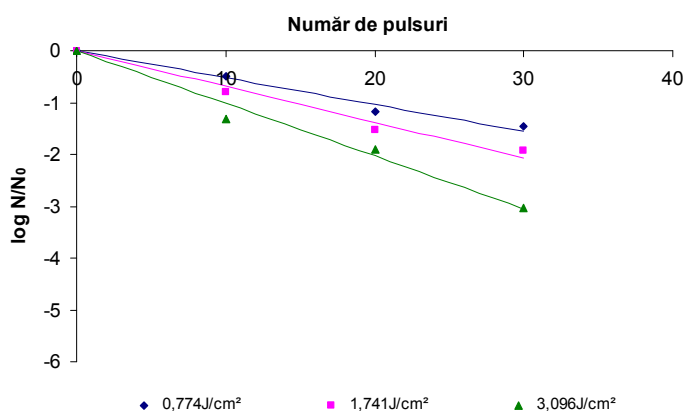


Figura 4.11. *Cinetica inactivării mucegaiului Geotrichum candidum la diferite fluențe și număr de pulsuri*

Așa cum se observă în figurile 4.9. - 4.11. curbele de inactivare obținute descriu cu acuratețe inactivarea mucegaiurilor *P. camembertii*, *A. candidus* și *G. candidum*. În tabelele 4.8. și 4.9. se poate observa că valorile obținute pentru coeficienții de regresie (R^2) au variat de la 96,53 la 99,92, iar valorile factorului de precizie (A_f) au variat de la 1,074 la 1,281 pentru cele trei mucegaiuri studiate ceea ce semnifică că modelul Bigelow a fost capabil să reprezinte cu acuratețe viteza de supraviețuire a sporilor de *P. camembertii*, *A. candidus* și *G. candidum* după tratamentul de inactivare cu PL.

Tabelul 4.8. Valorile D la diferite fluențe pentru *A. candidus*

Fluența (J/cm ²)	D (sec.)	R ²	Deviația standard	Eroarea standard	Factorul de precizie (A _f)
0,774	12,282	99,569	0,069	0,067	1,187
1,741	8,249	99,793	0,034	0,072	1,029
3,096	5,863	99,921	0,124	0,062	1,078

Tabelul 4.9. Valorile D la diferite fluențe pentru *G. candidum*

Fluența (J/cm ²)	D (sec.)	R ²	Deviația standard	Eroarea standard	Factorul de precizie (A _f)
0,774	19,219	97,673	0,122	0,101	1,057
1,741	14,478	97,195	0,123	0,142	1,089
3,096	9,843	97,319	0,581	0,206	1,068

Valorile obținute pentru timpul de reducere decimală pentru *A. candidus* și *G. candidum*, au variat de la 12,282 secunde la 5,863 secunde, respectiv de la 19,219 secunde la 9,843 secunde. Aceste variații reprezintă o scădere de 2,09 ori pentru *A. candidus* și de 1,95 ori pentru *G. candidum*.

Pentru cel de-al doilea experiment au fost utilizate pulsuri de lumină generate la diferite densități energetice pentru a inactiva spori de mucegai diferiți – fialospori și blastospori; foarte închiși la culoare, negru și, respectiv, verde închis spre negru. Mucegaiurile utilizate în acest experiment au fost: *Aspergillus niger* și *Cladosporium herbarum*. În urma tratamentului cu PL, nivelul cel mai mare de inactivare obținut a fost de 2,88 log ufc/cm² pentru *A. niger*, la aplicarea a 30 de pulsuri cu fluența de 3,096 J/cm². În aceleași condiții de tratament pentru *C. herbarum*,

nivelul cel mai mare de inactivare a fost de 2,67 log ufc/cm². Se poate observa din figurile 4.15. și 4.16. că a existat o reducere semnificativă a sporilor de mucegai odată cu creșterea fluenței și a numărului de pulsuri ($p < 0,05$).

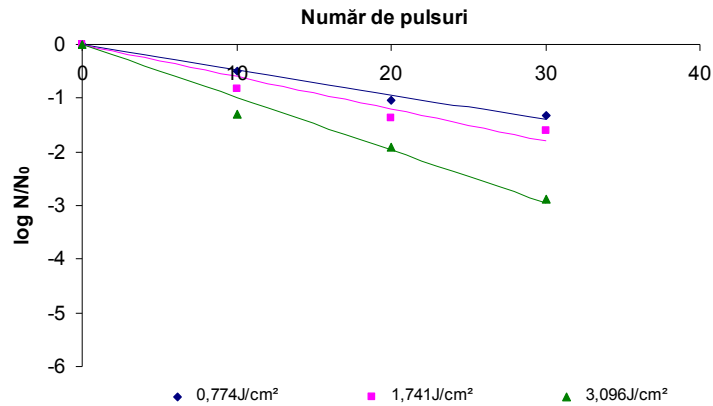


Figura 4.15. Cinetica inactivării mucegaiului *Aspergillus niger* la diferite fluențe și număr de pulsuri

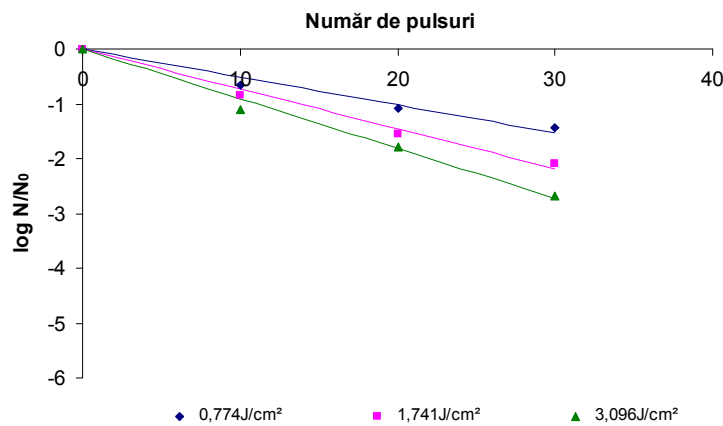


Figura 4.16. Cinetica inactivării mucegaiului *Cladosporium herbarum* la diferite fluențe și număr de pulsuri

Din figurile 4.15. și 4.16. se poate observa că curbele de inactivare obținute prin aplicarea modelului linear Bigelow descriu cu acuratețe inactivarea celor două mucegaiuri. Din valorile obținute pentru coeficienții de regresie (R^2) și factorul de precizie (A_f) rezultă că modelul Bigelow a fost capabil să estimeze cu acuratețe rata supraviețuirii sporilor de *A. niger* și *C. herbarum* în tratamentul de inactivare cu PL.

Tabelul 4.10. Valorile D la diferite fluențe pentru *A. niger*

Fluența (J/cm ²)	D (sec.)	R ²	Deviația standard	Eroarea standard	Factorul de precizie (A _f)
0,774	21,381	98,479	0,108	0,073	1,053
1,741	16,649	92,510	0,193	0,196	1,149
3,096	10,177	97,545	0,162	0,189	1,086

Tabelul 4.11. Valorile D la diferite fluențe pentru *C. herbarum*

Fluența (J/cm ²)	D (sec.)	R ²	Deviația standard	Eroarea standard	Factorul de precizie (A _f)
0,774	19,599	97,026	0,240	0,106	1,098
1,741	13,727	98,731	0,085	0,102	1,065
3,096	11,014	98,931	0,093	0,116	1,057

Din tabelele 4.10. și 4.11. se observă că între fluența de 0,744 J/cm² și 3,096 J/cm² inactivarea sporilor este accelerată, iar timpul de reducere decimală scade de la 21,381 secunde pentru fluența de 0,744 J/cm² la 10,177 secunde pentru fluența de 3,096 J/cm², ceea ce reprezintă o scădere de 2,10 ori pentru *A. niger*. În aceleași condiții de tratament pentru *C. herbarum*, timpul de reducere decimală scade de la 19,599 secunde la 11,014 secunde, ceea ce reprezintă o scădere de 1,77 ori.

Efectul PL asupra aceluiași tip de spor dar de culoare diferită

În acest experiment au fost utilizate pulsuri de lumină generate la diferite fluențe pentru a inactiva spori de mucegai de același tip – fialospori, dar de culoare diferită. Mucegaiurile utilizate în acest prim experiment au fost: *Aspergillus niger* și *Aspergillus candidus*.

Variația numărului de spori viabili de *Aspergillus niger* și *Aspergillus candidus*, la diferite fluențe (0,774, 1,741 și 3,096 J/cm²) este reprezentată în figura 4.19. și 4.20. Din aceste figuri se poate observa că a existat o reducere semnificativă a populației odată cu creșterea fluenței și a numărului de pulsuri pentru fiecare caz în parte ($p < 0,05$). Cel mai înalt nivel de

inactivare atins a fost de 2,88 log ufc/cm² și 5,07 log ufc/cm² pentru *A. niger* și respectiv *A. candidus* la aplicarea a 30 de pulsuri la fluența de 3,096 J/cm².

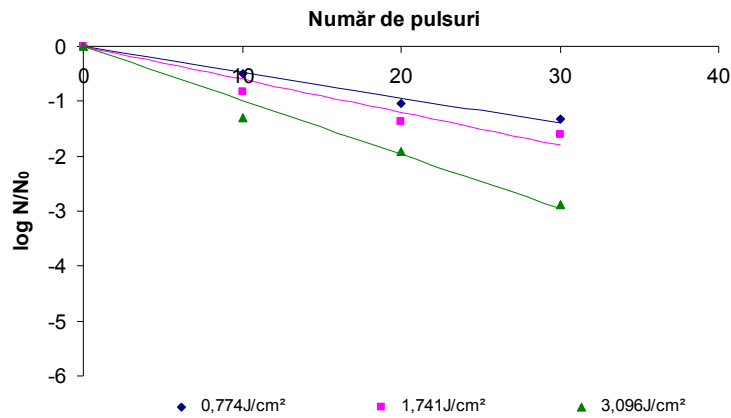


Figura 4.19. Cinetica inactivării mucegaiului *Aspergillus niger* la diferite fluențe și număr de pulsuri

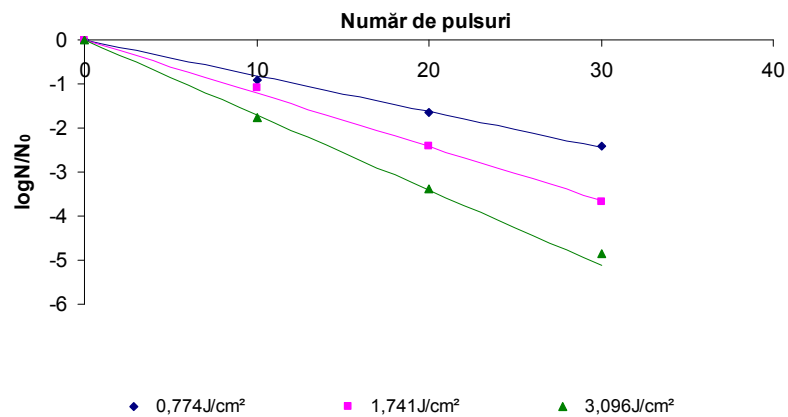


Figura 4.20. Cinetica inactivării mucegaiului *Aspergillus candidus* la aplicarea a diferite fluențe și număr de pulsuri

Efectul PL asupra sporilor de mucegai

Din experimentele efectuate asupra sporilor de *Penicillium expansum*; *Penicillium roqueforti*; *Penicillium camembertii*; *Penicillium nalgiovense*; *Aspergillus candidus*; *Aspergillus niger*; *Cladosporium herbarum* și *Geotrichum candidum* se observă că mucegaiul care se inactivează cel mai rapid este *P. roqueforti* deoarece acest mucegai are o valoare z de 0,791 J/cm², iar mucegaiul care se inactivează cel mai greu este *A. candidus*, a cărui valoare

z este de 2,804 J/cm². Din tabelul 4.12. se poate observa că *P. expansum* se inactivează mai greu decât *P. roqueforti*, deși sunt formați din același tip de spor și au și aceeași culoare, însă în ceea ce privește mărimea sporului, sporii de *P. expansum* sunt mai mari decât sporii de *P. roqueforti*.

