



UNIUNEA EUROPEANĂ



SUVERNUL ROMÂNIEI
MINISTERUL MUNCII, FAMILIEI
ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AMPOSDRU



Fondul Social European
POSDRU 2007-2013



Instrumente Structurale
2007-2013



MINISTERUL
EDUCAȚIEI
CERCETĂRII
ȘI SPORTULUI
CIPOSDRU



Universitatea „Dunărea de Jos” din Galați

Școala doctorală a Facultății de Știința și Ingineria Alimentelor



REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

STUDII POTENȚIALE DE PRELUNGIRE A TERMENULUI DE VALABILITATE AL SALATEI GATA-DE-CONSUM

**Doctorand,
Ing. Irina Smeu**

**Conducător științific,
Prof. univ. dr. ing. Anca Ioana Nicolau**

**GALAȚI
2013**

MULȚUMIRI

Realizarea acestei lucrări a fost pur și simplu mai ușoară datorită unor persoane dragi din jurul meu, cărora acum am ocazia să le mulțumesc.

În primul rând, mulțumirile și recunoștința mea se îndreaptă către dna. prof. dr. ing. Anca Ioana Nicolau, conducătoarea științifică a acestei lucrări. Îi mulțumesc pentru încrederea acordată, pentru că m-a ajutat să îmi depășesc propriile bariere, pentru discuțiile ce au influențat semnificativ rezultatele acestei teze și m-au ambiționat în momentele dificile.

Îi mulțumesc dnei. prof. dr. ing. Mona Elena Popa, conducătoarea științifică a tezei în primul an de doctorat, pentru rolul important în decizia de a începe această lucrare și pentru experiența împărtășită.

Le mulțumesc membrilor comisiei de îndrumare, dnei. prof. dr. ing. Gabriela Bahrim, dnei. prof. dr. ing. Gabriela Răpeanu și dnei. conf. dr. ing. Gabriela Iordachescu pentru discuțiile deschise și sfaturile primite.

Mulțumesc echipei proiectului POSDRU TOP ACADEMIC pentru sprijinul financiar acordat și pentru oportunitatea oferită, de a desfășura o parte a activităților experimentale în cadrul unui prestigios institut german.

Îi mulțumesc dlui dr. ing. Oliver Schlüter pentru că m-a acceptat în grupul său de cercetare și mi-a dat șansa să cunosc domeniul plasmei, în laboratoarele Leibniz-Institut für Agrartechnik Potsdam-Bornim e.V, Germania. Le mulțumesc pentru ajutorul acordat și pentru încurajări colegilor Matthias Baier, Antje Fröhling și Franziska Grzegorzewski.

Evoluția mea profesională și realizarea acestei lucrări nu ar fi fost posibile fără sprijinul și încurajările dnei. conf. dr. ing. Nastasia Belc, directorul general al Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Bioresurse Alimentare – IBA București, căreia îi sunt profund recunoscătoare. Îi mulțumesc dnei. dr. ing. Denisa Eglantina Duță pentru ajutorul acordat în cadrul experimentelor ce au utilizat nasul electronic și colegilor din institut care m-au sfătuit în analizarea rezultatelor și m-au încurajat în finalizarea acestei teze.

Mulțumirile mele se îndreaptă și către prietenele mele, Alexandra, Bianca, Isabela și Manuela, care au avut întotdeauna răbdarea de a mă asculta și m-au încurajat ori de câte ori a fost nevoie.

Nu în ultimul rând, doresc să le mulțumesc părinților mei, Cornelia și Ștefan, și fratelui meu, Dragoș, cărora le dedic această lucrare. Le mulțumesc pentru educația primită, pentru eforturile depuse în susținerea obiectivelor mele, pentru constantele încurajări, pentru dragostea cu care mă înconjoară.

Irina Smeu

CUPRINS

MULȚUMIRI	2
CUPRINS	3
INTRODUCERE	5
Capitolul 1. CARACTERIZAREA MICROBIOLOGICĂ A SALATEI VERZI	8
1.1. CARACTERIZAREA MICROBIOLOGICĂ A SALATEI VERZI UTILIZATĂ ÎN EXPERIMENTE	8
1.2. IZOLAREA ȘI IDENTIFICAREA UNEI TULPINI BACTERIENE DIN MICROBIOTA NATURALĂ A SALATEI VERZI ROMÂNEȘTI	9
1.3. CONCLUZII	11
Capitolul 2. EFECTELE HIPOCLORITULUI DE SODIU ASUPRA CARACTERISTICILOR SENZORIALE ȘI A PERIOADEI DE VALABILITATE A SALATEI VERZI GATA-DE-CONSUM	12
2.1. REZULTATE ȘI DISCUȚII	12
2.1.1. Impactul soluțiilor de spălare clorinate asupra microbiotei naturale a salatei	12
2.1.2. Impactul soluțiilor de spălare clorinate asupra caracteristicilor fizico-chimice ale salatei	13
2.1.3. Calitatea senzorială a salatei verzi tratată cu soluții clorinate	14
2.2. CONCLUZII	15
Capitolul 3. UTILIZAREA ACIZILOR ORGANICI ÎN SOLUȚIILE DE SPĂLARE ALE SALATEI VERZI GATA-DE-CONSUM	15
3.1. REZULTATE ȘI DISCUȚII	15
3.1.1. Efectul antimicrobian al soluțiilor de acizi organici utilizate față de bacteria <i>Pseudomonas tolaasii</i>	15
3.1.2. Efectele soluțiilor de acizi organici utilizate asupra microbiotei naturale a salatei gata-de-consum	16
3.1.3. Impactul soluțiilor de acizi organici utilizate asupra caracteristicilor fizico-chimice ale salatei gata-de-consum	17
3.1.4. Calitatea senzorială a salatei verzi gata-de-consum tratată cu soluții de acizi organici	20
3.2. CONCLUZII	21
Capitolul 4. UTILIZAREA ULEIURILOR ESENȚIALE ÎN SOLUȚIILE DE SPĂLARE ALE SALATEI GATA-DE-CONSUM	22
4.1. REZULTATE ȘI DISCUȚII	22
4.1.1. Optimizarea evaluării aromei salatei proaspăt tăiată utilizând nasul electronic	22
4.1.2. Efectul antimicrobian al soluțiilor de uleiuri esențiale utilizate față de bacteriile <i>Pseudomonas tolaasii</i> și <i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739	22
4.1.3. Impactul soluțiilor de uleiuri esențiale asupra caracteristicilor microbiologice ale salatei	23
4.1.4. Impactul soluțiilor de uleiuri esențiale utilizate asupra caracteristicilor fizico-chimice ale salatei gata-de-consum	24
4.1.5. Impactul soluțiilor de uleiuri esențiale utilizate asupra atributelor senzoriale ale salatei gata-de-consum	25
4.2. CONCLUZII	27
Capitolul 5. UTILIZAREA TRATAMENTULUI CU PLASMĂ RECE CA METODĂ DE DECONTAMINARE A SALATEI VERZI	28
5.1. EFECTELE TRATAMENTULUI CU PLASMĂ RECE ASUPRA INACTIVĂRII MICROORGANISMELOR <i>ESCHERICHIA COLI</i> O157:H7 ȘI <i>LISTERIA INNOCUA</i>	28
5.1.1. Rezultate și discuții	28
5.1.2. Concluzii	30
5.2. EFECTELE TRATAMENTULUI CU PLASMĂ RECE ASUPRA CALITĂȚII SALATEI PROASPĂT TĂIATĂ	30
5.2.1. Rezultate și discuții	30
5.2.2. Concluzii	33

5.3. EFECTELE TRATAMENTULUI CU PLASMĂ RECE ASUPRA FRUNZELOR DE SALATĂ INOCULATE CU <i>ESCHERICHIA COLI</i> O157:H7	34
5.3.1. Rezultate și discuții	34
5.3.2. Concluzii	34
Capitolul 6. RELEVANȚA PRACTICĂ A TEZEI DE DOCTORAT, CONTRIBUȚII ORIGINALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A CERCETĂRILOR	35
LISTĂ LUCRĂRI PUBLICATE ȘI PREZENTATE	36
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	38

INTRODUCERE

Justificarea științifică a temei alese

Schimbarea stilului de viață a consumatorilor a dus la nevoia de alimente care să îndeplinească cerințele acestora, respectiv un timp de preparare cât mai redus, o calitate cât mai înaltă și în același timp un termen de valabilitate prelungit al produselor alimentare.

Fructele și legumele proaspete reprezintă o componentă importantă a unei diete sănătoase, iar consumul lor zilnic poate preveni afecțiuni majore ale organismului. Un raport WHO/FAO recomandă un consum zilnic de 400 g fructe și legume (cu excepția cartofilor și a altor tuberculi cu amidon) în vederea prevenirii bolilor cronice (boli cardiovasculare, cancer, diabet, obezitate) dar și a prevenirii și tratării unor deficiențe micronutriționale, în special în țările slab dezvoltate. În 1998, doar 6 din cele 14 regiuni ale Organizației Mondiale a Sănătății au prezentat o disponibilitate a fructelor și legumelor mai mare sau egală decât doza zilnică recomandată de 400 g produs/zi, iar în prezent, numai un procent nesemnificativ al populației consumă în mod frecvent doza zilnică recomandată. Din acest motiv, producția de fructe și legume reprezintă un sector important al producției agricole în lume. Conform FAO, producția totală de fructe la nivel global se ridică în jurul a 370 milioane de tone, iar India ocupă prima poziție, având o producție anuală de aproximativ 32 megatone. De asemenea, India este al doilea cel mai mare producător de legume (după China), înregistrând aproximativ 15% din producția mondială de legume. Din păcate însă, este estimat faptul că 20-22 % din producția totală de fructe și 20-25 % din totalul legumelor reprezintă pierderi cauzate de microorganismele de alterare în diverse etape ale depozitării, precum și din cauza proastelor practici post recoltare aplicate. Mai mult, în timp ce în India doar un procent sub 2 % reprezintă producția de legume vândută sub formă procesată, Brazilia înregistrează un procent de 70 % iar SUA 65 % legume vândute în formă procesată.

Economia rurală a României este preponderent dominată de agricultură, dar din păcate este slab integrată în piața economică. În prezent, bunăstarea producătorilor rurali și a populației urbane depinde de înțelegerea și aplicarea tehnicilor de marketing în funcție de nevoile consumatorilor. De aceea, există factori importanți ce trebuie luați în considerare în cazul analizării datelor statistice referitoare la producția agricolă și aplicate apoi industriei alimentare: schimbarea stilului de viață al consumatorilor, urbanizarea și industrializarea, planurile de marketing ale industriei alimentare precum și politicile de liberalizare ale comerțului. În România, sectorul agricol reprezintă o ramură importantă a economiei. Conform Organizației Națiunilor Unite pentru Agricultură și Alimentație, în 2009, prețul producției interne a României a fost mai mare de 150.000 milioane de dolari, de aproximativ trei ori mai mare decât cel înregistrat în anul 1999, iar legumele ocupă poziția a noua a produselor disponibile pentru consum, după grâu, porumb, zahăr, semințe de floarea-soarelui, cartofi, carne de porc, bere și carne de pui. Există și bariere în ceea ce privește consumul de fructe și legume proaspete, printre acestea numărându-se prețul produselor și calitatea lor, dificultatea de preparare a unor anumite fructe sau legume, precum și perioada lor de valabilitate relativ redusă. Produsele proaspete sunt mai susceptibile față de microorganismele de alterare din cauza contactului lor direct cu solul, datorită apei de irigare sau a aerului, a numeroaselor echipamente mecanice folosite în agricultură, dar și a ratei lor crescute de respirație post recoltare. În plus, durata de viață a produselor proaspăt tăiate este afectată de apariția fenomenelor de oxidare precum imbrunarea enzimatică, degradarea și oxidarea pigmentilor din cauza activităților enzimatice, prin afectarea calităților senzoriale ale produsului alimentar și la favorizarea dezvoltării microorganismelor.

Așadar, din cauza popularității crescânde dar și a numeroaselor epidemii asociate cu aceste produse, ca urmare a prezenței microorganismului patogen *Escherichia coli* O157:H7, salata verde (*Lactuca sativa* L.) a fost aleasă drept matrice alimentară pentru a fi supusă studiului variabilității duratei de păstrare în funcție de diversele tratamente post-recoltare aplicate.

Studiul se dorește a fi un răspuns la cererea consumatorilor români, pentru care cel mai important criteriu de selecție al unui produs alimentar este aspectul proaspăt (56%), urmat de gust (34%), conținut natural (30%) și preț acceptabil (27%) conform unui studiu de piață efectuat în anul 2010, cu scopul de a identifica percepțiile, comportamentul de cumpărare și

profilul socio-demografic al celor care obișnuiesc să consume alimente de tip „salate gata-de-consum”. Activitățile prevăzute în cadrul tezei de doctorat reprezintă o abordare nouă în vederea reducerii contaminării salatei gata-de-consum, prin realizarea unui sistem complex de analize și dezvoltarea unor metode alternative de tratament post-recoltare pentru acest produs.

Scopul și obiectivele științifice

Scopul acestei teze de doctorat este testarea efectului antimicrobian al unor diferite concentrații de soluții dezinfectante ce ar putea fi utilizate în prelucrarea minimală a legumelor și corelarea, prin metode obiective, a metodelor de procesare minimală și ambalare cu indicatorii microbiologici, fizico-chimici și senzoriali detectabili.