Tabelul 4.12. Caracteristicile sporilor de mucegaiuri utilizate în experienări

Mucegaiul	Tipul de spor	Mărimea sporului (μm)	Culoare	Aspectul suprafeței sporilor	Valoarea z (J/cm ²)
<i>P. expansum</i>	Fialospor	200 - 500	Verde	netedă	0,853
<i>P. roqueforti</i>	Fialospor	100 - 200	Verde	netedă	0,791
<i>P. camembertii</i>	Fialospor	200 - 400	Alb	netedă	1,802
<i>P. nalgiovense</i>	Fialospor	150 - 400	Alb	netedă	2,492
<i>A. candidus</i>	Fialospor	500 - 1000	Alb	netedă	2,804
<i>A. niger</i>	Fialospor	1000 – 3000	Negru	ruogoasă	1,919
<i>C. herbarum</i>	Blastospor	40 - 60	Verde brun	rugosă	1,606
<i>G. candidum</i>	Arthrospor	10 - 40	Alb	netedă	2,097

De asemenea, se mai poate observa că *P. camembertii* ($z = 1,802 \text{ J/cm}^2$), a cărui formațiune sporală este fialosporul se inactivează mai rapid decât *A. candidus* ($z = 2,804 \text{ J/cm}^2$) care este alcătuit din aceeași formațiune sporală. Aceste două mucegaiuri au aceeași culoare, însă mărimea sporului este diferită, astfel că sporii de *P. camembertii* sunt mai mici decât sporii de *A. candidus*. Din observațiile descrise până în acest moment se poate afirma că mărimea sporilor este un factor ce contribuie la eficiența inactivării mucegaiurilor prin PL.

Din rezultatele obținute, în acest experiment, se mai observă că dintre cele patru mucegaiuri de culoare albă, dar cu formațiunea sporală diferită, fialosporii sunt mai ușor distruși decât arthrosporii, cu excepția fialosporilor de *A. candidus* care se inactivează cel

mai lent, însă acest din urmă mucegai are cea mai mare formație sporală. În ceea ce privește mucegaiul *C. herbarum* ($z = 1,606 \text{ J/cm}^2$) și *A. niger* ($z = 1,919 \text{ J/cm}^2$) se poate observa că blastosporii sunt mai repede distruși decât fialosporii.

Concluzii parțiale

- Nivelul de inactivare a mucegaiurilor studiate crește odată cu creșterea fluenței și a numărului de pulsuri aplicat.
- Aplicând regresia liniară au fost estimate valorile timpului de reducere decimală și factorul z , în cazul inactivării sporilor de mucegai, iar pe baza valorilor obținute pentru acești parametri au fost realizate concluziile.
- Culoarea sporilor are importanță în ceea ce privește ușurința inactivării deoarece mucegaiurile deschise la culoare sunt inactivate mai greu decât cele închise la culoare; lucru dovedit de faptul că fialosporii verzi și negri se inactivează mai ușor decât fialosporii albi.
- Mărimea sporilor este un factor important pentru eficiența tratamentului cu PL, astfel că spori de dimensiuni mai mici sunt mai repede inactivați decât cei de dimensiuni mai mari; lucru dovedit de faptul că *P. expansum* se inactivează mai greu decât *P. roqueforti*, iar spori de *P. expansum* sunt mai mari decât spori de *P. roqueforti*.
- Din valorile obținute pentru coeficientul z se poate concluziona că tipul de spor nu are importanță în ceea ce privește eficiența inactivării ci doar culoarea și mărimea sporului.
- Cinetica inactivării celor 8 mucegaiuri a fost descrisă cu ajutorul modelului de ordinul întâi, modelul Bigelow, corelația dintre valorile experimentale și cele estimate de model a fost foarte bună și erorile standard calculate au valori mici, sugerând o bună estimare a parametrilor de inactivare.

5. Efectul de inactivare al pulsurilor de lumină asupra mucegaiurilor prezente pe cereale

Materiale și metode

Cereale - în acest studiu s-au utilizat următoarele cereale:

- a) 2 probe de grâu: - una originară din România de la firma Solaris Plant, România;
- una originară din Lleida, Spania, de la Facultatea de Agronomie din Lleida.
- b) 2 probe de secară: - una originară din România de la firma Solaris Plant, România;
- una originară din Lleida, Spania, de la Facultatea de Agronomie din Lleida.

Medii de cultură

Mediu selectiv pentru numărarea fungilor

Rose Bengal Chloramphenicol Agar (g/L): Peptonă papainică de soia – 5 g; Glucoză – 10 g; Fosfat monopotasic – 1 g; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,5 g; Rose bengale – 0,05 g; Chloramphenicol - 0,1 g; Agar agar bacteriologic – 13 g; pH (25°C) = 7,2 ± 0,2.

Materiale de ambalare

Pentru ambalarea în condiții aseptice a cerealelor s-a utilizat folie de polipropilenă, cu grosimea de 64 μm, permeabilă la O₂ și CO₂ la 110 și 550 cm³/m²/bar/zi, la 23°C și 0%RH, de la Tecnopack SRL, Mortara, Italia.

Metode de analiză

Determinarea umidității:

Conținutul inițial de apă al cerealelor a fost determinat prin metoda lentă, a uscării în etuvă la 103 ± 2°C, timp de 2 h.

Determinarea a_w

Determinarea activității apei s-a realizat cu ajutorul aparatului AQUALAB CX-2 (Decagon, Pullman, WA, USA).

Determinarea pH-ului

Determinarea pH-ului s-a realizat cu ajutorul pH-metrului XS-510 Cyber-Scan.

Aceste analize au fost efectuate doar pentru probele martor.

Tratamentul cu PL

O cantitate de 10 g de grâu/secară a fost ambalată aseptically în pungi confecționate cu ajutorul aparatului de ambalat ROVE BLOC, după care au fost tratate cu pulsuri de lumină. Cerealele astfel ambalate au fost așezate într-un singur strat în interiorul pungii în scopul de putea fi expuse luminii pulsante pe ambele părți. Punga a fost suficient de strâmtă (8 x 10 mm), ceea ce a permis așezarea boabelor într-un singur strat și a minimizat rotația boabelor la întoarcerea pungii. Au fost efectuate două grupuri de experimente: 1) în primul grup de experimente a fost studiat efectul numărului de pulsuri asupra inactivării mucegaiurilor prezente în microbiota cerealelor. Fluența pulsului a fost de $0,4 \text{ J/cm}^2$ în acest grup de experimente, iar numărul de pulsuri: 2x5; 2x10; 2x15; 2x20; 2x30 și 2x40. Pentru acest set de experimente au fost funcționale ambele lămpi. În acest caz, energia primită de cereale și care a contribuit la inactivarea mucegaiurilor, a variat de la $6,4 \text{ J/g}$ la aplicarea 2x5 pulsuri de lumină la $51,2 \text{ J/g}$ la aplicarea a 2x40 de pulsuri de lumină (calculul a luat în considerare fluența, numărul de pulsuri și suprafața stratului de cereale formată din 10 g de probă ambalată în pungă).

2) în cel de-al doilea grup de experimente tratamentele s-au efectuat cu fluența de $0,4 \text{ J/cm}^2$, iar numărul de pulsuri a fost de: 2x5; 2x10; 2x15 și 2x20. Tot în acest experiment au fost utilizate filtrele: Pyrex și Makrolon pentru fluența și numărul de pulsuri specificate mai sus. Pentru acest grup de experimente s-a utilizat un dispozitiv metalic special care a acoperit lampa de jos a aparatului, în acest mod fiind funcțională doar lampa de deasupra. În interiorul acestui dispozitiv a fost amplasată proba după care a fost acoperită cu filtrul de lumină. În timpul acestor tratamente, cerealele au primit un număr egal de pulsuri pe ambele părți, ca urmare a întoarcerii pungii, la jumătatea duratei de tratament astfel încât numărul total de pulsuri primit de cereale a fost de 10, 20, 30 și 40.

Analize microbiologice

În condiții sterile, fiecare probă a fost omogenizată cu 90 mL apă peptonată sterilă (0,1%) într-un omogenizator Stomacher Lab Blender 400 (Seward medical, London, England), timp

de 2 minute. După omogenizare, din omogenat au fost făcute diluții seriale și inoculate în placi Petri. Peste fiecare probă a fost turnat 10mL de mediu Rose Bengal Chloramphenicol Agar (RBCA Biokar Diagnostics, Beauvais, France). Plăcile Petri au fost termostatate în termostat la temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ timp de 5 zile (ISO 21527-2/2009). După termostatare au fost numărate coloniile, iar rezultatele au fost exprimate sub forma: Log ufc/g/probă. Toate probele au fost lucrate în duplicat.

Determinarea capacității de germinare a cerealelor

Puterea de germinare a semințelor de grâu și secară a fost evaluată ca procent de semințe capabile să germineze. O sută de semințe tratate cu PL au fost puse între două discuri de filtru umezite într-un vas Petri. Același lucru a fost realizat și pentru o sută de semințe netratate, fiind considerată proba martor. Apa a fost pulverizată pe boabe din 12 în 12 h, pe o perioada de 48 h la 25°C pentru a oferi semințelor viabile să germineze suficientă umiditate. Apoi, semințele au fost examinate vizual, iar procentul de semințe germinate a fost determinat. Puterea germinativă a semințelor tratate cu PL a fost comparată cu cea semințelor netratate.

Rezultate obținute și interpretarea lor

Inactivarea mucegaiurilor prezente în microbiota grâului și secarei

După tratamentul cu pulsuri de lumină reducerea maximă a numărului de mucegaiuri a crescut progresiv de la 2,53 log ufc/g la aplicarea a 2x5 pulsuri la 3,81 log ufc/g în cazul grâului cu încărcătura microbiană inițială de $2,2 \times 10^5$ ufc/g, pentru tratamentul cu 2x40 de pulsuri. Rezultate similare au fost obținute pentru grâul cu încărcătura microbiană inițială de $1,5 \times 10^4$ ufc/g. În acest caz, nivelul de inactivare a crescut progresiv de la 1,21 log ufc/g la aplicarea a 2x5 pulsuri la 3 log ufc/g la aplicarea a 2x40 de pulsuri. În fig. 5.1. este reprezentată inactivarea sporilor de mucegai în urma tratamentului cu PL pentru ambele probe de grâu.