Obiectivele principale ale lucrării sunt:

- Izolarea unui microorganism de altare specific salatei verzi (*Lactuca sativa* L.), care să fie utilizat ca microorganism de referință în studiile de tratamente post-recoltare aplicate acestui aliment;
- Investigarea posibilității de a reduce concentrația de clor a soluțiilor dezinfectante clorinate utilizate în prezent în prelucrarea minimală a legumelor;
- Testarea efectului antimicrobian al unor soluții de acizi organici și uleiuri esențiale volatile asupra microorganismelor izolate din microbiota naturală a salatei și stabilirea efectului acestor soluții față de atributele calitative ale salatei gata-de-consum;
- Reducerea contaminării salatei prin aplicarea unor metode alternative de tratament post-recoltare, precum tratamentul cu plasmă rece la presiune atmosferică;
- Punerea la punct a unei metode de evaluare a proapețimii frunzelor de salată verde cu ajutorul nasului electronic.

Studiile prezentate în teza de doctorat evidențiază influența imediată dar și pe parcursul perioadei de depozitare a tratamentelor propuse de doctorandă asupra microbiotei naturale și a atributelor calitative ale legumei frunzoase testate, pentru a putea decide asupra introducerii lor, ca tehnologi noi de sanitizare, la nivel industrial.

Structura tezei de doctorat

Teza de doctorat intitulată „Soluții potențiale de prelungire a termenului de valabilitate al salatei verzi gata-de-consum” este structurată pe 6 capitole, totalizând 27 de tabele și 62 de figuri și reprezentări grafice, și 260 de note bibliografice.

Capitolul 1, intitulat „**Caracterizarea microbiologică a salatei verzi**” reprezintă un studiu cu privire la microorganismele prezente în mod natural pe suprafața acestui produs alimentar, microorganismele ce au fost izolate și identificate cu scopul utilizării lor ulterioare în vederea testării și stabilirii efectelor antimicrobiene ale unor diferite tratamente de sanitizare..

Următoarele patru capitole ale lucrării prezintă cercetările experimentale privind potențialul de utilizare a unor tratamente alternative de sanitizare a salatei gata-de-consum.

Capitolul 2, cu titlul „**Efectele hipocloritului de sodiu asupra caracteristicilor senzoriale și a perioadei de valabilitate a salatei gata-de-consum**” evaluează impactul unor diferite concentrații de hipoclorit de sodiu, principalul agent dezinfectat utilizat în prezent în procesarea minimală a legumelor, asupra microbiotei naturale a salatei atât imediat după aplicarea tratamentului cât și în decursul unei perioade de depozitare de 10 zile în condiții de refrigerare.

Capitolul 3, intitulat „**Utilizarea acizilor organici în soluțiile de spălare ale salatei verzi gata-de-consum**” urmărește identificarea unei soluții de spălare, eficientă din punct de vedere microbiologic, care să reprezinte o alternativă la soluțiile clorinate utilizate în prezent ca decontaminanți în procesul de spălare al legumelor gata-de-consum.

În capitolul 4 este prezentată „**Utilizarea uleiurilor esențiale în soluțiile de spălare ale salatei verzi gata-de-consum**”, scopul acestui studiu fiind evaluarea impactului unor soluții de spălare ce nu conțin clor, ci uleiuri esențiale de ceapă, oregano și cimbru, asupra termenului de valabilitate al salatei proaspăt tăiate precum și a modificărilor apărute la nivelul compușilor volatili în timpul depozitării.

În capitolul 5 a fost urmărită „**Utilizarea tratamentului cu plasmă rece ca metodă de decontaminare a salatei verzi**”, astfel fiind stabilit efectul antimicrobian al tratamentului cu un jet de plasmă rece la presiune atmosferică în cazul a două microorganisme des asociate cu salata proaspăt tăiată, *Escherichia coli* O157:H7, respectiv *Listeria innocua*, în funcție de parametrii de proces utilizați, precum și impactul tratamentului cu plasmă aplicat frunzelor de salata mielului inoculate în prealabil cu *E. coli* O157:H7. Mai mult, experimentele au urmărit efectele acestui tratament asupra calității frunzelor de salată, dar și a efectului perioadei de depozitare asupra materialului vegetal supus tratamentului cu plasmă rece.

Concluziile generale ale activităților experimentale desfășurate, relevanța practică a tratamentelor propuse precum și direcții de viitor ale acestor tehnici sunt prezentate în capitolul 6, intitulat „**Concluzii generale, contribuții originale și perspective de continuare a cercetărilor**”.

Cuvinte cheie: salată gata-de-consum, hipoclorit de sodiu, acizi organici, uleiuri esențiale, plasmă rece, nas electronic.

Capitolul 1. CARACTERIZAREA MICROBIOLOGICĂ A SALATEI VERZI

1.1. Caracterizarea microbiologică a salatei verzi utilizată în experimente

Salata verde românească nespălată a fost supusă analizei microbiologice în vederea stabilirii încărcăturii microbiene inițiale. Au fost urmărite criteriile microbiologice pentru produse alimentare conform Regulamentului (CE) nr. 1441/2007. Astfel, în vederea evaluării criteriilor de siguranță ale legumelor și fructelor tăiate anterior (gata pentru consum), a fost realizată determinarea prezenței germenilor din genul *Salmonella* spp., rezultatul analizei trebuind să se încadreze în limita impusă, respectiv absență în 25 g produs. În ceea ce privește criteriile de igienă ale alimentului, probele de salată au fost analizate pentru stabilirea concentrației microorganismului *E. coli*, limitele maxim admise fiind cuprinse între 100 și 1000 ufc g⁻¹ (2-3 log ufc g⁻¹). Testele microbiologice au arătat că bacteria *Salmonella* spp. a fost absentă în 25 g produs, în cazul tuturor celor cinci unități de probă analizate, în timp ce concentrația microorganismului *Escherichia coli* a avut valori de 1,0 până la 1,4 log ufc g⁻¹, valori ce încadrează rezultatele testului în categoria rezultate satisfăcătoare, demonstrând astfel calitatea microbiologică a produsului analizat.

Frunzele de salată nespălate au prezentat valori ale numărului total de bacterii aerobe mezofile de 6,3 până la 6,7 log ufc g⁻¹, în timp ce concentrația drojdiilor și mucegaiurilor a fost de 3,9 - 4,4 log ufc g⁻¹ iar numărul enterobacteriilor a avut valori situate între 5,4 – 5,8 log ufc g⁻¹ (Fig. 1.1.).

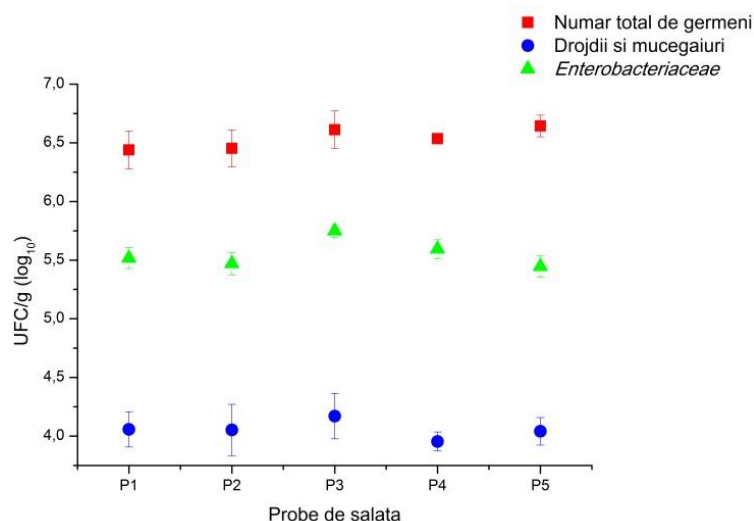


Figura 1.1. Concentrația microbiană inițială a probelor de salată verde nespălată

Studii anterioare menționează valori ale numărului total de bacterii aerobe mezofile de $3,9 \pm 1,0$ log ufc g⁻¹ (López-Gálvez *et al.*, 2010) pentru salata iceberg nespălată, până la $5,6 \pm 0,4$ log ufc g⁻¹ (Gutierrez *et al.*, 2009) în cazul salatei gata-de-consum sau $6,7 \pm 0,1$ log ufc g⁻¹ (Nielsen *et al.*, 2008) pentru rucola și $7,27$ log ufc g⁻¹ în cazul unui amestec de salată (Uyttendaele *et al.*, 2004), în timp ce salata iceberg nespălată a înregistrat concentrații ale drojdiilor și mucegaiurilor de $3,2 \pm 1,4$ log ufc g⁻¹ (López-Gálvez *et al.*, 2010) iar rucola de $5,0 \pm 0,1$ log ufc g⁻¹ (Nielsen *et al.*, 2008).

Bacteriile Gram negative sunt responsabile, în general, de alterarea legumelor frunzoase, ele afectând pectinolic țesutul vegetal (Lu *et al.*, 2006), concentrații similare de enterobacterii fiind evidențiate de Nielsen *et al.* (2008) și Gutierrez *et al.* (2009) pentru rucola și salată gata-de-consum, în timp ce López-Gálvez *et al.* (2010) menționează o concentrație de doar $2,7 \pm 1,1$ log ufc g⁻¹ în cazul salatei iceberg nespălate.

Concentrația bacteriilor coliforme a fost de $3,9 \pm 0,57$ log ufc g⁻¹ iar microorganismul *Bacillus cereus* nu a fost prezent în probele analizate.

1.2. Izolarea și identificarea unei tulpini bacteriene din microbiota naturală a salatei verzi românești

Controlul microbiologic al unui aliment presupune nu numai cuantificarea încărcăturii microbiene a acestuia, ci și identificare speciilor de microorganisme prezente în produs. Astfel, în cazul probelor de salată supuse testării, s-a urmărit identificarea unei tulpini bacteriene din microbiota naturală a acestui produs, întrucât rezultatul determinării numărului total de microorganisme al celor cinci unități de probă analizate a indicat că aceste microorganisme sunt predominante în microbiota produsului analizat. După izolarea în culturi pure, a fost realizată examinarea caracterelor de cultură, prin analiza macroscopică a culturii obținute pe mediu solid. Coloniile rotunde, de consistență vâscoasă și culoare alb-gălbuie, opace, cu suprafață netedă-lucioasă și contur regulat și-au făcut apariția după primele 12 h de termostatare. Cinci culturi pure au fost apoi replicate pe mediu PCA în tuburi înclinate (termostatare la 30°C, 24h), în vederea conservării materialului microbial până la identificarea sa utilizând sistemul OmniLog®.

Tulpina de referință *Escherichia coli* ATCC® 8739 a fost folosită pentru verificarea rezultatelor obținute în urma utilizării sistemului OmniLog® de identificare a microorganismelor. Astfel, la finalul perioadei de termostatare, cititorul MicroStation Reader a analizat amprenta metabolică a microorganismului testat prin cuantificarea reacțiilor de culoare din godeurile microplăcii. Sistemul OmniLog® a putut identifica microorganismul drept *Escherichia coli*, bacterie Gram negativă din clasa *Enterobacteriaceae* (Fig. 1.2.).

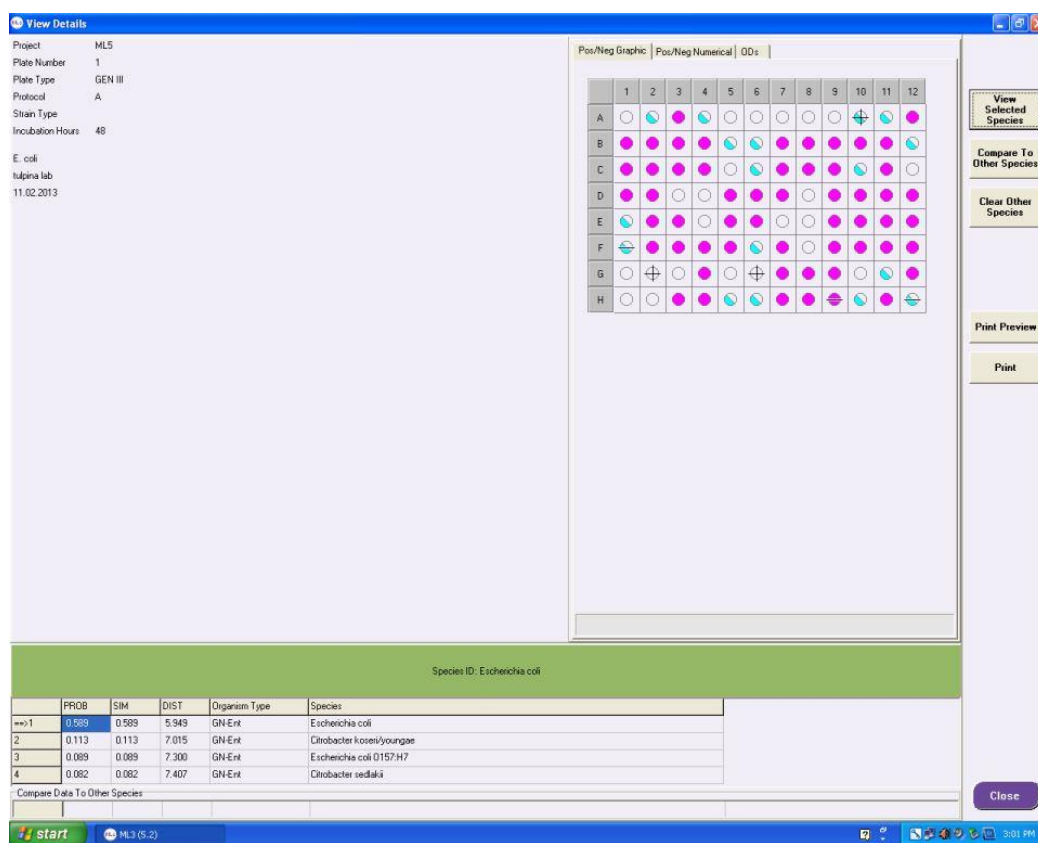


Figura 1.2. Identificarea tulpinii de referință *Escherichia coli* ATCC® 8739 folosind sistemul OmniLog®

Identificarea a putut fi realizată în urma comparării amprentei metabolice a microorganismului testat cu profilurile de identificare din baza de date a sistemului Biolog GEN III (OmniLog® Data Collection). Profilurile metabolice ale celor două microorganisme comparate de sistem pot fi observate în figura 1.3.