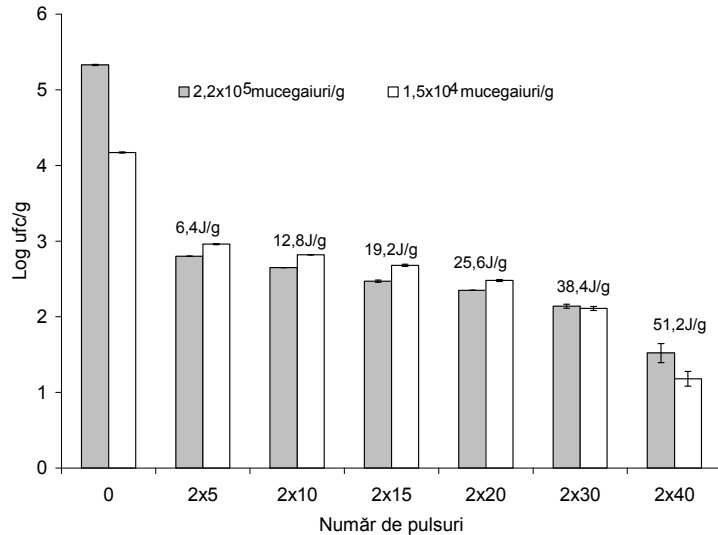


Figura 5.1. Inactivarea mucegaiurilor în probele de grâu după tratamentul cu PL (caracteristicile pulsului: durata 0,3 ms; fluența: 0,4 J/cm²)

În urma acestui prim experiment s-au observat diferențe semnificative ($p < 0,05$) între toate tratamentele, acest lucru indicând faptul că prin utilizarea unui număr cât mai mare de pulsuri va rezulta o inactivare a mucegaiurilor mai mare. De asemenea, în figura 5.1. se observă că în cazul probelor de grâu cu încărcătura inițială mai mică, și numărul de mucegaiuri supraviețuitoare a fost mai mic. Spre exemplu, atunci când au fost aplicate un număr de 2x40 pulsuri probelor de grâu cu încărcătura inițială de $2,2 \times 10^5$ ufc/g, numărul de mucegaiuri supraviețuitoare a fost de 1,52 log ufc/g, în timp ce pentru grâul cu încărcătura inițială de $1,5 \times 10^4$ ufc/g, numărul de mucegaiuri supraviețuitoare a fost de 1,18 log ufc/g.

Ca și în cazul grâului, și pentru secară, au fost efectuate două tipuri de experimente pentru a observa gradul de inactivare al mucegaiurilor prezente pe probe și pentru a verifica dacă ipotezele susținute în cazul probelor de grâu se confirmă și pentru secară. În urma tratamentului cu PL inactivarea maximă a fost obținută pentru tratamentul cu 40 de pulsuri și pentru probele cu încărcătura microbiană inițială de $3,5 \times 10^4$ ufc/g cât și pentru cele cu încărcătura microbiană inițială de $4,4 \times 10^3$ ufc/g. Nivelul inactivării mucegaiurilor, așa cum se observă și din fig. 5.2. a crescut progresiv odată cu creșterea numărului de pulsuri. Pentru tratamentul cu 2x5 pulsuri, nivelul inactivării a fost de 1,13 log ufc/g și 0,56 log ufc/g pentru probele cu încărcătura microbiană inițială de $3,5 \times 10^4$ ufc/g, respectiv $4,4 \times 10^3$ ufc/g, iar pentru tratamentul cu 2x40 de pulsuri nivelul inactivării a fost de 2 log ufc/g și 1,38 log ufc/g

pentru probele cu încărcătura microbiană inițială de $3,5 \times 10^4$ ufc/g, respectiv $4,4 \times 10^3$ ufc/g. În acest experiment, s-au observat diferențe semnificative ($p < 0,05$) între toate tratamentele, acest lucru indicând faptul că nivelul inactivării mucegaiurilor va crește odată cu creșterea numărului de pulsuri .

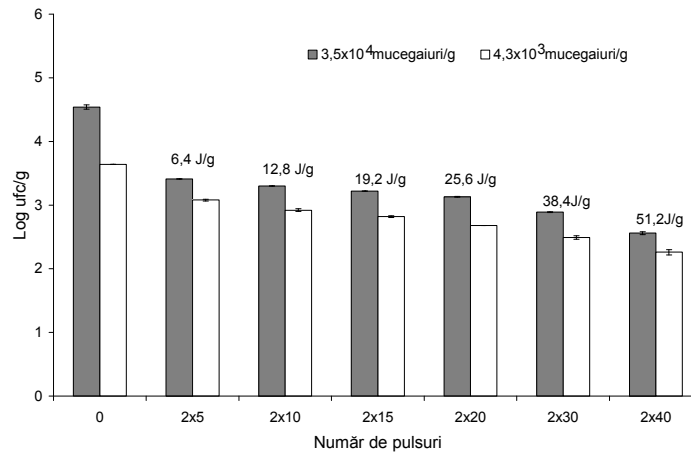


Figura 5.2. Inactivarea mucegaiurilor în probele de secară după tratamentul cu PL (caracteristicile pulsului: durata 0,3 ms; fluența: 0,4 J/cm²)

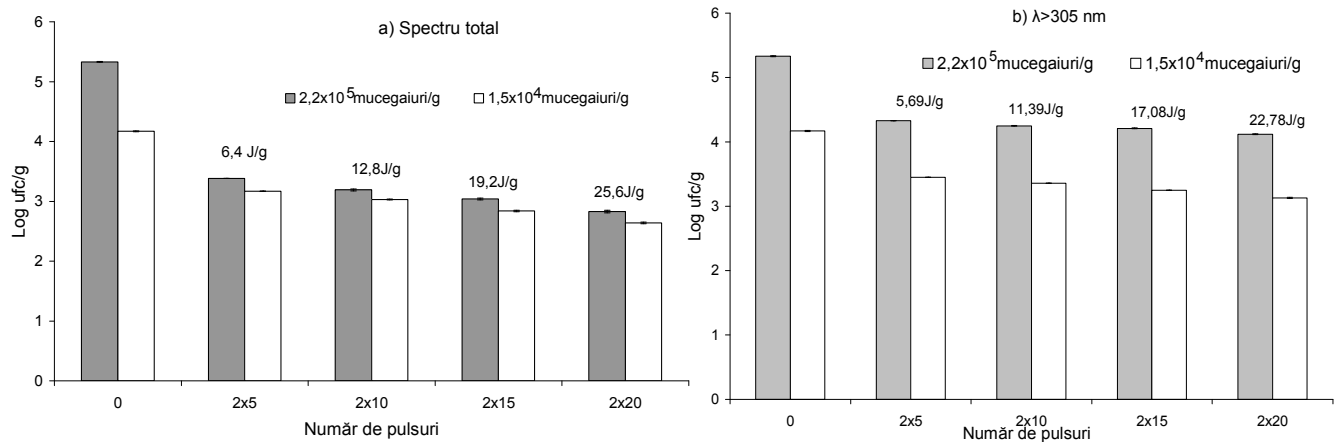
Nivelurile scăzute ale inactivării mucegaiurilor din ambele probe de secară obținute în acest experiment se pot datora faptului că semințele de secară au o culoare mai închisă decât semințele de grâu, iar pentru obținerea unor niveluri mai ridicate de inactivare este nevoie de o cantitate mai mare de energie. Se știe că produsele închise la culoare absorb mai multă energie decât produsele deschise la culoare. Un alt factor care probabil a influențat acest tratament a fost încărcătura microbiană inițială. Cu cât încărcătura microbiană este mai mică și nivelul de inactivare este mai mic.

Inactivarea mucegaiurilor prezente în microbiota grâului și secarei în prezența filtrelor Pyrex și Makrolon

În cel de-al doilea grup de experimente fluența utilizată pe parcursul tratamentelor a fost de 0,4 J/cm², iar numărul de pulsuri a fost de: 2x5; 2x10; 2x15; și 2x20. De asemenea, în acest experiment s-au utilizat și două filtre: filtrul Pyrex și filtrul Makrolon. Pentru probele de grâu cu încărcătura microbiană inițială de $2,2 \times 10^5$ ufc/g, decontaminarea maximă a fost de

2,5 log ufc/g la aplicarea a 2x20 de pulsuri, iar pentru probele cu încărcătura microbiană inițială de $1,5 \times 10^4$ ufc/g nivelul maxim de decontaminare a fost de 1,53 log ufc/g în aceleași condiții de tratament (Fig. 5.3.a).

În cel de-al doilea grup de experimente s-au utilizat și filtrele Pyrex și Makrolon pentru a observa dacă spectrul de radiații utilizat în timpul tratamentelor cu PL influențează inactivarea mucegaiurilor. Filtrul Pyrex blochează tot spectrul luminii până la lungimea de undă de 305 nm și permite trecerea luminii UVA, UVB și VIS, iar filtrul Makrolon blochează tot spectrul luminii până la lungimea de undă de 400 nm și permite trecerea luminii VIS. În urma tratamentelor cu filtrul Pyrex s-au obținut următoarele niveluri de inactivare: 1,21 log ufc/g în cazul probelor cu încărcătura microbiană inițială de $2,2 \times 10^5$ ufc/g și 1,04 log ufc/g pentru probele cu încărcătura microbiană inițială de $1,5 \times 10^4$ ufc/g în urma aplicării tratamentului cu 2x20 de pulsuri (Fig. 5.3.b). Pentru tratamentele cu filtrul Makrolon nivelul inactivării este aproape inexistent așa cum se observă și din figura 5.3 c. Dintre cele trei tratamente cu fluența de $0,4 \text{ J/cm}^2$, tratamentul fără filtre a fost cel mai eficient în cazul inactivării mucegaiurilor prezente pe probele de grâu, așa cum se observă și din graficele prezentate mai jos.



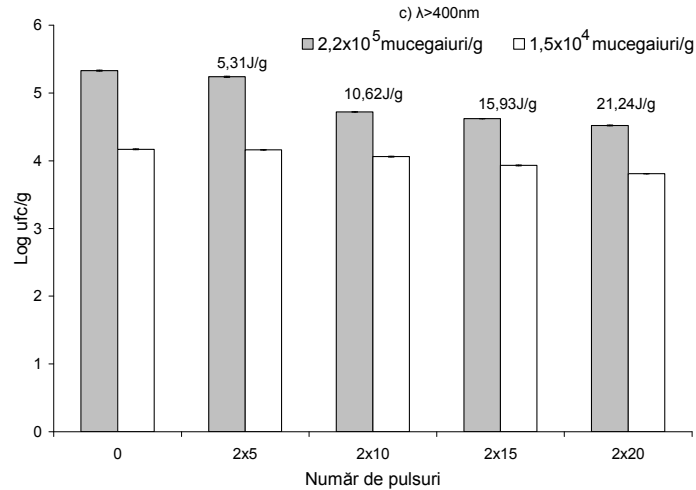
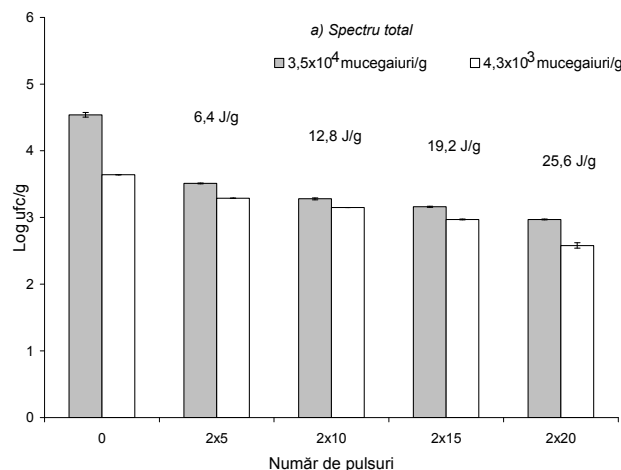


Figura. 5.5. Influența spectrului luminii la inactivarea mucegaiurilor prezente pe probele de grâu cu încărcături inițiale diferite (caracteristicile pulsului: durata 0,3 ms; fluența luminii nefiltrate 0,4J/cm²)

În urma aplicării tratamentului cu PL cu filtre și fără filtre pentru probele de secară, pentru tratamentul cu 2x5 pulsuri nivelul inactivării a fost de 1 log ufc/g și 0,35 log ufc/g pentru probele cu încărcătura microbiană inițială de $3,5 \times 10^4$ ufc/g, respectiv $4,4 \times 10^3$ ufc/g. Pentru tratamentul cu 2x20 de pulsuri nivelul inactivării a fost de 1,57 log ufc/g și 1,06 log ufc/g pentru probele cu încărcătura microbiană inițială de $3,5 \times 10^4$ ufc/g, respectiv $4,4 \times 10^3$ ufc/g (fig. 5.4 a). În cazul utilizării filtrului Pyrex nivelul de inactivare al mucegaiurilor din probele de secară a fost și mai mic, așa cum se observă în figura 5.4 b. Când a fost utilizat filtrul Makrolon nivelul inactivării a fost aproape zero în comparație cu nivelurile obținute pentru celelalte două tratamente, tratamentul fără filtru și cu filtru Pyrex (fig. 5.4 c).