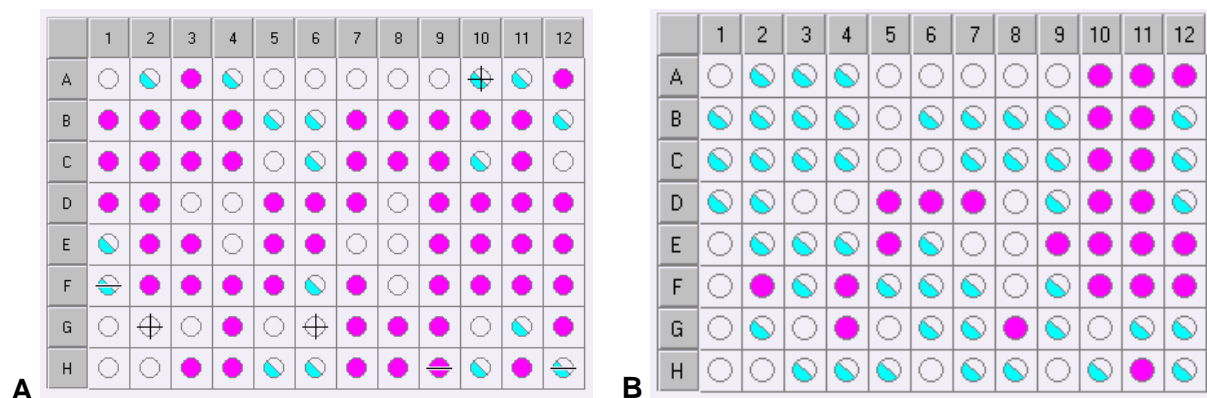


Figura 1.3. Profilurile metabolice ale celor două tulpini *Escherichia coli* comparate de sistemul Biolog GEN III: tulpina de referință *Escherichia coli* ATCC® 8739 (A) și tulpina *Escherichia coli* din baza de date Biolog GEN III (B)

Identificarea microorganismelor izolate din produsul vegetal studiat utilizând sistemul OmniLog® a presupus urmărirea protocolului de lucru pentru tulpini bacteriene. Astfel, rezultatul identificării sistemului Biolog GEN III a fost microorganismul *Pseudomonas tolaasii*, bacterie Gram negativ din familia *Pseudomonadaceae*, genul *Pseudomonas* (Fig. 1.4.).

Bacteriile din genul *Pseudomonas* sunt cunoscute drept grupul de bacterii cel mai eterogen și mai semnificativ din punct de vedere ecologic (Franzetti and Scarpellini, 2007), bine răspândit în natură și caracterizat de o versatilitate metabolică ridicată, datorită prezenței unui sistem enzimatic complex. Deoarece cerințele nutriționale ale *Pseudomonas* spp. sunt reduse, bacteriile din acest gen sunt larg răspândite în habitate naturale precum sol, apă, sedimente, mediu marin (Shivaji *et al.*, 1988; Soler-Rivas *et al.*, 1999; O'Sullivan and O'Gara, 1992). Aceste microorganisme sunt des asociate cu produsele alimentare vegetale și recunoscute pentru capacitatea lor de dezvoltare la temperaturi scăzute, ele fiind responsabile pentru alterarea produselor alimentare refrigerate. În timpul depozitării și a operațiilor de procesare a alimentelor, numărul lor se dezvoltă rapid, în timp ce în cazul produselor vegetale minimal procesate *Pseudomonas* spp. dețin un rol important în instalarea fenomenului de îmbrunare din cauza activității lor pectinolitice (Moquet *et al.*, 1996; Riva *et al.*, 2001; Franzetti and Scarpellini, 2007). Mai mult, bacteriile din familia *Pseudomonadaceae* se regăsesc în mod frecvent în microflora legumelor frunzoase verzi, Nielsen *et al.* (2008) indicând o populație de $5,4 \pm 0,3 \log \text{ ufc g}^{-1}$ în cazul frunzelor de rucola nespălate, în timp ce López-Gálvez *et al.* (2010) menționează o concentrație a acestui parametru microbiologic de $3,9 \pm 1,1 \log \text{ ufc g}^{-1}$ în cazul salatei iceberg nespălate, iar Gutierrez *et al.* (2009) de $3,86 \pm 0,56 \log \text{ ufc g}^{-1}$ pentru salata gata-de-consum.

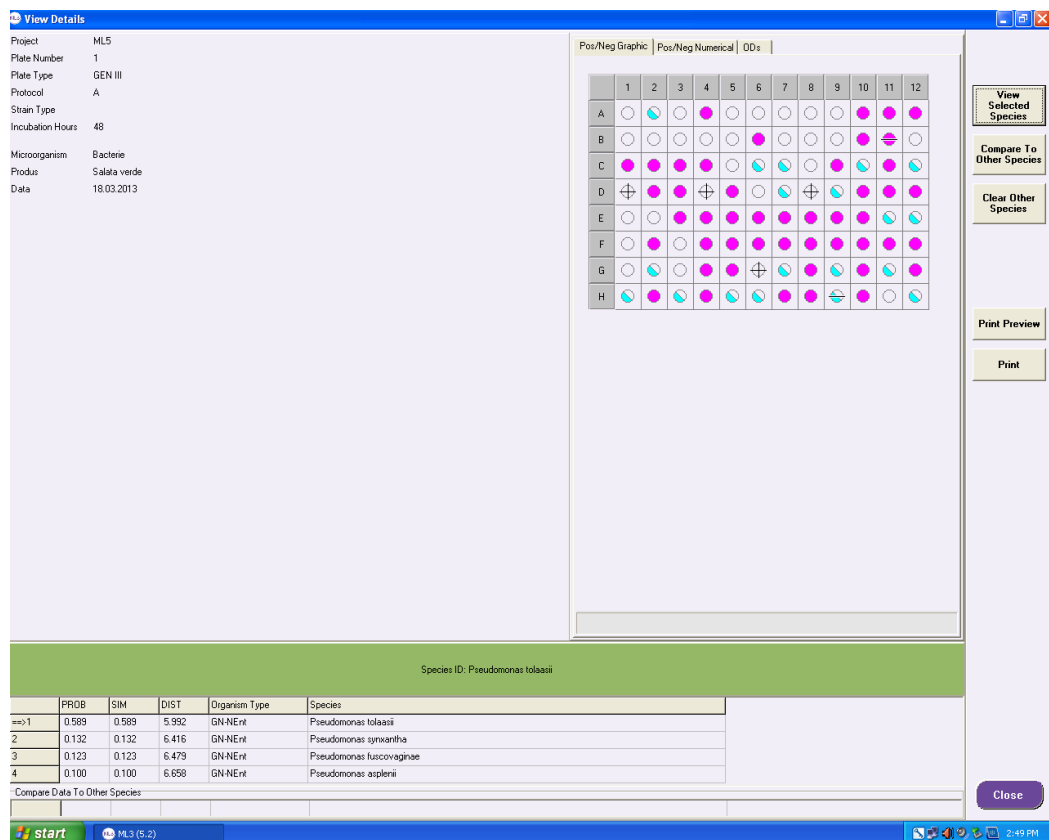


Figura 1.4. Identificarea tulpinii bacteriene *Pseudomonas tolaasii* folosind sistemul Biolog GEN III

1.3. Concluzii

Salata verde analizată a îndeplinit criteriile microbiologice impuse de regulamentul 2073/2005 și completate de regulamentul 1441/2007, astfel încât furnizorul acestui produs a fost agreat în vederea aprovizionării materialului vegetal necesar desfășurării următoarelor activități experimentale.

Bacteria *Pseudomonas tolaasii* a fost izolată din microbiota naturală a salatei verzi utilizată în experimente, și identificată utilizând sistemul OmniLog® (Biolog, Inc., SUA). Tulpina *Pseudomonas tolaasii* a fost reinoculată pe mediu PCA în tuburi înclinate (termostatare 24 h, 30°C) ce au fost păstrate în condiții de refrigerare (4°C) în vederea utilizării ulterioare, în scopul studierii, testării și stabilirii efectelor antimicrobiene ale unor diferite tratamente de spălare și sanitizare aplicate salatei verzi gata-de-consum.

Capitolul 2. EFECTELE HIPOCLORITULUI DE SODIU ASUPRA CARACTERISTICILOR SENZORIALE ȘI A PERIOADEI DE VALABILITATE A SALATEI VERZI GATA-DE-CONSUM

2.1. Rezultate și discuții

2.1.1. Impactul soluțiilor de spălare clorinate asupra microbiotei naturale a salatei

Imediat după aplicarea tratamentului de spălare, probele control au prezentat valori ale numărului total de bacterii aerobe mezofile de $5,8 \log \text{ ufc g}^{-1}$, în timp de concentrația drojdiilor și mucegaiurilor a fost de $3,4 \pm 0,05 \log \text{ ufc g}^{-1}$ iar numărul de bacterii coliforme a avut valori de $2,0 \pm 0,05 \log \text{ ufc g}^{-1}$, aceste rezultate fiind în același interval de valori raportat în alte studii (Lu *et al.*, 2006; López-Gálvez *et al.*, 2010; Nou and Luo, 2010) și semnificativ diferite ($P < 0,05$) față de cele obținute în cazul utilizării tratamentelor de spălare clorinate.

În urma utilizării soluțiilor clorinate de 50, respectiv 100 mg L⁻¹ clor activ la spălarea salatei verzi românești, încărcătura microbiană a produsului vegetal a fost redusă cu 1, până la

1,8 log ufc g⁻¹ în cazul numărului total de bacterii aerobe mezofile, iar concentrația drojdiilor și mucegaiurilor cu 1,3 – 1,8 log ufc g⁻¹ imediat după aplicarea tratamentului de spălare, rezultate similare fiind înregistrate și în cadrul altor studii (Akbas and Ölmez, 2007; Ölmez and Kretzschmar, 2009; López-Gálvez *et al.*, 2010). În decursul depozitării, diferențele privind concentrațiile microbiene dintre probele tratate cu soluții de spălare diferite, înregistrate în ziua 0, au fost menținute în cazul celor doi parametri microbiologici menționați anterior, doar bacteriile coliforme înregistrând valori ce nu au fost semnificativ diferite între probele analizate, la finalul perioadei de păstrare.

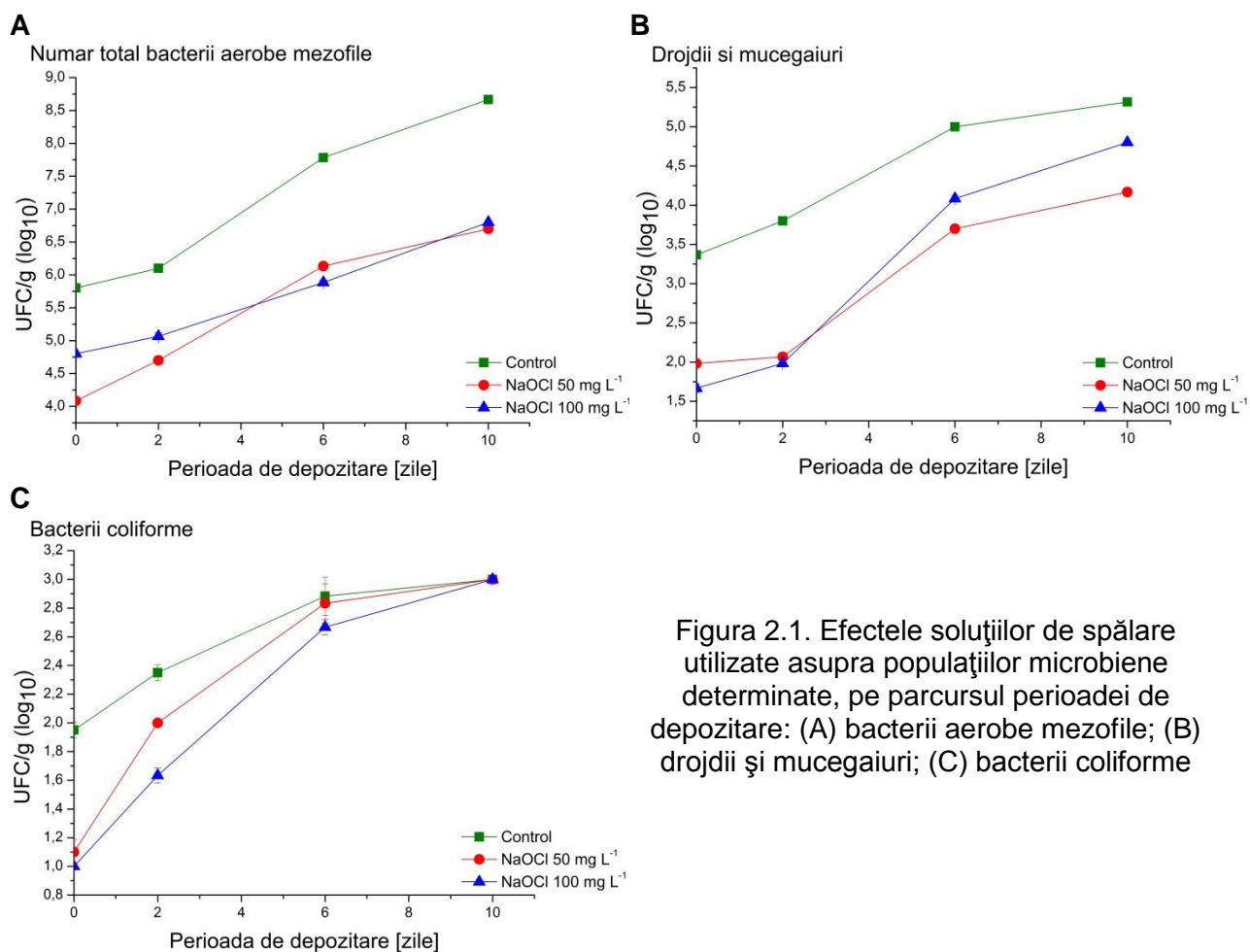


Figura 2.1. Efectele soluțiilor de spălare utilizate asupra populațiilor microbiene determinate, pe parcursul perioadei de depozitare: (A) bacterii aerobe mezofile; (B) drojii și mucegaiuri; (C) bacterii coliforme

2.1.2. Impactul soluțiilor de spălare clorinate asupra caracteristicilor fizico-chimice ale salatei

În urma determinării procentului pierderii de masă al probelor analizate, în decursul perioadei de depozitare de 10 zile, se observă o scădere uniformă a masei tuturor probelor, ca urmare a pierderii apei intracelulare. O pierdere mai redusă a putut fi observată în cazul probelor spălate cu apă de la robinet, însă diferențele între cele trei tipuri de soluții utilizate pentru spălarea frunzelor de salată au fost nesemnificative ($P < 0,05$). Se poate afirma însă, că pierderea de masă a probelor a fost mai însemnată după primele două zile de depozitare (Fig. 2.2.).