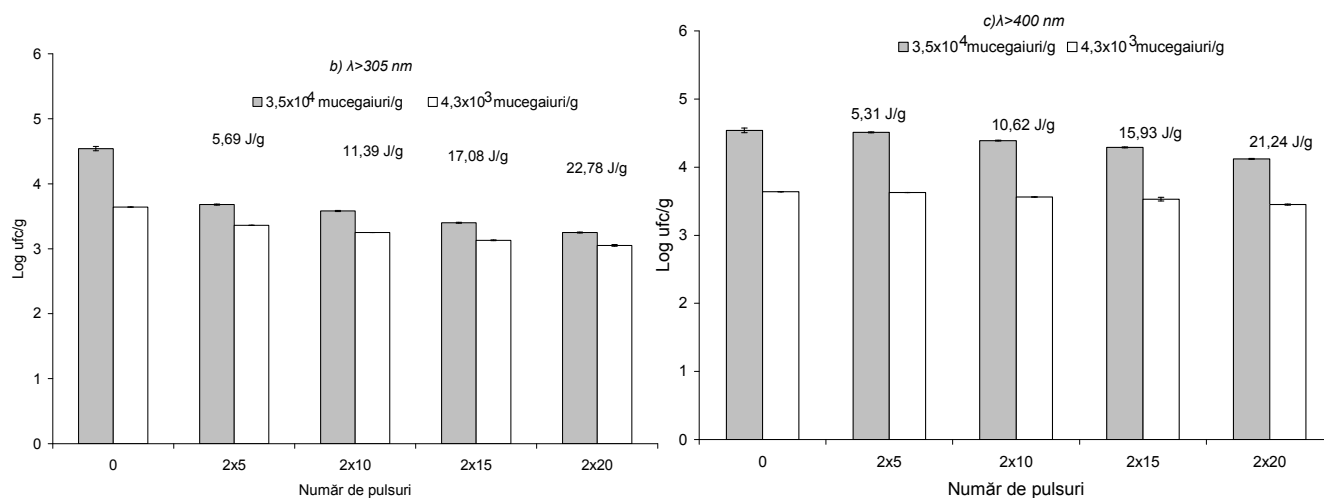


Figura. 5.6. Influența spectrului luminii la inactivarea mucegaiurilor prezente pe probele de secară cu încărcături inițiale diferite (caracteristicile pulsului: durata 0,3 ms; fluența luminii nefiltrate $0,4 \text{ J/cm}^2$)

Efectul PL cu privire la capacitatea de germinare a semințelor de cereale

Tratamentul cu PL nu a afectat în mod substanțial puterea de germinare a semințelor de cereale (tabelul 5.3. și 5.4.). Puterea de germinare a semințelor de grâu netratate a fost 91 - 94%, în timp ce cea a semințelor tratate a variat de la 89% la 76% pentru probele de grâu cu încărcătura inițială de $2,2 \times 10^5$ ufc/g și de la 92% la 80% pentru grâul cu încărcătura inițială de $1,5 \times 10^4$ ufc/g, după aplicarea de 10 – 80 de pulsuri cu fluența de $0,4 \text{ J/cm}^2/\text{puls}$.

În mod similar puterea de germinare a semințelor de secară netratate a fost de 94 – 95%, în timp ce cea a semințelor tratate a variat de la 91% la 78% pentru secara cu încărcătura inițială de $3,5 \times 10^4$ ufc/g și de la 94% la 84% pentru probele de secară cu încărcătura inițială de $4,3 \times 10^3$ ufc/g, în aceleași condiții de tratament ca și la grâu.

Tabelul 5.4. Puterea de germinare a semințelor de grâu tratate cu PL (caracteristicile pulsului: durata 0,3 ms, fluența de 0,4 J/cm²)

Încărcarea inițială, ufc/g	Puterea de germinare, %							
	Număr de pulsuri	0	2x5	2x10	2x15	2x20	2x30	2x40
	Nivelul energiei	0	6, 4J/g	12,8J/g	19,2J/g	25,6J/g	38,4J/g	51,2J/g
2,2x10⁴		91 ± 0,7a	89 ± 1,4a	87 ± 0,7a	84 ± 0,4b	80 ± 0,7c	78 ± 0,7c	76 ± 0,7c
1,5x10³		94 ± 0,7a	92 ± 1,4a	90 ± 0,1a	88 ± 0,7a	86 ± 0,7b	84 ± 1,4b	80 ± 0,2c

Tabelul 5.5. Puterea de germinare a semințelor de secară tratate cu PL (caracteristicile pulsului: durata 0,3 ms, fluența de 0,4 J/cm²)

Încărcarea inițială, ufc/g	Puterea de germinare, %							
	Număr de pulsuri	0	2x5	2x10	2x15	2x20	2x30	2x40
	Nivelul energiei	0	6, 4J/g	12,8J/g	19,2J/g	25,6J/g	38,4J/g	51,2J/g
3,5x10⁵		94 ± 0,7a	91 ± 1,4b	89 ± 0,7b	86 ± 0,0c	83 ± 1,4d	82 ± 2,1d	78 ± 1,4d
4,3x10⁴		95 ± 1,4a	94 ± 0,0a	93 ± 0,7a	91 ± 0,7a	89 ± 0,0b	88 ± 0,7c	84 ± 1,4d

Literele a, b, c, d indică diferențe comparativ cu proba martor considerând valoarea test $p < 0,05$

Concluzii parțiale

- Pe baza rezultatelor obținute, tratamentul cu PL pare să fie o alternativă fezabilă pentru inactivarea mucegaiurilor prezente pe boabele de cereale.
- Pentru fluențele testate în aceste experimente nu s-a obținut decontaminarea totală a mucegaiurilor, însă, începând de la energia de 32 J/cm² se obține o reducere sub pragul de 3 log ufc/g, valoare la care se consideră că poate avea loc conservarea cu succes a boabelor/recoltelor.
- Inactivarea mucegaiurilor prin tratarea cu PL este cauzată de expunerea la lumina UV, mai ales lumina UV-C, iar VIS nu are niciun efect cuantificabil asupra inactivării mucegaiurilor prezente în microbiota naturală a grâului și secarei.

- Cea mai mică modificare a spectrului de lumină UV, utilizat în timpul tratamentelor cu PL are un impact negativ semnificativ asupra eficienței tratamentului.
- În timpul tratamentului cu PL nu s-a observat schimbarea culorii probelor.
- Puterea de germinare a grâului și secarei este afectată de tratamentul cu PL, dar nu într-o măsură foarte mare.
- Rezultatele acestui studiu au demonstrat că pulsurile luminoase pot fi aplicate cerealelor pentru inactivarea mucegaiurilor.

6. Efectul de inactivare al pulsurilor de lumină la tratarea sucului de mere

Materiale și metode

Microorganismul

În acest experiment s-a utilizat o cultură pură de *Penicillium expansum* UdLTA 3.80, izolată de pe mere păstrate într-un depozit frigorific din Lleida, Spania, tulpină inclusă în colecția de fungi a Departamentului de Tehnologii Alimentare a Universității Lleida. Izolatul a fost depozitat în eprubete pe mediu înclinat cu PDA.

Inoculul

Tulpina *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 a fost inoculată în eprubete cu mediu PDA înclinat ce s-au incubat la 25°C până în momentul sporulării. Suspensia de spori a fost pregătită dintr-o cultură veche de 2 săptămâni. Sporii de mucegai au fost raclați de pe mediu cu ajutorul ansei sterile și suspendați în apă distilată sterilă cu Tween 80% (0,005%). Concentrația de spori a fost determinată cu ajutorul unei camere Thoma.

Sucul de mere

Sucul de mere utilizat în experimente a fost un suc limpede (galben), 12°Bx. Sucul a fost contaminat artificial cu spori de *Penicillium expansum* UdLTA 3.80. Contaminarea a fost realizată în acest experiment pentru 2 niveluri de contaminare: $2,3 \times 10^4$ și 3×10^5 spori/mL. Înainte de tratamentul cu PL, sucul contaminat artificial a fost agitat timp de 10 minute la 200 rpm și 25°C. După agitare sucul a fost turnat în condiții sterile în cutii Petri pentru a fi tratat cu PL. Pentru tratamentul cu PL au fost utilizate trei cantități diferite de suc pentru

fiecare nivel de contaminare, astfel: 20 mL (înălțimea stratului 6 mm); 30 mL (înălțimea stratului 8 mm) și 40 mL (înălțimea stratului 10 mm).

Metode de analiză

Determinarea pH-ului

Determinarea pH-ului sucului de mere s-a realizat cu ajutorul pH-metrului XS-510 Cyber-Scan.

Determinarea substanței uscate

Substanța uscată a sucului de mere s-a determinat cu ajutorul unui refractometru digital Palette PR-32, Atago U.S.A., Inc. Rezultatele au fost exprimate în °Brix.

Determinarea culorii

Culoarea sucului de mere a fost determinată cu ajutorul colorimetrului Minolta Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta Sensing, INC Osaka, Japonia), calibrat cu o placă albă standard ($Y = 94.00$, $x = 0.3158$, $y = 0.3322$). Trei citiri pentru coordonatele: L (luminos); a* (verde); b* (galben) au fost înregistrate pentru probă. În plus, diferența de culoare totală (ΔE) a fost calculată folosind ecuația 5, în comparație cu martorul și clasificată conform Cserhalmi *et al.* (2006).

$$\Delta E = (\Delta a^2 + \Delta b^2 + \Delta L^2)^{1/2}$$

Fiecare măsurare a fost efectuată în duplicat și a fost calculată media a două determinări ± deviația standard.

Tratamentul cu PL

Pentru acest experiment s-a utilizat instalația **XeMaticA-2L System** a cărei descriere a fost realizată în subcapitolul 2.2. În acest studiu au fost efectuate două grupuri de experimente:

1) în primul grup de experimente a fost studiat efectul numărului de pulsuri; al fluenței; al gradului de contaminare și al înălțimii stratului de probă asupra inactivării mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 contaminat artificial în suc de mere. În acest experiment fluența a fost de 0,2 J/cm² și 0,4 J/cm²/puls, iar numărul de pulsuri aplicate a fost de 2x5;

2x10; 2x15; 2x20; 2x30 și 2x40. Pentru tratamentele din acest grup de experimente s-au utilizat ambele lămpi ale aparatului.

2) în cel de-al doilea grup de experimente tratamentele s-au efectuat cu fluența de $0,4 \text{ J/cm}^2$, iar numărul de pulsuri aplicate a fost de: 5; 10; 15; 20; 30 și 40. Tot în acest experiment au fost utilizate filtrele: Pyrex și Makrolon pentru fluența și numărul de pulsuri specificate mai sus. În timpul acestor experimente a fost funcțională doar lampa de deasupra.