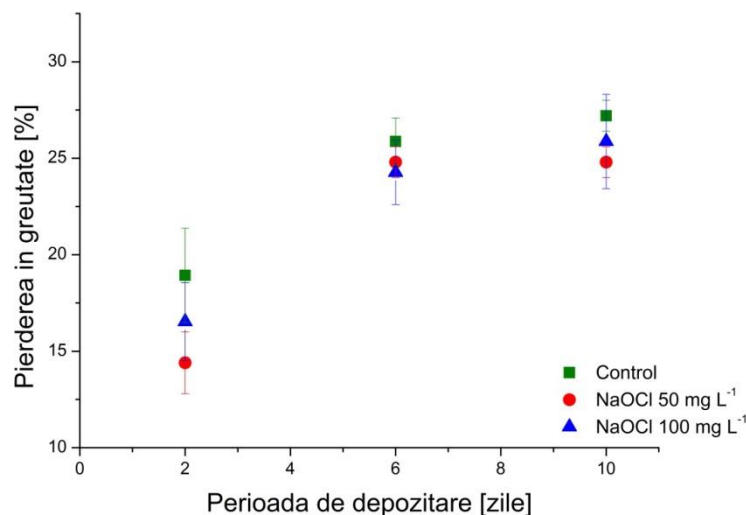


Figura 2.2. Procentul pierderii în greutate al probelor de salată spălate cu soluții clorinate

Probele de salată spălate cu soluții clorinate au înregistrat valori ale pH-ului semnificativ diferite ($P < 0,05$) față de probele control, atât imediat după aplicarea tratamentului de spălare cât și în decursul perioadei de depozitare (Fig. 2.3. A). Creșterea pH-ului apei conținând hipoclorit de sodiu a fost de asemenea observată de Artes *et al.* (2009), și explicată de generarea acidului hipocloros (HOCl) în soluție, agentul antimicrobian activ al soluției. Acidul disociază ușor la ioni de hipoclorit (OCl^-) la un pH mai ridicat sau clor gazos (Cl_2) la pH scăzut, ceea ce indică faptul că pH-ul soluției trebuie menținut în jurul valorilor de 6,5 – 7,5 astfel încât soluțiile de NaOCl să poată fi stabile și eficiente.

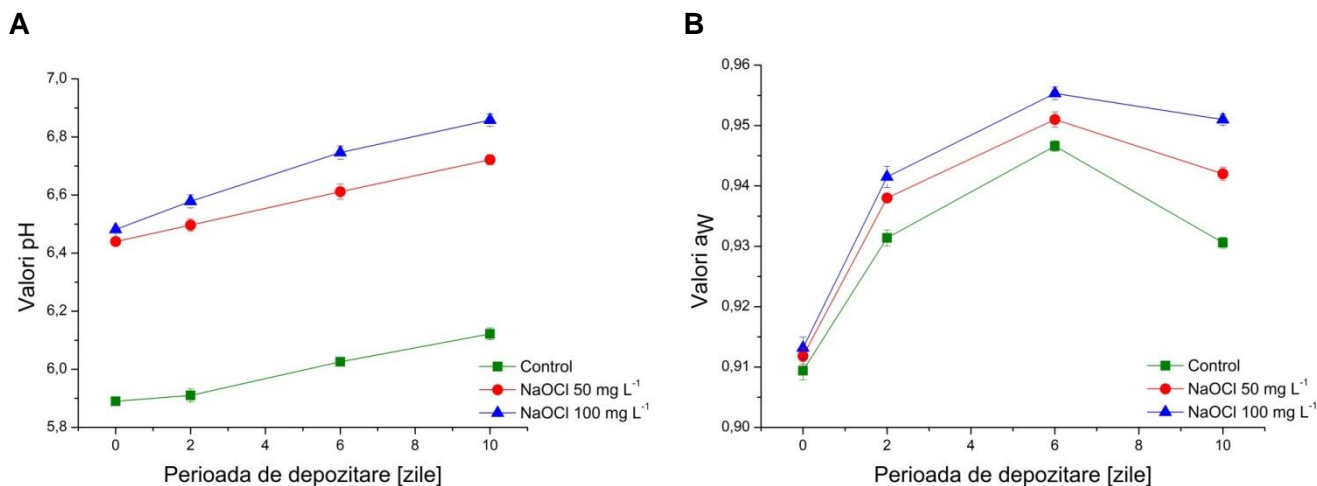


Figura 2.3. Valorile pH (A) și a_w (B) ale probelor de salată tratate cu soluții clorinate

Valorile activității apei (Fig. 2.3. B) ale probelor de salată supuse tratamentului de spălare cu soluții clorinate nu au fost semnificativ diferite ($P > 0,05$) față de cele ale probelor control, spălate doar cu apă de la robinet, imediat după aplicarea tratamentului, însă de-a lungul perioadei de depozitare, diferențele dintre cele trei soluții testate au fost semnificativ diferite ($P < 0,05$).

2.1.3. Calitatea senzorială a salatei verzi tratată cu soluții clorinate

Rezultatele înregistrate imediat după aplicarea tratamentului de spălare indică o bună calitate senzorială inițială, în cazul tuturor probelor. Soluțiile de spălare folosite nu au influențat parametrii senzoriali analizați, aceste rezultate fiind în concordanță cu cele raportate în literatură (Rodgers *et al.*, 2004; López-Gálvez *et al.*, 2010). În ziua 6 de păstrare, probele tratate cu NaOCl 50 mg L⁻¹ au notat cele mai bune rezultate în cazul tuturor parametrilor senzoriali urmăriți, în timp ce proba control a prezentat semne mai accentuate de îmbrunare, la fel și

probele tratate cu soluția NaOCl 100 mg L⁻¹, ele fiind depreciate însă și pentru culoarea frunzelor de salată. La finalul perioadei de depozitare, salata spălată cu soluția NaOCl 50 mg L⁻¹ a înregistrat cele mai bune rezultate pentru toate atributele senzoriale urmărite, în timp ce proba control a avut valori situate la limita inferioară de acceptabilitate în ceea ce privește îmbrunarea produsului, la fel și proba tratată cu NaOCl 100 mg L⁻¹ (Fig. 2.4.).

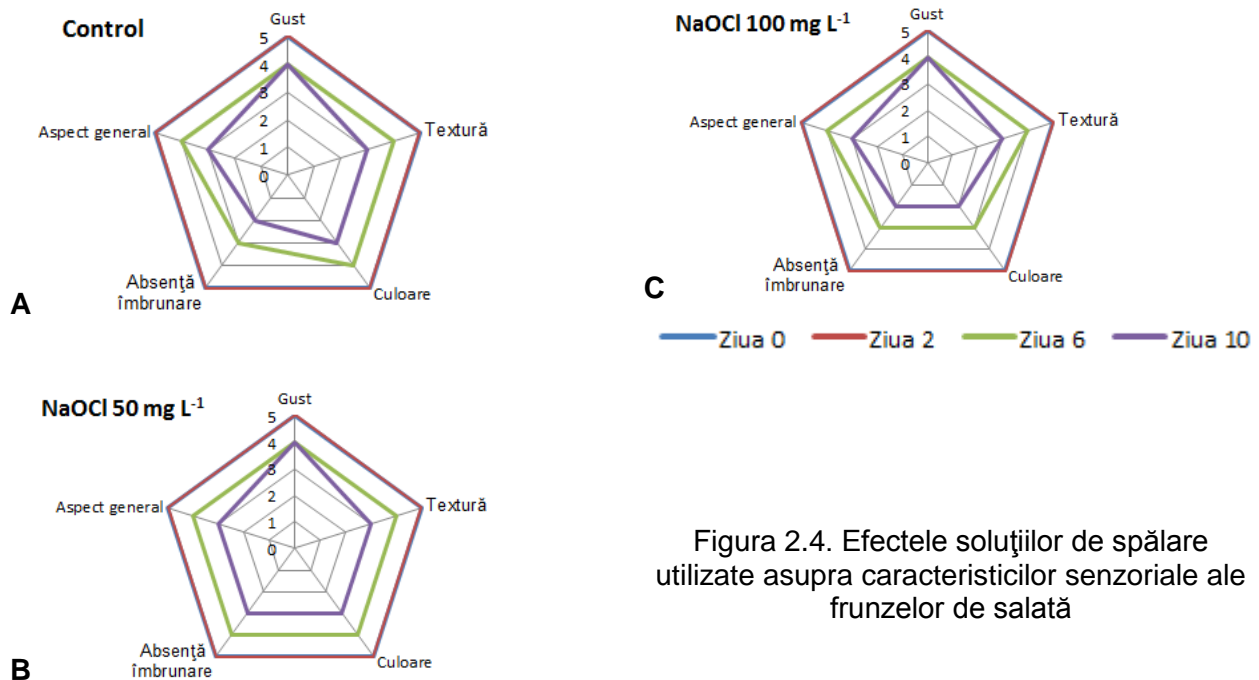


Figura 2.4. Efectele soluțiilor de spălare utilizate asupra caracteristicilor senzoriale ale frunzelor de salată

2.2. Concluzii

O atență alegere a soluțiilor de dezinfectare utilizate în cazul produselor vegetale gata-de-consum este necesară pentru reducerea microbiotei naturale și împiedicarea dezvoltării microorganismelor de alterare pe durata depozitării produselor alimentare. De asemenea, alegerea soluțiilor de spălare trebuie să aibă în vedere, atât efectele antimicrobiene ale acestora, cât și efectele lor asupra atributelor calitative ale produsului alimentar final, asupra mediului înconjurător și sănătății consumatorilor.

În urma testărilor efectuate, eficiența utilizării unei soluții de NaOCl 50 mg L⁻¹ în apa de spălare a frunzelor de salată a fost aproximativ egală cu cea a soluției de NaOCl 100 mg L⁻¹. Datele obținute sugerează că acceptabilitatea produsului a fost limitată de proliferarea microorganismelor de alterare, și nu de aspectul general al alimentului.

Pe baza rezultatelor obținute, soluțiile clorinate utilizate pot asigura menținerea unui număr scăzut de microorganisme pentru o perioadă de depozitare în condiții de refrigerare de 6 zile, timp în care criteriile microbiologice prevăzute de regulamentul 2073/2005 și completate de regulamentul 1441/2007 pentru legume și fructe tăiate anterior (gata pentru consum) au fost îndeplinite.

O igienă strictă de-a lungul întregului lanț alimentar (procesare, depozitare, distribuție) este obligatorie pentru evitarea contaminării. Chiar dacă rezultatele obținute în urma spălării salatei doar cu apă de la robinet nu au fost cu mult mai diferite de cele obținute în cazul utilizării soluțiilor clorinate, utilizarea agenților de dezinfectare este recomandată pentru evitarea contaminării încrucișate în timpul etapelor de procesare. Însă, noi metode și soluții cu efect antimicrobian sunt studiate pentru ca produsele clorinate să fie înlocuite, din cauza efectelor lor negative asupra sănătății.

Capitolul 3. UTILIZAREA ACIZILOR ORGANICI ÎN SOLUȚIILE DE SPĂLARE ALE SALATEI VERZI GATA-DE-CONSUM

3.1. Rezultate și discuții

3.1.1. Efectul antimicrobian al soluțiilor de acizi organici utilizate față de bacteria *Pseudomonas tolaasii*

Efectul inhibitor al celor șase soluții de acizi organici testat *in vitro* față de bacteria *Pseudomonas tolaasii* izolată din microbiota naturală a salatei verzi românești a fost studiat în vederea identificării celor mai eficiente soluții de spălare ce au demonstrat activitate antimicrobiană, rezultatele fiind prezentate în tabelul 3.1.

Tabel 3.1. Efectul antimicrobian al soluțiilor de acizi organici față de bacteria *Pseudomonas tolaasii*

Codul probei	AO utilizat	Concentrație AO, %	Zona de inhibiție*, mm		
			Timp de incubare, h		
			8	16	24
P1	Acid citric	1	0,0 (±0,0) ^a	3,3 (±1,2)	8,3 (±1,2)
P2	Acid citric	2	0,0 (±0,0) ^a	3,3 (±1,5)	9,0 (±1,0)
P3	Acid ascorbic	1	0,0 (±0,0) ^a	4,7 (±1,2)	8,3 (±1,5)
P4	Acid ascorbic	2	0,7 (±0,6) ^{a,c}	5,0 (±1,0)	9,3 (±0,6)
P5	Acid lactic	1	1,3 (±0,6) ^{b,c}	4,7 (±1,2)	9,7 (±0,6)
P6	Acid lactic	2	1,7 (±0,6) ^b	5,3 (±0,6)	10,0 (±0,0)

Valorile sunt exprimate în mm (± D.S.). Valorile medii din fiecare coloană urmate de litere diferite sunt semnificativ diferite conform testului statistic LSD ($P < 0,05$).

La finalul perioadei de termostatare, toate cele șase soluții de acizi organici testate au înregistrat valori similare în ceea ce privește diametrul maxim al haloului rezultat în jurul hârtiilor de filtru, ca urmare a efectului antimicrobian al soluțiilor de acizi organici utilizate față de bacteria *Pseudomonas tolaasii*.

3.1.2. Efectele soluțiilor de acizi organici utilizate asupra microbiotei naturale a salatei gata-de-consum

Imediat după aplicarea tratamentului de spălare, probele de salată au prezentat valori ale numărului total de bacterii aerobe mezofile de $4,9 \log \text{ ufc g}^{-1}$, în cazul utilizării soluției control de apă de la robinet, până la $3,7 \pm 0,5 \log \text{ ufc g}^{-1}$, pentru soluția de acid lactic 2%, în timp ce concentrația drojdiilor și mucegaiurilor a avut valori cuprinse între $4,0 \log \text{ ufc g}^{-1}$, în cazul probei control, până la $2,3 \pm 0,1 \log \text{ ufc g}^{-1}$ pentru soluția de acid lactic 2%. Și în cazul determinării concentrației de enterobacterii, proba control a înregistrat cea mai mare valoare, $3,6 \log \text{ ufc g}^{-1}$, urmată de salata spălată cu soluția de acid ascorbic 1%, în timp ce salata la spălarea căreia a fost utilizată soluția de acid lactic 2% a înregistrat valoarea cea mai mică a acestui parametru microbiologic, respectiv $2,3 \pm 0,1 \log \text{ ufc g}^{-1}$. După primele două zile de depozitare, concentrația numărului total de bacterii aerobe mezofile a înregistrat o creștere de 11,0% față de rezultatele notate în ziua 0. Cea mai redusă diferență față de valorile inițiale ale acestui parametru microbiologic, de 1,4%, a fost consemnată de probele de salată spălate cu soluția de acid citric 1%, în timp ce frunzele de salată tratate cu acid lactic 2% au indicat cea mai însemnată diferență a acestui parametru față de valorile inițiale, numărul total de bacterii aerobe mezofile fiind cu 34,9% mai numeros decât la finalizarea etapei de spălare.

Studiile dezvăluie rezultate diferite privind eficiența antimicrobiană a acizilor organici în raport cu aceleași specii de microorganisme (Tirpanalan *et al.*, 2011), probabil datorită toleranței specifice fiecărei tulpini microbiene față de caracterul acid al mediului înconjurător ei.

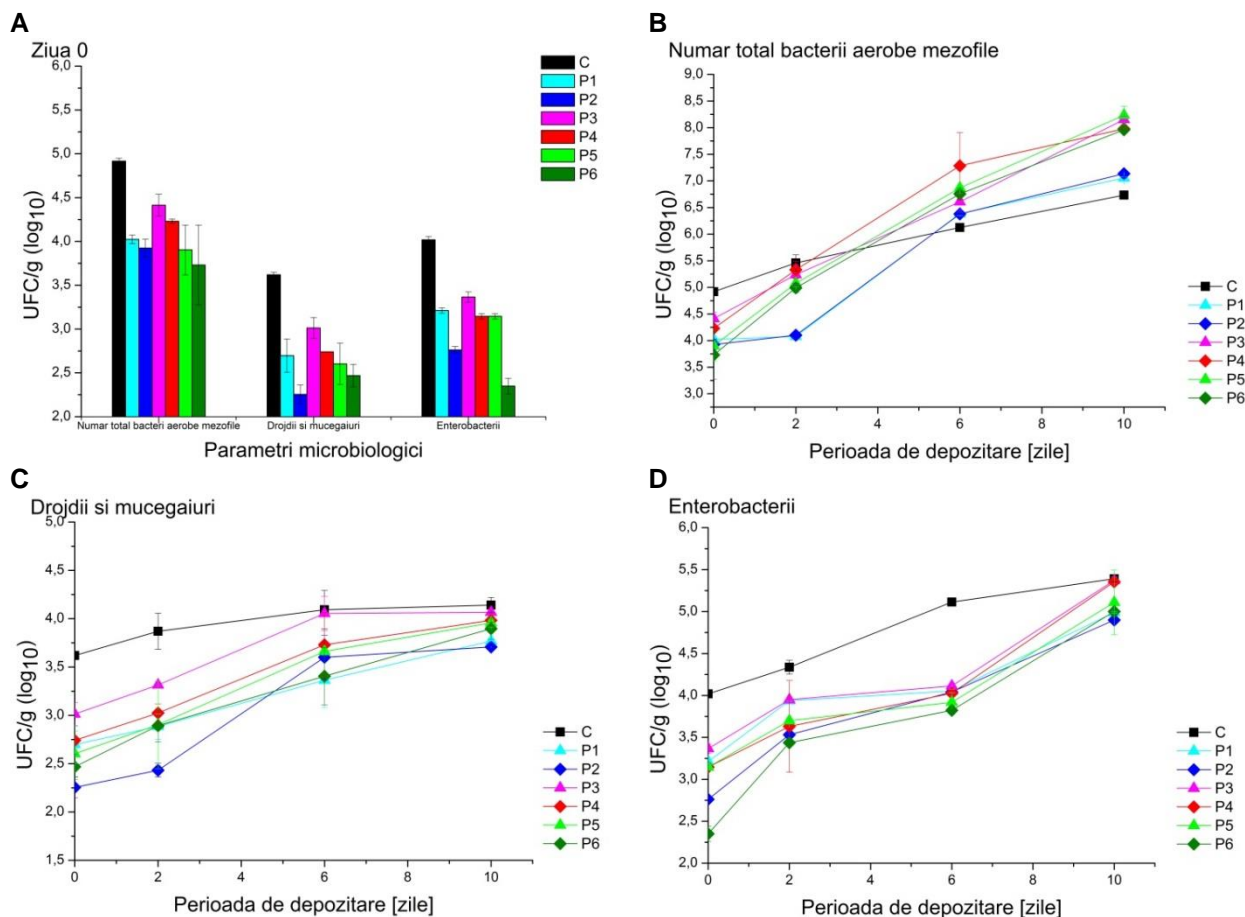


Figura 3.1. Efectele soluțiilor de acizi organici asupra populațiilor microbiene determinate, imediat după aplicarea tratamentului de spălare (A) și pe parcursul perioadei de depozitare: (B) număr total de bacterii aerobe mezofile; (C) drojii și mucegaiuri; (D) enterobacterii

3.1.3. Impactul soluțiilor de acizi organici utilizate asupra caracteristicilor fizico-chimice ale salatei gata-de-consum

În cazul tuturor probelor de salată spălate cu soluții de acizi organici precum și în cazul probei control, valoarea activității apei a crescut în urma procesului de spălare și s-a menținut de-a lungul perioadei de depozitare. Valorile activității apei au atins limitele maxime în ziua 6 de depozitare. În cazul tuturor soluțiilor de acizi organici testate, s-a putut observa că utilizarea unei concentrații mai mari a condus la obținerea unei valori a activității apei mai ridicate.

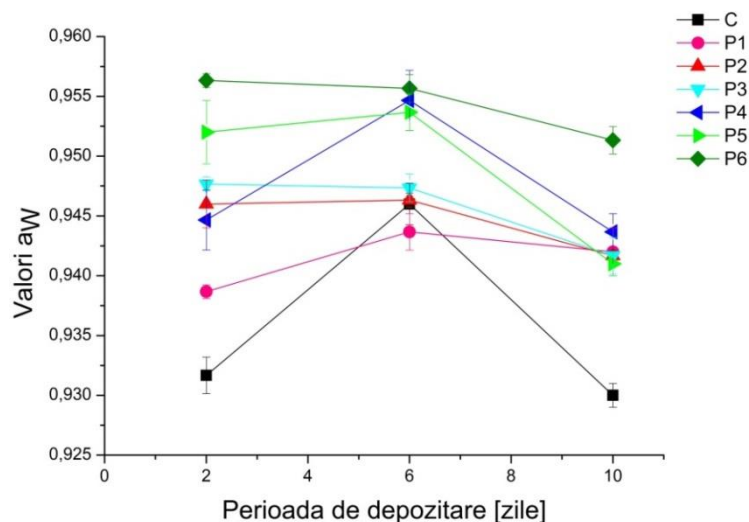


Figura 3.2. Valorile activității apei ale probelor de salată spălate cu soluții de acizi organici

În ceea ce privește valorile de pH ale probelor de salată analizate (Fig. 3.3.), se poate observa că imediat după spălarea cu soluții de acizi organici, pH-ul probelor a fost redus, în funcție de tipul de acid utilizat. Astfel, soluțiile de acid lactic au înregistrat cea mai evidentă reducere a valorii pH-ului frunzelor de salată, cu până la $4,32 \pm 0,07$ față de proba control, care după spălarea cu apă de la robinet a înregistrat o valoare a pH-ului de $5,88 \pm 0,009$. La finalul perioadei de depozitare, toate probele de salată supuse testării au înregistrat valori apropiate de pH, cuprinse între 5,50 și 6,10, în timp ce proba control a înregistrat o valoare de $5,59 \pm 0,05$ pentru acest parametru. Aceste rezultate pot fi atribuite mecanismelor homeostatice ale organismelor prezente în interiorul ambalajului, care pe durata depozitării, contracarează acțiunea agresivă a factorilor de mediu externi cu care interacționează, astfel încât prin procesul de reglare este realizată în mod constant o corectare a factorilor de mediu înconjurători (Nicolau, 2006; Tirpanalan *et al.*, 2011).

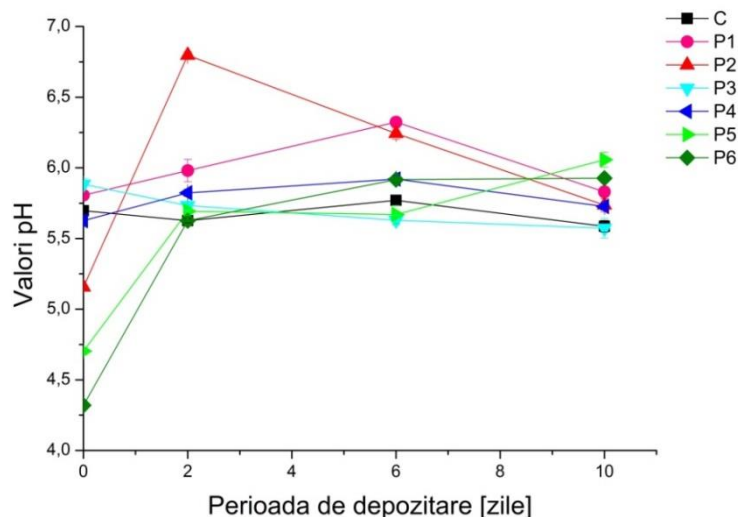


Figura 3.3. pH-ul probelor de salată spălate cu soluții de acizi organici

Analiza gazelor (CO_2 și O_2) din ambalaj pe durata depozitării (Fig. 3.4.) a evidențiat un comportament similar al tuturor probelor analizate în ceea ce privește consumul de oxigen și producerea de dioxid de carbon în interiorul pungilor cu salată. Utilizarea soluțiilor de spălare pe bază de acizi organici a influențat procesul de respirație al probelor de salată. Astfel, concentrații mai mari de CO_2 și mai mici de O_2 au fost înregistrate în cazul probelor spălate cu soluții de acid lactic, posibil din cauza apariției unui efect mai puternic de stres rezultat în urma utilizării acestui tratament (Martin-Diana *et al.*, 2008).

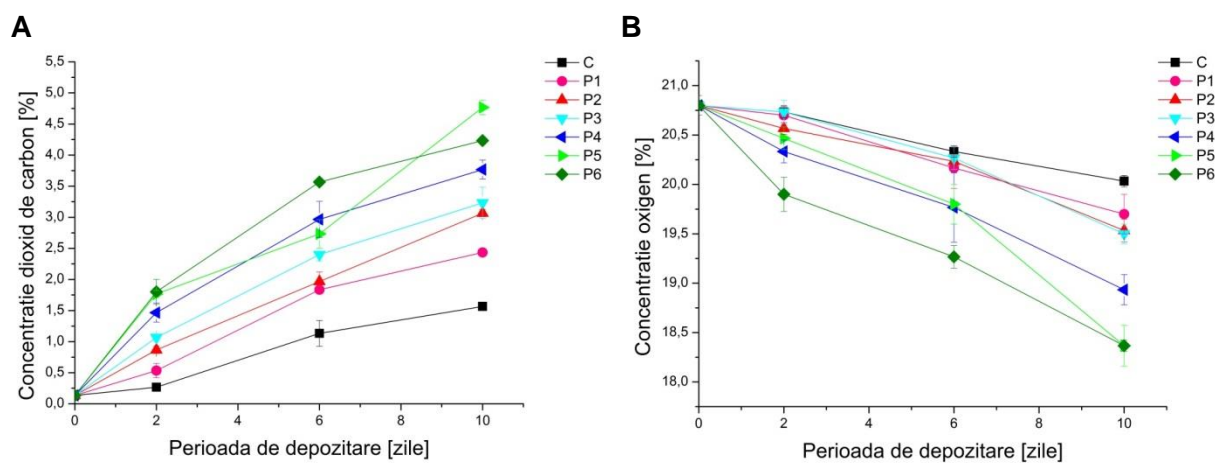


Figura 3.4. Concentrațiile de dioxid de carbon (A) și oxigen (B) înregistrate în perioada de depozitare

O modificare considerabilă a culorii a fost observată după primele zile de depozitare în cazul tuturor probelor tratate (Fig. 3.5.). Probele tratate cu soluțiile de acid acetic 1%, respectiv 2% au prezentat cea mai semnificativă diferență în raport cu probele control. Au fost obținute diferențe semnificative ($P < 0,05$) atât între soluțiile de acizi organici utilizate în procesul de spălare cât și între zilele de depozitare. Întrucât procesul de îmbrunare poate fi exprimat în funcție de valoarea a^* , rezultatele obținute în acest studiu sunt în acord cu cele enunțate de Lonchamp *et al.* (2009), privind fenomenul de îmbrunare al frunzelor în timpul perioadei de depozitare, respectiv al pierderii culorii verzi. Se observă că diferența cea mai mare față de valorile înregistrate în ziua 0 a fost obținută de soluțiile de acid lactic, în timp ce soluțiile de acid citric au arătat cea mai redusă diferență față de momentul inițial al analizei.