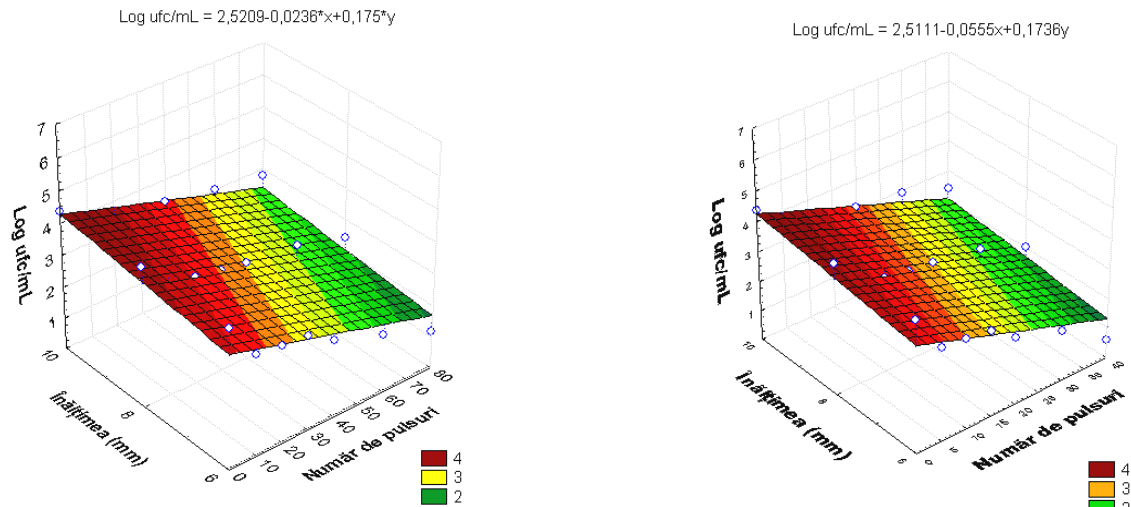
Analize microbiologice

Numărul de mucegaiuri a fost determinat în conformitate cu standardul ISO 21527-2/2009; pentru fiecare probă au fost făcute diluții seriale în apă peptonată sterilă (0,1%). După omogenizare, din suspensiile obținute au fost realizate inoculări în plăci Petri. Peste fiecare probă a fost turnat 10 mL de mediu Rose Bengal Chloramphenicol Agar (RBCA Biokar Diagnostics, Beauvais, France). Placile Petri au fost termostatate în termostat la temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ timp de 5 zile. După termostatare au fost numărate coloniile, iar rezultatele au fost exprimate sub forma: Log ufc/g/probă. Toate probele au fost lucrate în duplicat.

Rezultate obținute și interpretarea lor

Efectul fluenței și al numărului de pulsuri asupra inactivării mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80

Așa cum se observă din figura 6.1. (a și b), în urma tratamentului cu PL inactivarea mucegaiului *P. expansum* UdLTA 3.80 a crescut progresiv odată cu creșterea numărului de pulsuri și a fluenței aplicate ($p < 0,05$). Reducerile decimale obținute în urma tratamentului cu PL au variat de la 1,20 log ufc/mL, la aplicarea fluenței de $0,2 \text{ J/cm}^2$ și 10 pulsuri, la 3,21 log ufc/mL pentru aceeași fluență și 80 de pulsuri. În mod similar, reducerile decimale au variat de la 1,27 la 3,76 log ufc/mL la aplicarea fluenței de $0,4 \text{ J/cm}^2$ și 10 respectiv 80 de pulsuri.



a) Fluența 0,2 J/cm²

b) Fluența 0,4 J/cm

Figura 6.1. Diagrama de suprafață ce descrie influența numărului de pulsuri și a fluenței la inactivarea mucegaiului *P.expansum* UdLTA 3.80

Rezultatele obținute în acest experiment demonstrează că tratamentul cu PL este eficient la inactivarea mucegaiului *P. expansum* UdLTA 3.80, însă sunt necesare cercetări viitoare în care nivelul fluenței/numarul de pulsuri să fie mai mare, întrucât numărul de pulsuri și fluențele utilizate în acest studiu nu au fost suficiente pentru a obține un nivel al inactivării egal sau mai mare de 5 log ufc/mL; acest nivel fiind recomandat de către FDA pentru distrugerea patogenilor în procesul de pasteurizare al sucurilor. De asemenea, rezultatele obținute reprezintă un punct de start în explorarea tratamentului cu PL la inactivarea mucegaiurilor pentru procesarea sucurilor cu diferite nivele de claritate.

Efectul înălțimii stratului de lichid asupra inactivării mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80

După tratamentul cu PL, la aplicarea a 80 de pulsuri și fluența de 0,2 și 0,4 J/cm² (Fluența totală = număr de pulsuri x fluența aplicată), pentru înălțimi ale stratului de probă diferite s-a observat că pentru inoculul de 2,3x10⁴spori/mL și înălțimea de 6 mm s-a obținut cel mai mare nivel de inactivare (fig. 6.2.). În aceleași condiții de tratament, cel mai mic nivel de inactivare s-a obținut pentru cele două inoculuri la înălțimea stratului de suc de 10 mm.

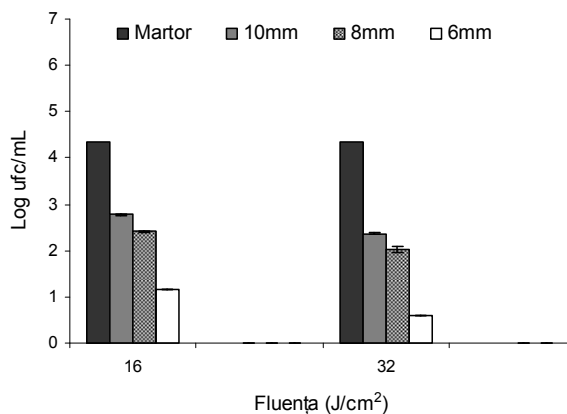


Figura 6.2. Efectul PL asupra inactivării mucegaiului *P.expansum* UdLTA 3.80 la diferite înălțimi ale stratului de lichid

Efectul nivelului de contaminare asupra inactivării mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80

Nivelul de inactivare pentru *P. expansum* UdLTA 3.80 contaminat artificial în suc de mere a scăzut cu creșterea nivelului de contaminare, indiferent de fluența aplicată (Fig. 6.3). Când a fost aplicată fluența de 16 J/cm² (80 de pulsuri cu fluența de 0,2 J/cm²), nivelul de inactivare a variat de la 1,30 log ufc/mL la 3,21 log ufc/mL pentru nivelul de contaminare de 3x10⁵ ufc/mL, respectiv 2,3x10⁴ ufc/mL. În condiții similare, dar la o fluență de 32 J/cm² (80 de pulsuri cu fluența de 0,4 J/cm²), nivelul de inactivare a variat de la 2,66 log ufc/mL la 3,76 log ufc/mL.

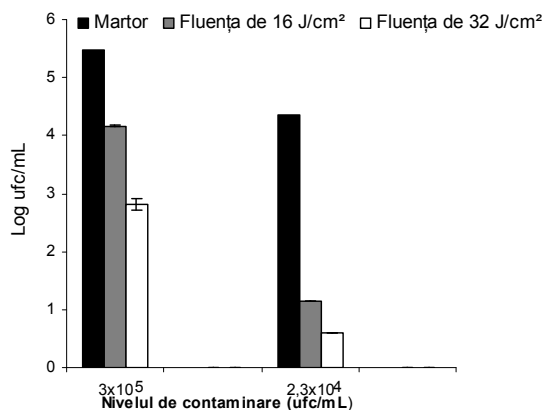


Figura 6.3. Efectul PL asupra inactivării *P. expansum* UdLTA 3.80 la diferite niveluri de contaminare

Din rezultatele obținute, rezultă că mărimea inocului este un factor ce influențează eficiența tratamentului cu PL, astfel că cu cât cantitatea de inocul este mai mare cu atât nivelul de inactivare este mai mic.

Efectul filtrelor Pyrex și Makrolon asupra inactivării mușcăiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80

În cazul tratamentelor efectuate în prezența filtrelor Pyrex și Makrolon s-a utilizat fluența de $0,4 \text{ J/cm}^2$, inoculurile de $2,3 \times 10^4$; 3×10^5 spori/mL și înălțimea stratului de probă de 6, 8 și 10 mm. Pentru tratamentele cu filtrul Pyrex, inoculul de $2,3 \times 10^4$ spori/mL și înălțimea stratului de probă de 6 mm, nivelul inactivării a variat de la 0,75 log ufc/mL la 1,18 log ufc/mL la aplicarea a 10 respectiv 80 de pulsuri. Pentru înălțimile stratului de probă de 8 și respectiv 10 mm, nivelul inactivării a variat de la 0,66 log ufc/mL la 1,06 log ufc/mL, respectiv de la 0,61 la 0,95 log ufc/mL, în aceleași condiții de tratament. În cazul tratamentelor cu filtrul Makrolon, nivelul de inactivare pentru inoculul de $2,3 \times 10^4$ spori/mL și cele trei înălțimi ale stratului de probă, a variat de la 0,02 la 0,68 log ufc/mL (Fig. 6.4.).

Când a fost utilizat inoculul de 3×10^5 spori/mL și înălțimea stratului de probă de 6 mm, nivelul inactivării a variat de la 0,75 la 1,21 log ufc/mL pentru 10 respectiv 80 de pulsuri. În aceleași condiții de tratament, însă pentru înălțimea stratului de probă de 8 și respectiv 10 mm, nivelul inactivării a variat de la 0,72 la 1,14 log ufc/mL și respectiv, de la 0,69 la 1,01 log ufc/mL. La utilizarea filtrului Makrolon, pentru inoculul de 3×10^5 spori/mL, nivelul inactivării a variat de la 0,01 la 0,86 log ufc/mL (Fig. 6.5.).

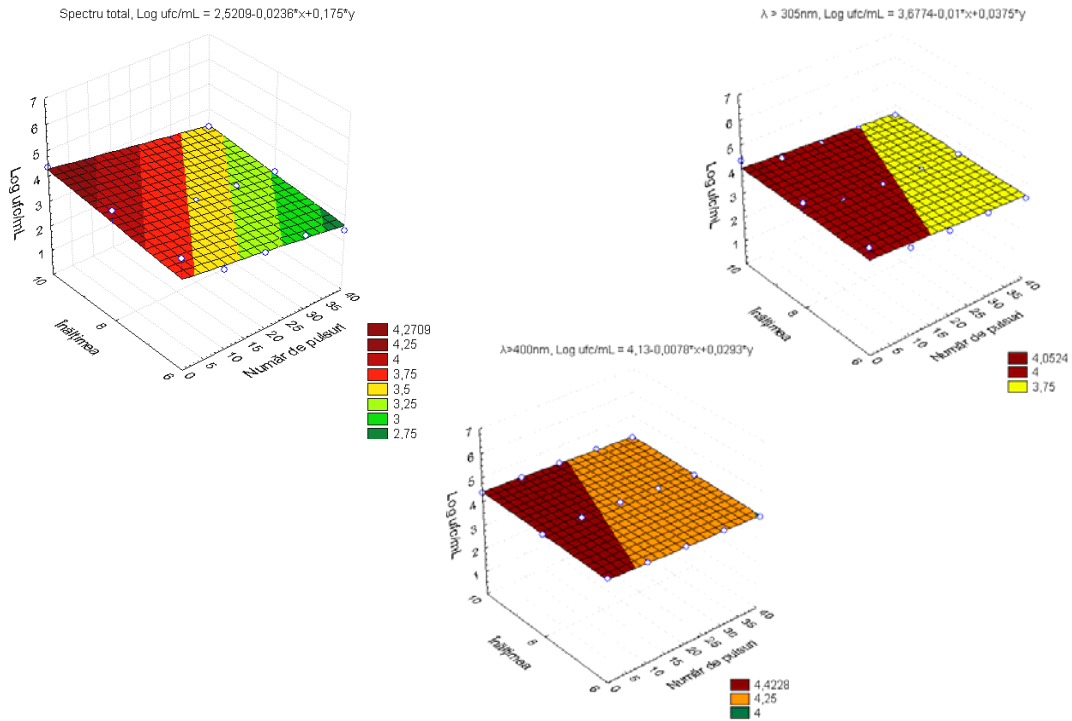


Figura 6.4. Efectul PL asupra mucegaiului *P.expansum* UdLTA 3.80 în prezența sau absența filtrelor (fluența de $0,4 \text{ J/cm}^2$, inocul de $2,3 \times 10^4$ spori/mL)