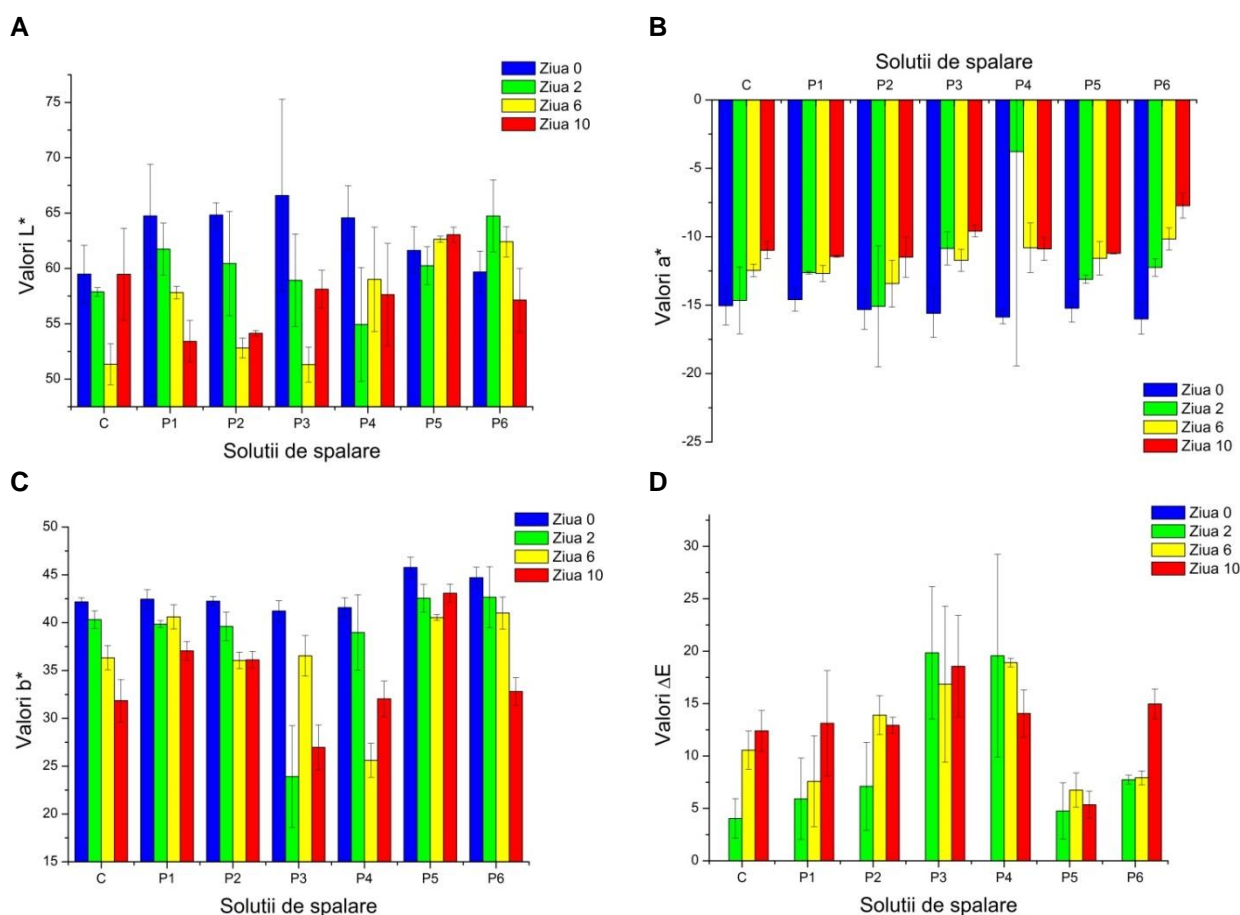


Figura 3.7. Valorile L^* (A), a^* (B), b^* (C) și valorile ΔE calculate (D) ale probelor de salată tratate cu soluții de acizi organici, înregistrate de-a lungul perioadei de depozitare

3.1.4. Calitatea senzorială a salatei verzi gata-de-consum tratată cu soluții de acizi organici

Rezultatele înregistrate imediat după aplicarea tratamentului de spălare indică o bună calitate senzorială inițială, în cazul tuturor probelor. După 10 zile de depozitare, toate probele au prezentat o depreciere însemnată a aspectului general, fiind înregistrate valori între $3,4 \pm 0,55$ în cazul utilizării soluției de acid citric 2%, și $1,64 \pm 0,55$ pentru probele tratate cu soluția de acid lactic 2%. Aceste rezultate sunt în concordanță cu studiul derulat de Kim and Klieber (1997), care utilizând o soluție de acid citric 1% a prelungit termenul de valabilitate al verzei chinezești de la 10 zile la 14 zile, în condiții de refrigerare, probele semnalând doar o mică reducere a valorii pH-ului, fără deprecierea gustului.

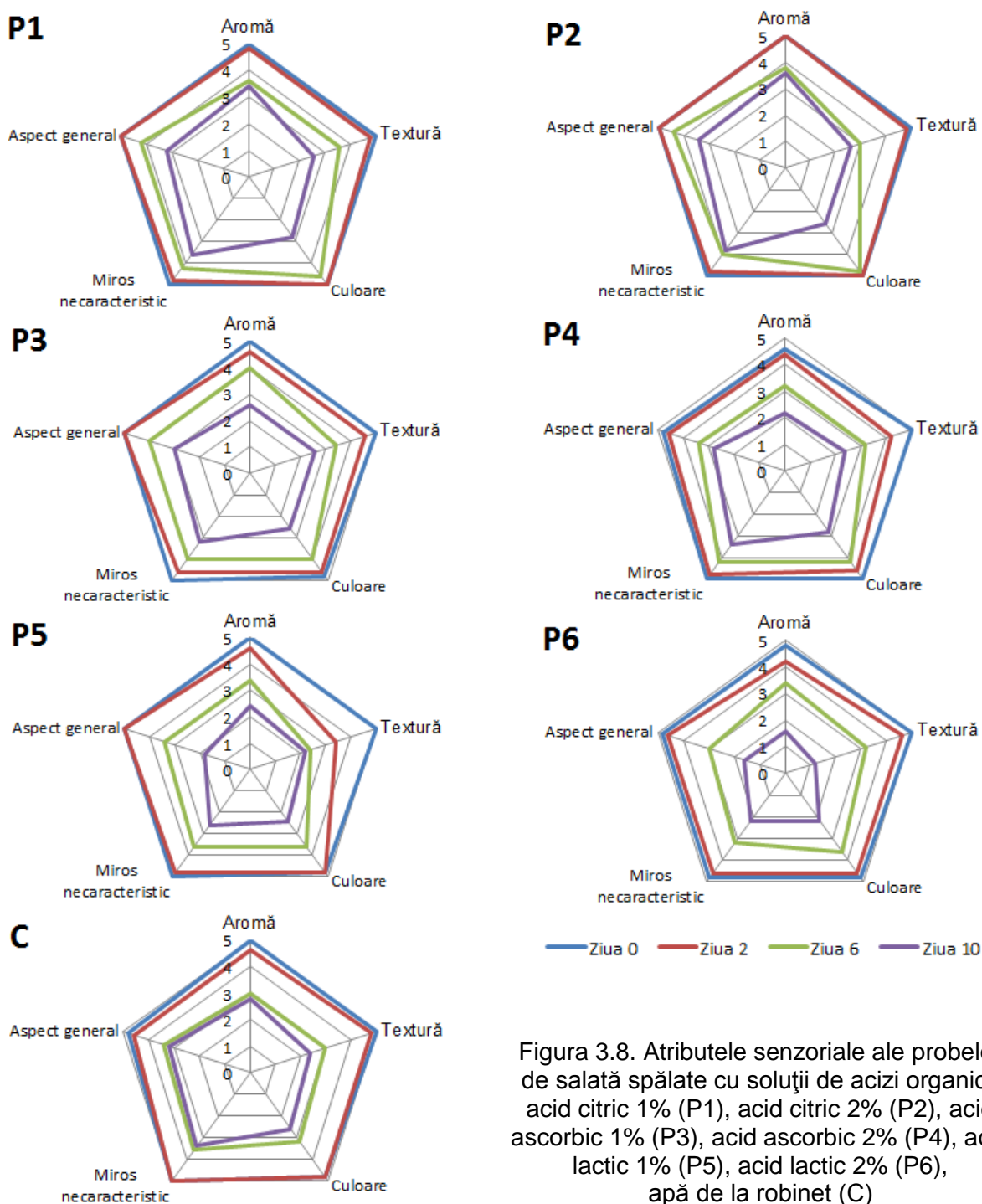


Figura 3.8. Atributele senzoriale ale probelor de salată spălate cu soluții de acizi organici: acid citric 1% (P1), acid citric 2% (P2), acid ascorbic 1% (P3), acid ascorbic 2% (P4), acid lactic 1% (P5), acid lactic 2% (P6), apă de la robinet (C)

3.2. Concluzii

În mod cert, efectul antimicrobian al soluțiilor de acizi organici utilizate la spălarea salatei verzi depinde de acidul utilizat. De asemenea, concentrația soluției utilizate are un aport important în ceea ce privește rezultatele antimicrobiene obținute, dar în același timp, utilizarea unei concentrații prea ridicate de acid organic în soluția de spălare poate duce la deprecierea caracteristicilor senzoriale ale produsului testat. În urma testelor efectuate, soluțiile de acid citric de 1%, respectiv 2% au înregistrat cele mai bune rezultate, atât din punct de vedere microbiologic cât și senzorial, în timp ce utilizarea soluțiilor de acid lactic a condus la apariția unor puternice modificări senzoriale ale probelor de salată la finalul perioadei de depozitare.

Perioada de valabilitate comercială a acestui produs, ambalat în atmosferă normală și tratat cu soluții de spălare clorinate nu depășește de obicei 3 zile, însă salata spălată cu soluțiile de acid citric îndeplinesc criteriile microbiologice prevăzute de regulamentul 2073/2005 și

completate de regulamentul 1441/2007 pentru legume și fructe tăiate anterior (gata pentru consum) și în ziua a șasea de depozitare, astfel încât utilizarea unei soluții de acid citric 1% poate fi recomandată spre utilizare, înlocuind astfel soluțiile de spălare clorinate. Mai mult, întrucât adăugarea de suc de lămâie sau oțet la prepararea unei salate constituie o practică obișnuită în rândul consumatorilor, viitoare cercetări vor putea urmări utilizarea de acizi organici în soluțiile de spălare ale salatei, evitând etapa de clătire a probelor, urmărindu-se astfel prelungirea termenului de valabilitate al salatei gata-de-consum și îndeplinirea cerințelor consumatorilor privind atributele senzoriale ale produsului selectat.

Capitolul 4. UTILIZAREA ULEIURILOR ESENȚIALE ÎN SOLUȚIILE DE SPĂLARE ALE SALATEI VERZI GATA-DE-CONSUM

4.1. Rezultate și discuții

4.1.1. Optimizarea evaluării aromei salatei proaspăt tăiată utilizând nasul electronic

Salată tăiată mărunt și salată mojarată, a fost supusă analizei nasului electronic, utilizând 4 protocoale diferite, cu scopul identificării celei mai potrivite metode de analiză pentru acest produs alimentar.

În urma analizei, răspunsul senzorilor a fost aproximativ similar în cazul tuturor celor 4 metode, pentru cele două probe. Pentru investigații viitoare, metoda de preparare a probei va presupune tăierea măruntă a frunzelor de salată și nu mojararea lor, astfel încât probele să poată reprezenta cât mai real starea naturală a frunzelor de salată proaspăt tăiate. Metoda de analiză aleasă pentru a fi utilizată în investigații următoare presupune un timp de incubare de 180 s și o temperatură de incubare redusă, de 35 °C.

4.1.2. Efectul antimicrobian al soluțiilor de uleiuri esențiale utilizate față de bacteriile *Pseudomonas tolaasii* și *Escherichia coli* ATCC® 8739

Efectul inhibitor al celor nouă soluții de uleiuri esențiale, testat *in vitro* față de bacteria *Pseudomonas tolaasii* izolată din microbiota naturală a salatei verzi românești și tulpina de referință *Escherichia coli* ATCC® 8739 a fost studiat în vederea identificării celor mai eficiente soluții de spălare ce au demonstrat activitate antimicrobiană, rezultatele fiind prezentate în tabelul 4.1.

Tabel 4.1. Efectul antimicrobian al soluțiilor de uleiuri esențiale față de bacteriile *Pseudomonas tolaasii* și *Escherichia coli* ATCC® 8739

Codul probei	EO utilizat	Concentrație sol. EO, ppm	Zona de inhibiție*, mm (Timp de incubare, 24 h)	
			<i>Pseudomonas tolaasii</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC® 8739
ONI 100	Ulei esențial de ceapă	100	5,33 (±0,5) ^t	6,17 (±0,4) ^{b,c,f}
ONI 250	Ulei esențial de ceapă	250	6,67 (±0,5) ^{b,c,e}	7,67 (±0,5) ^{a,d}
ONI 500	Ulei esențial de ceapă	500	8,00 (±0,9) ^a	8,17 (±0,8) ^a
ORE 100	Ulei esențial de oregano	100	5,17 (±0,4) ^f	5,50 (±0,5) ^b
ORE 250	Ulei esențial de oregano	250	5,50 (±0,5) ^{d,f}	6,33 (±0,5) ^{c,f}
ORE 500	Ulei esențial de oregano	500	6,17 (±0,4) ^{c,d,e,g}	7,17 (±0,8) ^{d,e}
THY 100	Ulei esențial de cimbru	100	5,33 (±0,5) ^{f,g}	6,00 (±0,6) ^{b,f}
THY 250	Ulei esențial de cimbru	250	6,33 (±0,5) ^{c,d,e}	6,83 (±0,8) ^{c,d,e}
THY 500	Ulei esențial de cimbru	500	7,33 (±0,8) ^{a,b}	8,00 (±0,6) ^a

*Valorile din aceeași coloană urmate de exponent diferit sunt semnificativ diferite conform testului statistic LSD ($P < 0,05$). Valorile reprezintă media a șase determinări ± D.S.

După 24 h de termostatare, ONI 500 și THY 500 au înregistrat cea mai mare zonă de inhibiție, între rezultatele celor două probe neexistând diferențe semnificative ($P > 0,05$). De fiecare dată, mărimea diametrului zonei de inhibiție a fost direct proporțională cu creșterea concentrației de ulei esențial.

4.1.3. Impactul soluțiilor de uleiuri esențiale asupra caracteristicilor microbiologice ale salatei

O reducere semnificativă ($P < 0,05$) a numărului total de bacterii aerobe mezofile a fost observată imediat după aplicarea tratamentului de spălare în cazul tuturor soluțiilor de uleiuri esențiale, în comparație cu rezultatele obținute în cazul probei martor, ce a înregistrat cea mai mare valoare a acestui parametru microbiologic ($6,7 \pm 0,07 \log \text{cfu g}^{-1}$).

Soluția THY 500 a înregistrat o valoare inițială a numărului total de bacterii aerobe mezofile semnificativ redusă, același rezultat fiind notat și de ONI 500 și ORE 500. După 5 zile de depozitare în condiții de refrigerare, probele control au înregistrat cea mai mare populație microbiană, concentrația numărului total de bacterii aerobe mezofile fiind cu 8,38% mai mare decât în ziua 0, rezultat semnificativ diferit față de cel obținut în cazul utilizării soluțiilor de uleiuri esențiale ($P < 0,05$), ONI 500 înregistrând cea mai însemnată diferență față de proba control, o concentrație cu 21,07% mai redusă a numărului total de bacterii aerobe mezofile. La finalul depozitării, ONI 250 a înregistrat cea mai mare reducere microbiană, cu 5,99% față de proba control.

Imediat după ce tratamentul de spălare a fost aplicat, ORE 500 a notat cea mai eficientă activitate antimicrobiană față de enterobacterii. În timpul depozitării, ONI 250 și ONI 500 au înregistrat rezultate semnificativ diferite ($P < 0,05$) față de cele soluția control, însă numai ONI 250 a înregistrat cea mai redusă dezvoltare a enterobacteriilor. Drojdiile și mucegaiurile au înregistrat o ușoară dezvoltare în cazul probelor control pe parcursul depozitării, însă rezultatele au arătat că acestea nu au fost principalele microorganisme de alterare ale probelor de salată proaspăt tăiată. La finalul depozitării, ONI 100 a fost singura probă ce nu a înregistrat un rezultat semnificativ diferit față de cel al probei control ($P > 0,05$).

Observând diferențele între rezultatele obținute în cazul celor trei parametri microbiologici urmăriți, este evident faptul că soluțiile de uleiuri esențiale au un efect inhibitor imediat în ceea ce privește dezvoltarea numărului total de bacterii aerobe mezofile, fiind obținută o reducere a acestora de cca. $1,0 \log \text{ufc g}^{-1}$, un rezultat similar fiind obținut de Nou și Luo (2010), când un tratament de 60 s apă clorinată a fost utilizat la spălarea salatei verzi proaspăt tăiate. Apa clorinată este de departe cel mai utilizat agent dezinfectant în industria alimentelor minimal procesate, însă eficiența ei este minimă (Allende *et al.*, 2008; Velázquez *et al.*, 2009; Bermúdez-Aguirre and Barbosa-Cánovas, 2013).

Acest studiu arată că soluțiile de spălare conținând uleiuri esențiale nu au numai un efect inhibitor imediat asupra dezvoltării microorganismelor, ci sunt capabile să mențină parametri microbiologici constanți și la nivelul joase de-a lungul unei perioade de depozitare de 5 zile în condiții de refrigerare, în timp ce apa clorinată de la robinet nu este capabilă să atingă aceste rezultate.

4.1.4. Impactul soluțiilor de uleiuri esențiale utilizate asupra caracteristicilor fizico-chimice ale salatei gata-de-consum

- **Compoziția gazelor din interiorul ambalajului**

În ziua 5 de păstrare, nu au fost observate diferențe semnificative ($P > 0,05$) între probe, însă la finalul depozitării, proba control a înregistrat cea mai scăzută concentrație de CO_2 și cele mai ridicate valori pentru O_2 , în timp ce pentru amândoi parametri, ONI 500 și ORE 500 au înregistrat rezultate semnificativ diferite ($P < 0,05$). O posibilă explicație a acestora poate fi atribuită faptului că utilizarea unor concentrații mai ridicate de uleiuri esențiale poate afecta rata de respirație a probelor de salată. Concentrații ridicate de uleiuri esențiale de ceapă și oregano pot duce la apariția unui efect de stres mai accentuat la nivelul țesutului vegetal, cauzat de tratamentele de spălare mai concentrate (Surjadinata and Cisneros-Zevallos, 2003), așa cum concentrații ridicate de ceai verde au fost menționate drept factori ce cresc rata de respirație a salatei proaspăt tăiate (Martin-Diana *et al.*, 2008).

- **pH**

Probele control au înregistrat un pH inițial de $5,89 \pm 0,05$. Imediat după ce tratamentele de spălare au fost aplicate, doar ONI 250 și ORE 100 au înregistrat diferențe semnificative ($P < 0,05$) față de probele control, în timp ce, în ziua 5 de depozitare, nu a fost notată nicio diferență semnificativă între probe ($P > 0,05$). La finalul perioadei de păstrare, o creștere a pH-ului s-a observat în cazul tuturor probelor, fenomen menționat și de alți autori (Gómez-López *et al.*, 2005; Martin-Diana *et al.*, 2008), și interpretat drept un efect al dezvoltării microorganismelor Gram negative. În ziua 10 de păstrare, ONI 250 a arătat din nou un rezultat semnificativ diferit ($P < 0,05$) față de cel al probelor control, la fel și THY 100, în timp ce probele control au înregistrat cea mai redusă valoare de pH, de $5,97 \pm 0,27$.

- **Activitatea apei**

Efectul imediat al uleiurilor esențiale asupra activității apei a fost semnificativ diferit ($P < 0,05$) față de cel înregistrat în cazul folosirii apei de la robinet, ce a înregistrat valorile cele mai reduse, cu excepția ONI 100, care a obținut diferențe nesemnificative ($P > 0,05$) față de proba martor. În timpul depozitării, în ziua 5, proba control și ONI 100 și-au menținut valorile scăzute și nu au înregistrat nicio diferență semnificativă ($P > 0,05$) între ele. La finalul depozitării, probele de salată spălate cu apă de la robinet au consemnat diferențe semnificative ($P < 0,05$) față de probele tratate cu soluțiile de uleiuri esențiale, în ceea ce privește valorile a_w . Toate probele au fost capabile să mențină valori constante ale acestui parametru în primele 5 zile de depozitare, în timp ce în ziua 10 toate probele de salată au înregistrat valori reduse ale activității apei.

- **Culoare**

Imediat după ce tratamentele de spălare au fost aplicate, nu au fost înregistrate diferențe semnificative ($P > 0,05$) între probe în ceea ce privește valorile L^* , a^* și b^* . În ziua 5 de depozitare, ONI 100, ONI 250, THY 250 și THY 500 au indicat valori L^* scăzute, ceea ce poate indica apariția fenomenului de îmbrunare (Martin-Diana *et al.*, 2008), însă doar ONI 250, ORE 250 și THY 500 au înregistrat diferențe semnificative ($P < 0,05$) față de probele control, când diferența totală de culoare a fost calculată.

În comparație cu probele control, probele tratate cu soluțiile de uleiuri esențiale au înregistrat valori reduse în cazul luminozității în ziua 5, fenomen observat și de Martin-Diana *et al.* (2008) în cazul utilizării extractului de ceai verde în vederea prelungirii perioadei de valabilitate a salatei proaspăt tăiate. O creștere a valorilor parametrului a^* a fost observată în cazul tuturor probelor pe parcursul perioadei de păstrare, indicând o trecere de la verde spre roșu, însă această diferență a fost mai pronunțată pentru probele control, ce au arătat o diferență de două ori mai mare decât restul probelor, în timpul depozitării. Întrucât acest parametru poate reflecta, de asemenea, pierderea clorofilei (Bolin and Huxoll, 1991), acest studiu demonstrează că tratamentele de spălare cu uleiuri esențiale nu afectează culoarea verde a frunzelor imediat după aplicare.

4.1.5. Impactul soluțiilor de uleiuri esențiale utilizate asupra atributelor senzoriale ale salatei gata-de-consum

- **Răspunsul nasului electronic**

Discriminarea între diferite probe de salată a fost realizată prin utilizarea analizei componentelor principale (PCA), bazată pe răspunsul tuturor senzorilor, astfel încât să poată fi evitată orice posibilă variație datorată selecției automate a senzorilor optima pentru probele supuse testării. Nasul electronic a fost utilizat în scopul evaluării diferențelor volatile dintre probe, apărute ca urmare a utilizării uleiurilor esențiale în etapa de spălare a salatei proaspăt tăiate. Imediat după aplicarea tratamentului de spălare, rezultatele PCA au reprezentat 87% din variația totală de date și au evidențiat separarea probelor conform tratamentului de spălare aplicat.

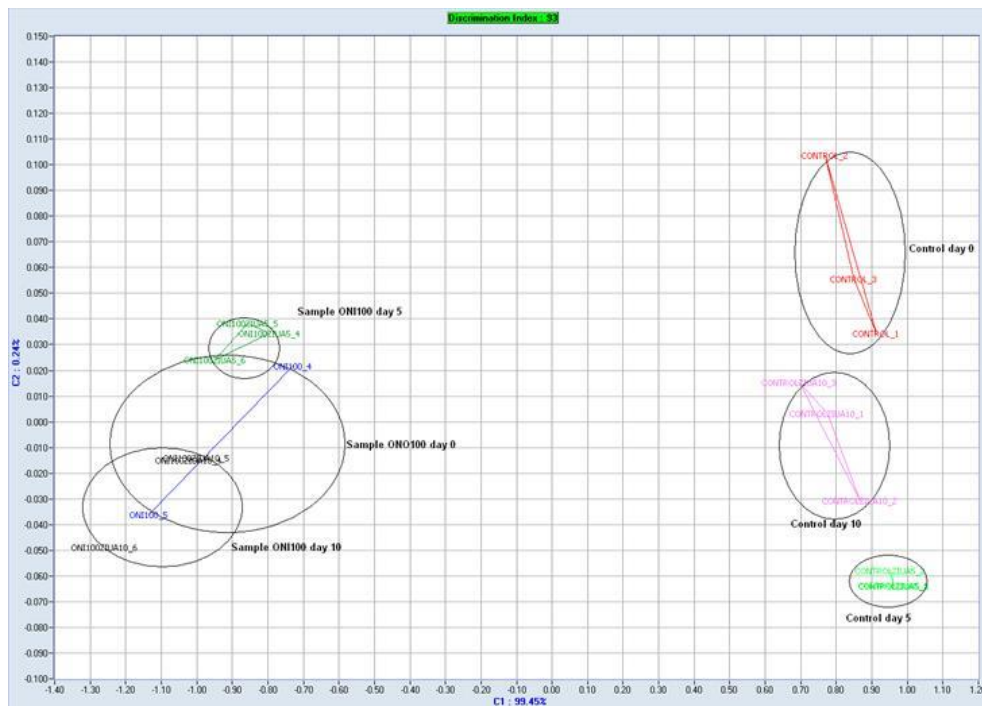


Figura 4.1. Analiza PCA a răspunsului senzorial și rezultatele probelor de salată tratate cu 100 ppm ulei esențial de ceapă, pe durata a 10 zile de depozitare (variație explicată = 93%)

Pentru a putea investiga profilul volatil al probelor de salată pe parcursul perioadei de depozitare, și pentru a putea găsi un comportament de grup care să poată fi atribuit termenului de valabilitate al salatei proaspăt tăiate (Peris and Escuder-Gilabert, 2009), probele au fost aranjate conform tratamentului de spălare aplicat. Graficele PCA au arătat rezultate similare pentru probele control în decursul perioadei de păstrare, acestea fiind reprezentate de fiecare dată în același cadran al graficului. Micile diferențe apărute între probe evidențiază stabilitatea probelor de salată pe durata depozitării în condiții de refrigerare. În decursul perioadei de depozitare de 10 zile, toate tratamentele aplicate au arătat aceeași tendință de-a lungul componentelor principale, cu excepția ONI 100 și ONI 250. În cazul acestor două probe, rezultatele arată că diferența dintre probele control și probele ONI, în prima zi, a fost cea mai evidentă, în timp ce în ziua 5 probele ONI au fost regăsite într-un cadran mai apropiat față de martori. O posibilă explicație a acestui rezultat poate fi atribuită prezenței unor agenți volatili puternici imediat după aplicarea tratamentului, a căror intensitate a scăzut pe parcursul depozitării. Probele ONI 500 au înregistrat un model asemănător tuturor probelor ORE și THY. Separarea probelor ORE și THY în funcție de timpul de depozitare a dezvoltat aceeași distribuție a PCA, totalizând un indice de discriminare de 90%, respectiv 92%. Toate cele trei concentrații testate de uleiuri esențiale de oregano și cimbru au fost capabile să mențină proprietățile senzoriale inițiale până în ziua 5 de depozitare, urmând apoi o deteriorare semnificativă a probelor, ce a putut fi înregistrată în ziua 10 de analiză.