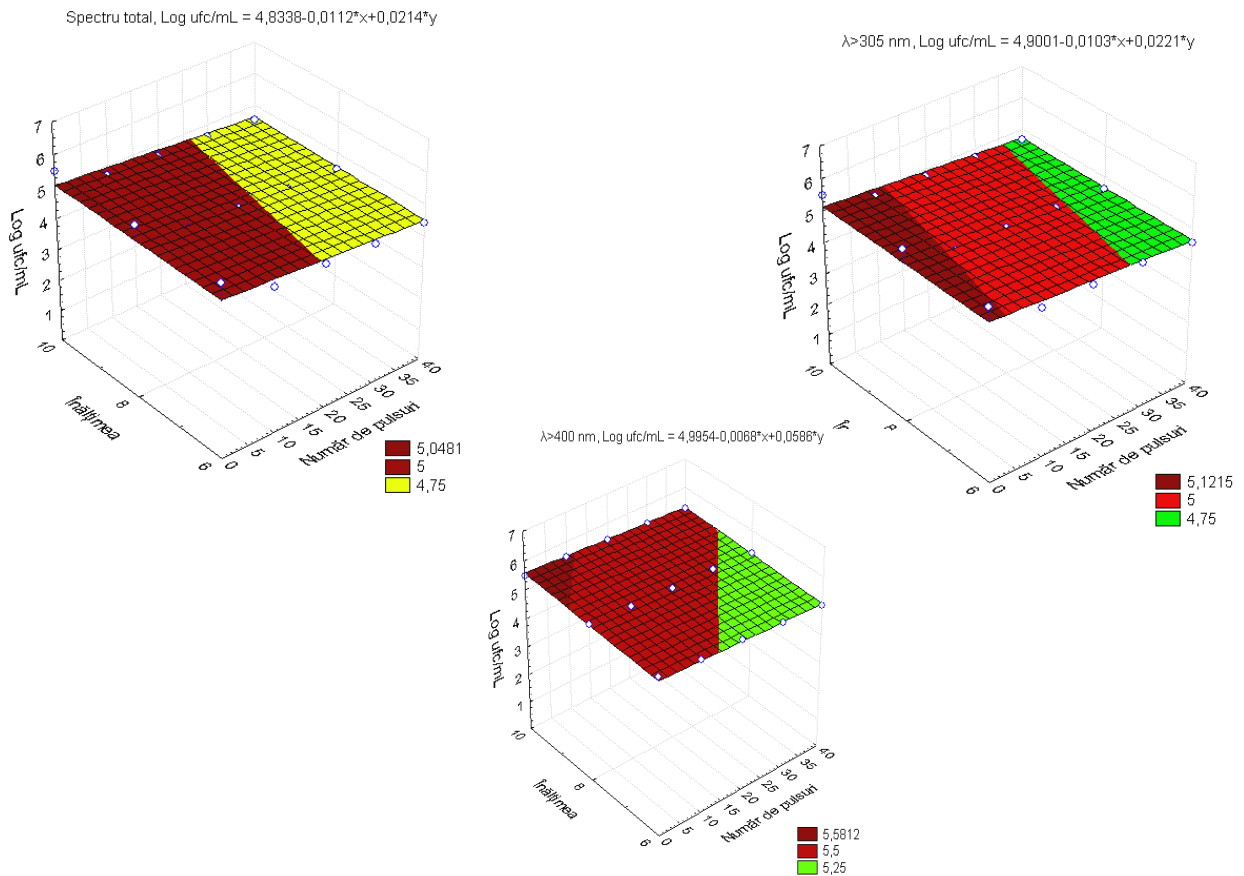


Figura 6.5. Efectul PL asupra mucegaiului *P.expansum* UdLTA 3.80 în prezența sau absența filtrelor (fluența de $0,4 \text{ J/cm}^2$, inocul de 3×10^5 spori/mL)

Efectul PL asupra pH-ului, substanței uscate și a culorii sucului de mere inoculat cu *P. expansum* UdLTA 3.80

Diferențele pentru indicele de culoare totală (ΔE) au avut valori scăzute pentru fluența de $0,4 \text{ J/cm}^2$, fiind cuprinse între 0,00-0,50 și au fost încadrate ca fiind "invizibile", în conformitate cu clasificarea făcută de Cserhalmi *et al.* (2006), în timp ce pentru tratamentul cu fluența de $0,8 \text{ J/cm}^2$, valorile pentru indicele de culoare totală au fost cuprinse între 0,50-1,50 fiind clasificate ca "ușor vizibile". În ceea ce privește calitatea produsului, pH-ul sucului și substanța uscată acestea nu au fost afectate după aplicarea tratamentului cu PL. În urma acestor determinări, rezultă că tratamentul cu PL nu afectează calitățile senzoriale și de compoziție ale lichidelor.

Concluzii parțiale

- Efectul PL asupra decontaminării fungice a sucului de mere este dependent de gradul de contaminare, înălțimea stratului de lichid și intensitatea tratamentului efectuat pentru tulpina *P. expansum* UdLTA 3.80.
- Tratamentul cu PL nu produce modificări ale culorii sucului de mere, atât timp cât tratamentul nu este foarte puternic, dar induce modificări ușoare când crește numărul de pulsuri.
- Componenta UV a pulsurilor nu trebuie să lipsească din spectrul pulsurilor pentru ca pulsurile să aibă efectul scontat asupra inactivării mucegaiului *P. expansum* UdLTA 3.80.
- Pulsurile de lumină ar putea fi o alternativă simplă la metodele convenționale pentru inactivarea mucegaiului *P. expansum* UdLTA 3.80 și, prin urmare, o tehnică importantă pentru conservarea sucurilor.
- Studii suplimentare trebuie efectuate pentru a verifica aplicabilitatea tratamentului cu PL la scară industrială.
- Pentru transpunerea procedurii de tratare a sucului de mere cu PL în vederea reducerii numărului de mucegaiuri este necesar să se optimizeze tratamentul pentru următorii parametri: înălțimea stratului de lichid și durata tratamentului în funcție de gradul de contaminare.

7. Efectul tratamentelor atermice (pulsuri de lumină, câmpuri electrice pulsatorii de înaltă intensitate, ultrasunete) și al tratamentului termic asupra inactivării mucegaiurilor prezente în lichide

Materiale și metode

Materiale utilizate în experimentări

Sucul de mere

Sucul de mere utilizat în experimente a fost un suc limpede (galben), 12°Bx.

Sucul a fost contaminat artificial cu spori de *Penicillium expansum* UdLTA 3.80.

Microorganismul

Tulpina *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 a fost inoculată în eprubete cu mediu PDA înclinat ce s-au incubat la 25°C până în momentul sporulării. Suspensia de spori a fost pregătită dintr-o cultură veche de 2 săptămâni. Sporii de mucegai au fost raclați de pe mediu cu ajutorul ansei sterile și suspendați în apă distilată sterilă cu Tween 80% (0,005%). Concentrația de spori a fost determinată cu ajutorul unei camere Thoma.

Metode de analiză

Determinarea pH-ului

Determinarea pH-ului sucului de mere s-a realizat cu ajutorul pH-metrului XS-510 Cyber-Scan.

Determinarea substanței uscate

Substanța uscată a sucului de mere s-a determinat cu ajutorul unui refractometru digital Palette PR-32, Atago U.S.A., Inc. Rezultatele au fost exprimate în °Brix.

Determinarea culorii

Culoarea sucului de mere a fost determinată cu ajutorul colorimetrului Minolta Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta Sensing, INC Osaka, Japonia), calibrat cu o placă albă standard ($Y = 94.00$, $x = 0.3158$, $y = 0.3322$). Trei citiri pentru coordonatele: L (luminos); a* (verde); b* (galben) au fost înregistrate pentru probă. În plus, diferența de culoare totală (ΔE) a fost calculată folosind ecuația 5, în comparație cu martorul și clasificată conform Cserhalmi *et al.* (2006).

$$\Delta E = (\Delta a^2 + \Delta b^2 + \Delta L^2)^{1/2}$$

Fiecare măsurare a fost efectuată în duplicat, după care s-a calculat media a două determinări \pm deviația standard.

Tratamente utilizate pentru inactivarea mucegaiului

Tratamentul cu PL

Pentru tratamentul cu PL, a fost utilizată instalația **XeMaticA-2L System** a cărei descriere a fost relizată în subcapitolul 2.2. În acest experiment s-au utilizat două fluențe: 0,2 J/cm²/puls și 0,4 J/cm²/puls, iar numărul de pulsuri aplicate a fost de 2x5; 2x10; 2x15; 2x20; 2x30 și 2x40. Pentru experimentele din acest grup ambele lămpi ale aparatului au fost funcționale în timpul tratamentelor.

Tratamentul cu câmpuri electrice pulsatorii de înaltă intensitate (HIPEF)

La efectuarea experimentelor cu HIPEF s-a utilizat instalația **OSU-4F**. Descrierea instalației a fost prezentată în subcapitolul 2.3.

Tratamentele au fost efectuate cu impulsuri a căror frecvență a fost de 200 Hz și lățime de 4 μ s, pulsurile au fost de formă bipolară. Tratamentele s-au realizat la intensități ale câmpului electric diferite (20, 25, 30 și 35 kV/cm) și la timpi de tratament diferiți (0, 100, 250, 500, 750 și 1000 μ s).

După fiecare tratament, produsul a fost refrigerat într-o baie de apă cu gheață, astfel încât temperatura sa nu a depășit 40°C.

Tratamentul cu ultrasunete

Pentru tratamentul cu ultrasunete s-a utilizat instalația **UP400S Hielscher** a cărei descriere a fost realizată în subcapitolul 2.4.

Sucul de mere a fost pompat într-o celulă din oțel inoxidabil cu ajutorul unei pompe peristaltice (model Selecta- PR 2003), fluxul de ultrasunete fiind stabilit la 100 mL/min, și având un timp de rezidență de 16,5 secunde. La procesarea minimă atermică cu ultrasunete a sucului de mere s-au utilizat amplitudini diferite (30, 60, 90, 100 μ m) și timpi de tratament diferiți (0, 1,1; 2,2; 3,3; 4,4 și 5,5 minute). Camera de tratament a aparatului este echipată cu

un sonotrod din oțel inoxidabil, învelit într-o manta prin care a curs apă rece, astfel încât temperatura a fost menținută sub 40°C.

Tratamentul termic

Pentru acest tratament s-a utilizat o instalație din dotarea Departamentului de Tehnologii Noi din cadrul Facultății de Agronomie a Universității Lleida, Spania. Descrierea aparatului s-a realizat în subcapitolul 2.5.

S-au realizat 4 tratamente la următoarele temperaturi: 48, 52, 54 și 60 °C. Probele tratate au fost scoase din baia de apă în momente diferite (min) și răcite imediat prin scufundarea într-o baie de apă cu gheață (Universitatea din Lleida, Lleida, Spania).

Rezultate obținute și interpretarea lor

Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 prin PL

Pentru tratamentul cu PL, nivelul de inactivare al mucegaiului *P. expansum* UdLTA 3.80 a crescut progresiv ($p < 0.05$) o dată cu creșterea numărului de pulsuri aplicat, dar și cu creșterea fluenței. Pentru fluența de $0,2 \text{ J/cm}^2$, cel mai bun nivel de inactivare obținut a fost de $1,40 \log \text{ ufc/mL}$ la aplicarea a 80 de pulsuri. La aplicarea fluenței de $0,4 \text{ J/cm}^2$ și 80 de pulsuri s-a obținut nivelul maxim de inactivare de $2,21 \log \text{ ufc/mL}$. Din rezultatele obținute se observă că, prin aplicarea unui număr mai mare de pulsuri, putem obține niveluri de inactivare mai mari.

Pentru tratamentul cu PL a fost studiată cinetica de inactivare a mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 la aplicarea modelului Bigelow. În figura 7.1. este prezentată curba de inactivare pentru *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 conform modelului Bigelow.

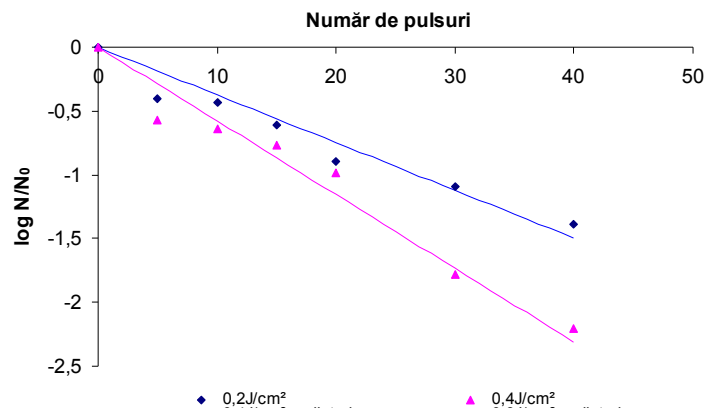


Figura 7.1. Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere, conform modelului Bigelow după tratamentul cu PL

Pentru tratamentul cu PL a fost trasată și cinetica de inactivare conform modelului Weibull. Din figura 7.2. se poate observa că curbele de inactivare obținute s-au potrivit modelului nonlinear Weibull.

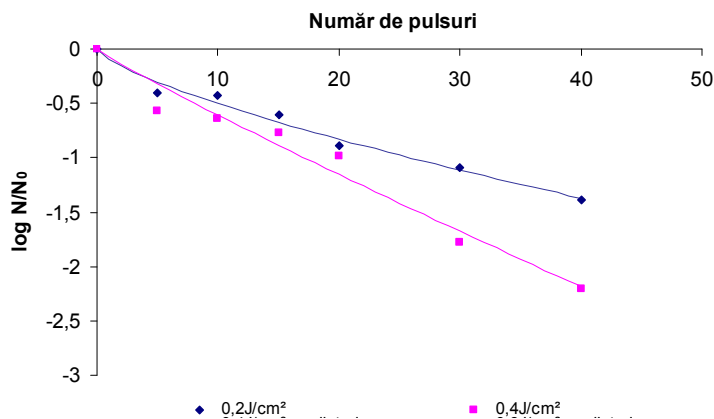


Figura 7.2. Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere, conform modelului Weibull după tratamentul cu PL

Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 la aplicarea câmpurilor electrice pulsatorii de înaltă intensitate (HIPEF)

Acest studiu este primul referitor la efectul HIPEF asupra inactivării sporilor mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 prezenți în suc de mere limpede. În urma tratamentului cu HIPEF, nivelul de inactivare a crescut progresiv ($p < 0.05$) odată cu creșterea intensității câmpului electric aplicat, dar și cu creșterea timpului de tratament. Cel mai bun nivel de

inactivare obținut a fost de 2,14 log ufc/mL la aplicarea unei intensități a câmpului electric de 35kV/cm și un timp de tratament de 1000 μ s. Curbele de supraviețuire corespunzătoare inactivării *P. expansum* UdLTA 3.80 prin HIPEF la diferite intensități ale câmpului electric și diferiți timpi de tratament după modelul Bigelow sunt prezentate în figura 7.4.

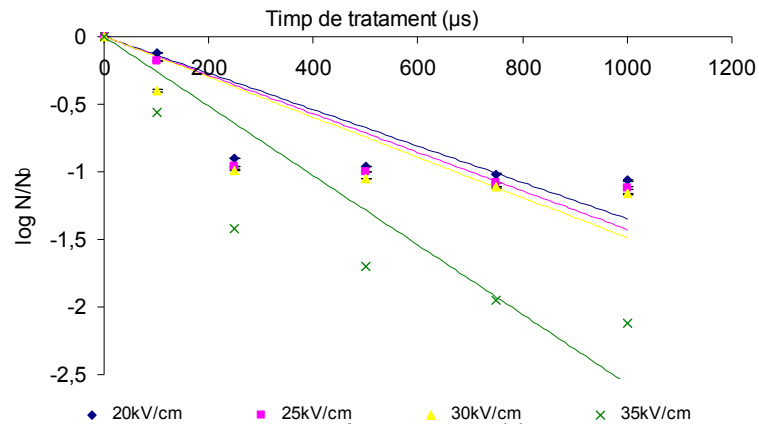


Figura 7.4. Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere, conform modelului Bigelow după tratamentul cu HIPEF

Inactivarea mucegaiului *P. expansum* UdLTA 3.80 a fost modelată și cu ajutorul modelului Weibull. În figura 7.5. sunt prezentate curbele de inactivare ale mucegaiului *P. expansum* UdLTA 3.80 conform modelului Weibull după aplicarea tratamentului cu HIPEF.

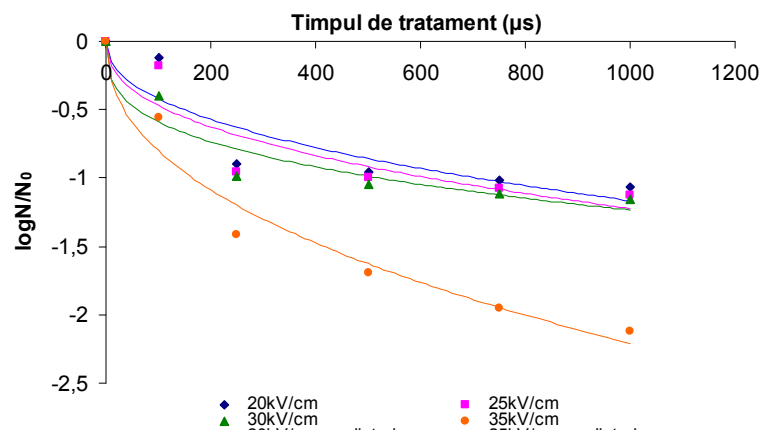


Figura 7.5. Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere, conform modelului Weibull după tratamentul cu HIPEF

După cum se observă în fig. 7.5. rezultatele s-au potrivit bine modelului Weibull, iar curbele de supraviețuire ale *P. expansum* UdLTA 3.80 în urma tratamentului cu HIPEF, au fost caracterizate prin valori ale lui α substanțial mai mici decât 1.

Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 prin tratamentul cu ultrasunete (US)

În urma tratamentului cu ultrasunete, nivelul de inactivare pentru *P. expansum* UdLTA 3.80 a crescut progresiv odată cu creșterea amplitudinii și a timpului de tratament ($p < 0.05$). Cel mai mare nivel de inactivare obținut a fost de 1,46 log ufc/mL, pentru amplitudinea de 100 μm și un timp de tratament de 5,5 min. Efectele timpului de tratament (min) pentru inactivarea *P. expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere, în condițiile experimentale investigate au fost modelate cu ajutorul modelului de ordinul întâi, modelul Bigelow și sunt prezentate în figura 7.7.

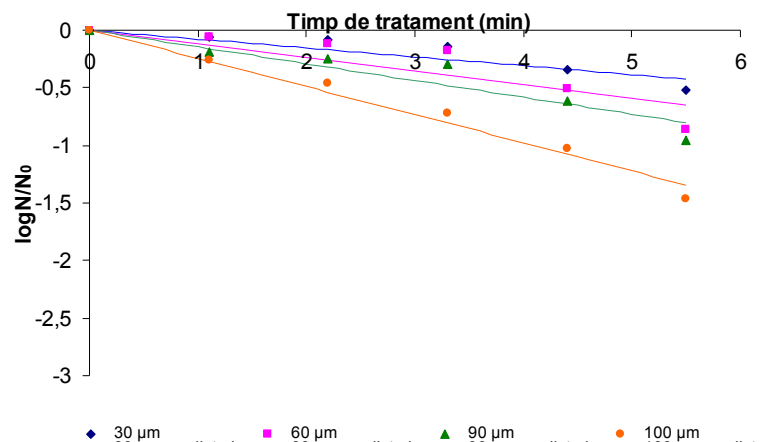


Figura 7.7. Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere, conform modelului Bigelow după tratamentul cu US

Și pentru tratamentul cu US inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 a fost modelată și cu ajutorul modelului Weibull. În figura 7.8. sunt prezentate curbele de supraviețuire ale mucegaiului conform modelului Weibull.

Curbele de supraviețuire ale *P. expansum* UdLTA 3.80 prin trasarea Log (numărul supraviețuitorilor/numărul inițial) vs timp de tratament (min), la diferite niveluri de amplitudine s-au potrivit modelului de inactivare nonlinear Weibull, așa cum se observă în figura 7.8.

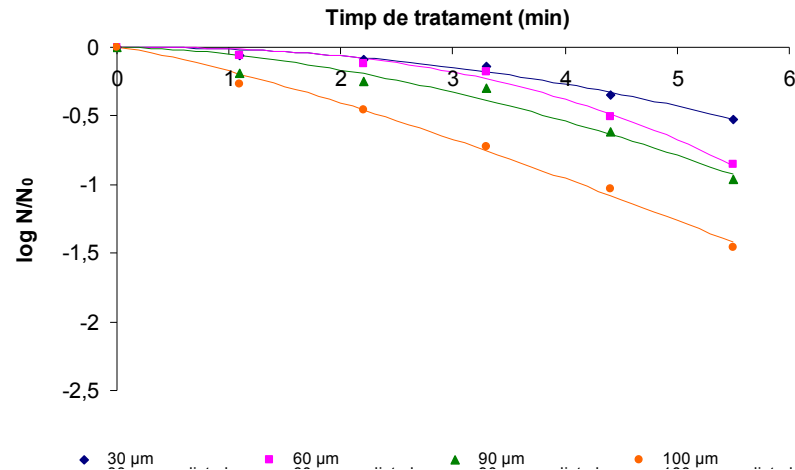


Figura 7.8. Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere, conform modelului Weibull după tratamentul cu US

Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 prin TT

În urma tratamentului termic, cel mai bun nivel de inactivare s-a obținut pentru temperatura cea mai mare și pentru cel mai mare timp de tratament. Din rezultatele obținute se observă că *P. expansum* UdLTA 3.80 este foarte sensibil la temperatură deoarece, după 10 minute la temperatura de 60°C, nivelul de inactivare a fost de 6 log ufc/mL. Cinetica de inactivare s-a potrivit unui model de ordinul întâi, modelul Bigelow (fig. 7.10.).

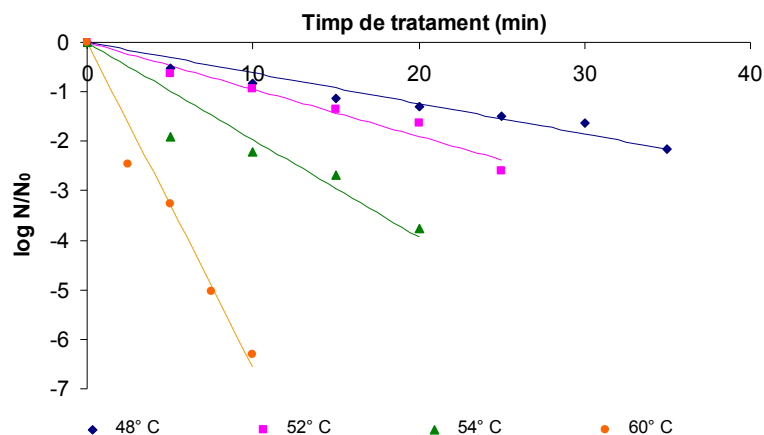


Figura 7.10. Inactivarea mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 în suc de mere, conform modelului Bigelow după tratamentul termic

Modificările parametrilor fizico-chimici după tratamentele atermice și tratamentul termic

În ceea ce privește calitatea produsului, pH-ul sucului și substanța uscată nu au fost afectate după aplicarea tratamentelor atermice dar nici după aplicarea tratamentului termic.

Diferențele pentru indicii de culoare totală (ΔE) au avut valori scăzute pentru HIPEF, fiind cuprinse între 0,0-0,5 și au fost încadrate ca fiind "invizibile", în conformitate cu clasificarea făcută de Cserhalmi *et al.* (2006), în timp ce pentru tratamentul cu PL, US și TT valorile pentru indicii de culoare totală au fost cuprinse între 0,5-1,5 fiind clasificate ca "ușor vizibile". Totuși, pentru tratamentul termic se observă că valorile pentru indicii de culoare totală sunt mai mari, așa cum era de așteptat, deoarece se știe că tratamentul termic determină modificări ale culorii și ale altor parametri fizico-chimici.

Concluzii parțiale

- Nivelul inactivării sporilor de *P. expansum* UdLTA 3.80 a crescut odată cu creșterea parametrilor specifici: număr de pulsuri și fluentă pentru PL; timp și intensitatea câmpului electric pentru HIPEF; timp și amplitudine pentru US; timp și temperatură pentru tratamentul termic.

- Analizând rezultatele obținute pentru tratamentele studiate în acest capitol putem concluziona că gradul de inactivare al sporilor de mucegai este direct proporțional cu cantitatea de energie folosită pentru inactivarea lor.
- Modelarea procesului de inactivare a mucegaiului *P. expansum* UdLTA 3.80 prin PL, HIPEF și US s-a realizat cu modelele Weibull și Bigelow în timp ce modelarea procesului de inactivare cu TT s-a realizat cu modelul Bigelow.
- Parametrii fizici ai sucului de mere contaminat cu *P. expansum* UdLTA 3.80 după aplicarea tehnologiilor atermice și a tratamentului termic nu au suferit schimbări semnificative.
- Valorile pentru indicele de culoare totală (ΔE): au fost încadrate ca fiind ”invizibile” pentru HIPEF și “ușor vizibile” pentru PL, US, TT.
- Tehnologiile atermice pot fi utilizate la conservarea sucurilor însă probabil prin aplicarea combinată a acestor tehnologii sau prin o mai bună optimizare a parametrilor utilizați în timpul tratamentelor s-ar obține niveluri de inactivare mult mai mari.

CONCLUZII FINALE

- ❖ Studiul de tratare cu PL a sporilor a opt mucegaiuri (*P. expansum*; *P. roqueforti*; *P. camembertii*; *P. nalgiovense*; *A. candidus*; *A. niger*; *C. herbarum*; *G. candidum*) reprezentând mucegaiuri cu tip diferit de spor și aceeași culoare sau același tip de spor de culoare diferită, a dovedit că, în procesul de inactivare, culoarea are o importanță mai mare decât tipul de spor.
- ❖ Tratamentul cu PL s-a dovedit a fi eficient pentru inactivarea mucegaiurilor prezente în microbiota naturală a grâului și secarei și pare a fi o alternativă fezabilă pentru decontaminarea semințelor de cereale.
- ❖ Tratarea cu PL a sucului de mere limpede contaminat artificial cu mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80, cu scopul inactivării sporilor, s-a dovedit a fi posibilă, dar dependentă de nivelul de contaminare, înălțimea stratului de lichid și de intensitatea tratamentului exprimată sub formă de fluență. Rezultatele obținute reprezintă un punct de plecare pentru explorarea utilizării acestei tehnici la inactivarea

- mucegaiurilor în industria băuturilor, și, indirect, pentru controlul prezenței patulinei în sucuri.
- ❖ La aplicarea tratamentelor atermice (PL, HIPEF și US) s-a observat că gradul de inactivare a mucegaiului *Penicillium expansum* UdLTA 3.80 cu care s-a contaminat artificial un suc de mere cu o concentrație a substanței uscate de 12°Bx, este direct proporțional cu cantitatea de energie folosită pentru inactivarea lor.
 - ❖ Prin aplicarea combinată a tehnologiilor atermice sau prin o mai bună optimizare a parametrilor utilizați în timpul tratamentelor, s-ar obține niveluri de inactivare mult mai mari.
 - ❖ Cea mai mică modificare a spectrului de lumină UV (eliminarea radiațiilor UV-A, UV-B și UV-C), utilizat în timpul tratamentelor cu PL s-a dovedit a avea un impact negativ semnificativ asupra eficienței tratamentului.
 - ❖ Efectul PL de inactivare a mucegaiurilor prezente în sisteme alimentare este mai redus decât pentru mucegaiurile prezente în sistem model, dar pe baza experimentelor efectuate în acest studiu, s-a demonstrat că pulsurile luminoase pot fi aplicate atât *in vitro*, cât și produselor alimentare pentru inactivarea mucegaiurilor.
 - ❖ Reducerile semnificative obținute într-un timp foarte scurt, la inactivarea mucegaiurilor cu PL, la care se adaugă costul mic al energiei pentru generarea PL, lipsa compușilor reziduali și flexibilitatea procesului sunt câteva dintre avantajele majore ale tratamentului cu PL.

Contribuții originale, deschideri oferite de teza de doctorat

Teza de doctorat reprezintă un studiu original, cu impact de cercetare fundamentală și aplicativă în domeniul industriei alimentare, privind inactivarea mucegaiurilor prezente pe alimente. Această teză aduce o serie de contribuții originale la dezvoltarea cunoașterii în domeniu, după cum urmează:

- A fost determinată valoarea coeficientului z la tratamentul cu pulsuri luminoase pentru 8 mucegaiuri, dintre cele mai întâlnite ca agenți de alterare ai alimentelor
- Tratamentul cu PL a fost utilizat pentru inactivarea mucegaiurilor prezente în microbiota naturală a cerealelor.

- S-a studiat inactivarea mucegaiului *P. expansum* UdLTA 3.80, în suc de mere limpede, prin tratamente cu PL.
- S-a realizat o comparație între eficiența unor tratamente minime atermice (PL, HIPEF, US) și tratamentul termic pentru inactivarea mucegaiurilor prezente în suc de mere limpede.

Rezultatele obținute susțin noi direcții de cercetare și anume:

- Optimizarea parametrilor utilizați în timpul tratamentelor cu PL pentru obținerea de niveluri de inactivare mai ridicate.
- Posibilitatea utilizării tratamentului cu PL în procesul de conservare al cerealelor și în industria băuturilor.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

Anderson, J. G., Rowan, N. J., MacGregor, S. J., Fouracre, R. A., & Farish, O. (2000). Inactivation of food-borne enteropathogenic bacteria and spoilage fungi using pulsed-light. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 28(1), 83–88. doi:10.1109/27.842870.

Bialka, K. I., & Demirci, A., & Purl, V. M. (2008). Modelling the inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* on raspberries and strawberries resulting from exposure to ozone or pulsed UV-light. *Journal of Food Engineering*, 85(3), 444-449.

Caminiti, I. M., Noci, F., Muñoz, A., Whyte, P., Morgan, D. J., Cronin, D. A., Lyng, J. G. (2011). Impact of selected combinations of non-thermal processing technologies on the quality of an apple and cranberry juice blend. *Food Chemistry*, 124, 1387 – 1392. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.096>.

Claranor SA (2008) Pulsed light decontamination – State of the art, www.claranor.com

Cserhalmi, Zs., Sass-Kiss, Á., Tóth-Markus, M., & Lechner, N. (2006). Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7(1–2), 49–54.

Dunn, J. (1996). Pulsed light and pulsed electric field for foods and eggs. *Poultry Science*, 75(9), 1133–1136.

Gómez-López, V. M., Ragaert, P., Debevere, J., & Devlieghere, F. (2007). Pulsed light for food decontamination: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 464-473.

- Jun, S., Irudayaraj, J., Demirci, A., & Geiser, D. (2003). Pulsed UVlight treatment of corn meal for inactivation of *Aspergillus niger* spores. *International Journal of Food Science & Technology*, 38, 883–888. doi:10.1046/j.0950-5423.2003.00752.x.
- Koutchma, T., Forney, L. J., Moraru, C. I. (2009). Ultraviolet light in food technology: Principles and applications. *Contemporary Food Engineering*, Ed. CRC Press, ISBN 1420059505, 9781420059502.
- Lagunas-Solar, M. C., Piña, C., MacDonald, J. D. & Bolkan, L. (2006). Development of pulsed UV light processes for surface fungal disinfection of fresh fruits. *Journal of Food Protection*, 69(2), 376-384.
- Marquenie, D., Michiels, C. W., Van Impe, J. F., Schrevels, E., & Nicolai, B. N. (2003b). Pulsed white light in combinations with UV-C and heat to reduce storage rot of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 28, 455–461. doi:10.1016/S0925-5214(02)00214-4.
- Noci, F., Riener, J., Walkling-Ribeiro, M., Cronin, D.A., Morgan, D.J., Lyng, J.G. (2008). Ultraviolet irradiation and pulsed electric fields (PEF) in a hurdle strategy for the preservation of fresh apple Juice. *Journal of Food Engineering* 85 (1), 141–146.
- Oms-Oliu, G., Martin-Belloso, O., Soliva-Fortuny R. (2008). Pulsed light treatments for food preservation. A review. *Food and Bioprocess Technology*.
- Palgan, I., Caminiti, I.M., Muñoz, A., Noci, F., Whyte, P., Morgan, D.J., Cronin, D.A., Lyng, J.G. (2010). Effectiveness of High Intensity Light Pulses (HILP) treatments for the control of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* in apple juice, orange juice and milk. *Food Microbiology* xxx , 1-7. doi:10.1016/j.fm.2010.07.023.
- Sauer, A., Moraru, C. I. (2009). Inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Escherichia coli* O157:H7 in apple juice and apple cider, using pulsed light treatment. *Journal of Food Protection*, Vol. 72, No. 5, 937-944.
- Uesugi, A. R., & Moraru, C. I. (2009). Reduction of *Listeria* on ready-to-eat sausages after exposure to a combination of pulsed light and nisin⁺. *Journal of Food Protection*, 72(2), 347-353.
- Woodling, S. E. & Moraru, C. I. (2005). Influence of surface topography on the effectiveness of pulsed light treatment for the inactivation of *Listeria innocua* on stainless-steel surfaces. *Journal of Food Science*, 70(7), M345-M351.