Eficiența soluțiilor de spălare pe bază de uleiuri esențiale nu a putut fi regăsită la finalul perioadei de depozitare, dar tendința analizei PCA a probelor este luată în calcul în vederea definirii unui timp de stabilitate al menținerii prospețimii (Torri *et al.*, 2010). Așadar, rezultatele obținute subliniază aplicabilitatea tehnologiei denumite nas electronic de a verifica modificările senzoriale, sistemul putând reprezenta o variantă avantajoasă de monitorizare a termenului de valabilitate al salatei proaspăt tăiate dar și de detectare obiectivă a modificărilor volatile ce pot avea loc ca rezultat al utilizării tratamentelor de spălare pe bază de uleiuri esențiale, venind astfel în completarea rezultatelor obținute prin analiza senzorială clasică, cu ajutorul panelului.

- **Răspunsul panelului instruit**

Pentru verificarea performanței nasului electronic în anticiparea termenului de valabilitate al salatei proaspăt tăiate, sistemul olfactiv de măsurare a fost corelat cu valorile obținute din analiza senzorială realizată de un panel instruit. Proprietățile senzoriale ale

probelor s-au depreciat continuu. Considerând limita de acceptabilitate și rezultatele aprecierii totale, toate soluțiile de spălare pe bază de uleiuri esențiale au fost acceptate de către paneliști. Totuși, în ziua 0, mirosuri necaracteristice au fost mai persistente în cazul probelor ONI 250 și ONI 500, ele fiind semnificativ diferite ($P < 0,05$) față de probele control și cele spălate cu soluții conținând uleiuri esențiale de oregano și cimbru, ca urmare a unui impact senzorial mai puternic al unor concentrații mai ridicate față de aroma mai slabă a salatei (Gutierrez *et al.*, 2009). Conform acestor rezultate, trebuie subliniat faptul că uleiul de ceapă utilizat în concentrații mai mari de 100 ppm duce la apariția unei arome puternice nedorite, așa cum a fost ea descrisă de paneliști. În ziua 5 de depozitare, toate probele au arătat semne de degradare, în comparație cu ziua inițială. Cu toate acestea, probele tratate cu uleiuri esențiale au fost acceptate în ceea ce privește calitățile senzoriale. La finalul depozitării, probele control au înregistrat cele mai bune rezultate privind toate atributele chestionate. Cu toate că acest tip de analiză este dependentă de preferințele umane (Mexis *et al.*, 2009), în general, caracteristicile senzoriale naturale ale produsului au fost substanțial afectate de utilizarea unor concentrații diferite de uleiuri de ceapă, oregano și usturoi, fiind astfel înregistrate diferențe semnificative ($P < 0,05$) în ceea ce privește aprecierea totală, raportat la probele control. O posibilă explicație a acestui rezultat poate fi legată de un efect temporar al uleiurilor esențiale, ce nu a persistat până în ultima zi de depozitare.

4.2. Concluzii

Buna corelare a rezultatelor bazate pe tehnicile clasice de analiză fizico-chimică (pH, culoare, activitatea apei, compoziția gazelor din interiorul ambalajului) și datele microbiologice au confirmat analiza senzorială privind dependența termenului de valabilitate al salatei proaspăt tăiate de tipul de tratament de spălare aplicat. În ceea ce privește eficiența microbiană imediată dar și pe termen lung, de-a lungul perioadei de depozitare, ONI 500, ONI 250 și THY 500 au obținut cele mai bune rezultate, în timp ce datele analizelor fizico-chimice au arătat că doar utilizarea unor concentrații reduse de uleiuri esențiale conduce la menținerea calității și prospețimii salatei proaspăt tăiate. Totuși, în ceea ce privește atributele senzoriale, atât nasul electronic cât și panelul instruit au evidențiat faptul că soluțiile de spălare conținând uleiuri esențiale nu au fost capabile să mențină proprietățile senzoriale inițiale până în a zecea zi de depozitare. Cu toate acestea însă, utilizarea soluțiilor de spălare conținând uleiuri esențiale naturale a condus la menținerea constantă a valorilor unor parametri fizico-chimici importanți precum activitatea apei și pH-ul, ce au contribuit astfel la obținerea unor bune rezultate microbiologice până în ziua 5 de depozitare, în timp ce perioada de valabilitate comercială a acestui produs, ambalat în atmosferă normală și tratat cu soluții de spălare clorinate nu depășește de obicei 3 zile. Posibile proiecte pe baza acestui studiu ar putea include dezvoltarea unui tratament natural de sanitizare a salatei proaspăt tăiate astfel încât soluțiile clorinate să fie înlocuite, însă mai sunt necesare studii viitoare privind optimizarea procesului de evaluare al perioadei de valabilitate al produselor minimal procesate. De vreme ce ONI 500 a fost considerată o concentrație prea mare, ce a avut un impact negativ asupra atributelor senzoriale, este nevoie de o dezvoltare viitoare a tratamentului cu uleiuri esențiale, care să permită o mai bună înțelegere a interacțiilor complexe atunci când concentrații de 300 până la 500 ppm ulei esențial de ceapă sunt folosite.

Capitolul 5. UTILIZAREA TRATAMENTULUI CU PLASMĂ RECE CA METODĂ DE DECONTAMINARE A SALATEI VERZI

5.1. Efectele tratamentului cu plasmă rece asupra inactivării microorganismelor *Escherichia coli* O157:H7 și *Listeria innocua*

5.1.1. Rezultate și discuții

În urma aplicării tratamentului cu plasmă rece, s-a observat o reducere semnificativă a viabilității *Escherichia coli* O157:H7, respectiv *Listeria innocua*. În cazul probelor control, recuperarea populației microbiene a fost de 5,4 până la 6,7 log ufc mL⁻¹. În ceea ce privește

reducerea concentrației microbiene a probelor supuse tratamentului cu plasmă, raportată la probele maror, aceasta a variat în funcție de puterea, distanța și timpul de expunere (Fig. 5.1.), fiind înregistrate reduceri de până la 4,6 log ufc mL⁻¹.

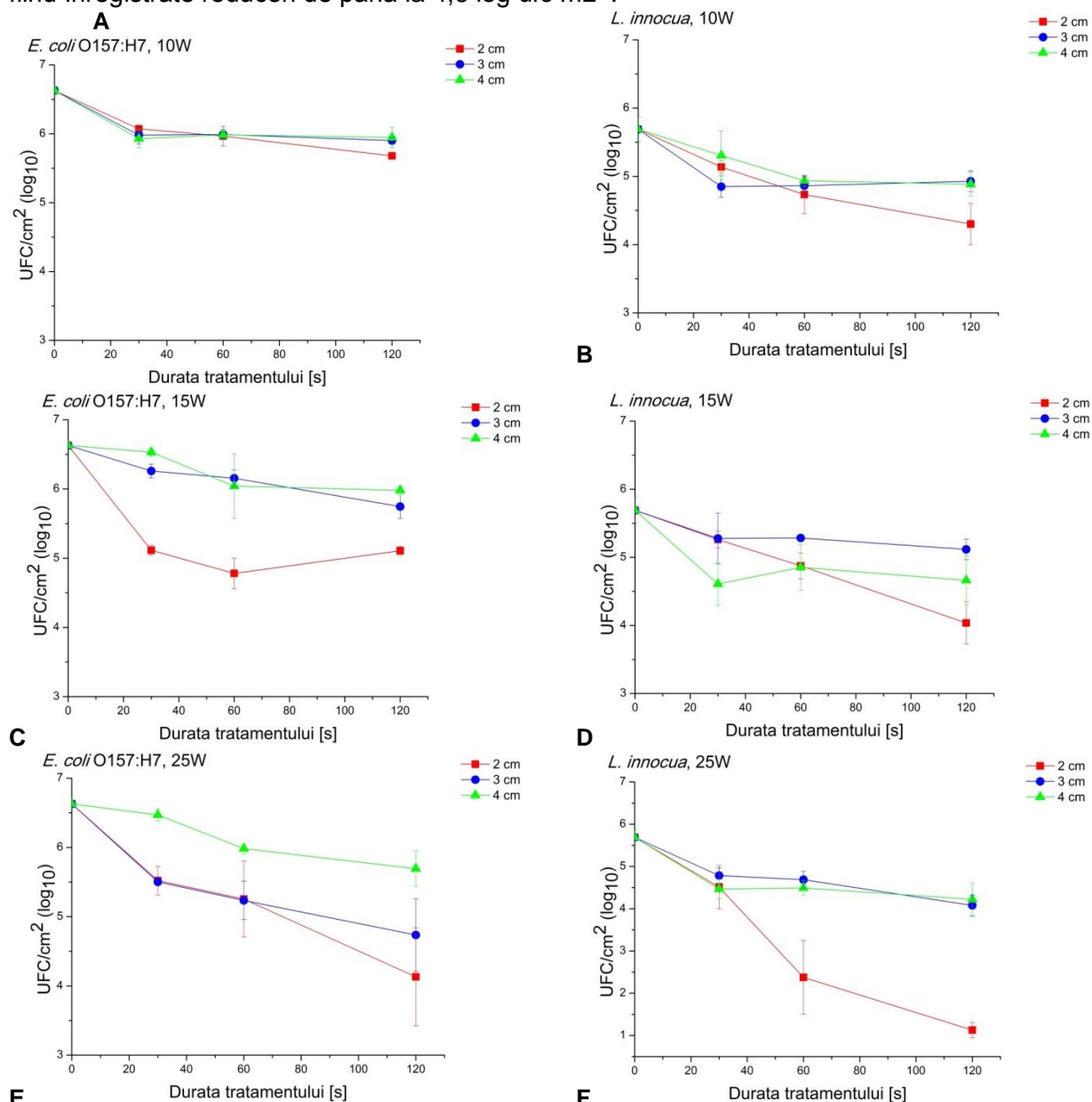


Figura 5.1. Reducerea concentrației microbiene în urma tratamentului cu plasmă: (A) *E. coli* O157:H7, 10 W; (B) *Listeria innocua*, 10 W; (C) *E. coli* O157:H7, 15 W; (D) *Listeria innocua*, 15 W; (E) *E. coli* O157:H7, 25 W; (F) *Listeria innocua*, 25 W

Pe baza rezultatelor microbiologice obținute, parametrii regresii liniare ai dependențelor putere – distanță au fost folosiți pentru estimarea timpului de reducere decimală (valoarea D) pentru cele două microorganisme supuse tratamentului cu plasmă rece (Mazzila et al., 2003; Nicolau, 2006), cu ajutorul programului OriginPro 8 (Tabel 5.1.).

Tabel 5.1. Timpul de reducere decimală (valorile D) pentru *E. coli* O157:H7 și *L. innocua* supuse tratamentului cu plasmă rece

Distanța (cm)	Timpul de reducere decimală D (s)					
	<i>Escherichia coli</i> O157:H7			<i>Listeria innocua</i>		
	10 W	15 W	25 W	10 W	15 W	25 W
2	139,28	95,60	51,12	88,97	72,83	25,71
3	200,00	143,47	69,74	203,67	242,72	82,10
4	223,71	171,23	122,25	153,37	153,37	97,85

- **Puterea**

Puterea de 10 W a reprezentat puterea minimă la care dispozitivul utilizat a putut menține stabilitatea jetului de plasmă. În timpul experimentelor, s-a putut observa că o dată cu creșterea puterii și fără a modifica ceilalți doi parametri de proces, distanța, respectiv timpul de acțiune, zona de acțiune a jetului de plasmă se extinde, rezultatele fiind în concordanță cu observațiile lui Weltmann *et al.* (2008). Utilizând aceeași putere, s-a obținut o reducere a populației *E. coli* O157:H7 de 0,6 până la 0,9 log ufc mL⁻¹, respectiv 0,4 până la 1,4 log ufc mL⁻¹ în cazul *Listeria innocua*, în raport cu probele martor. Prin mărirea puterii până la 25 W, populația *E. coli* O157:H7 a putut fi inactivată cu 2,5 log ufc mL⁻¹, în timp ce *L. innocua* a înregistrat o reducere maximă de 4,6 log ufc mL⁻¹ față de probele martor. Așadar, o mărire a puterii la care sistemul generator de plasmă funcționează conduce la o creștere a inactivării populației microbiene în mod direct proporțional.

- **Distanța**

În cazul tuturor combinațiilor de parametri de proces, s-a observat că o distanță de 2 cm între vârful emițătorului de plasmă și proba supusă testării a condus la cea mai însemnată reducere microbiană, atât în cazul *E. coli* O157:H7 cât și a *L. innocua*. Astfel, pentru *E. coli* O157:H7, a fost înregistrată o reducere a populației microbiene de până la 2,5 log ufc mL⁻¹, în timp ce pentru *L. innocua* inactivarea microorganismelor a fost de 4,6 log ufc mL⁻¹, în raport cu probele martor. În cazul măririi distanței dintre vârful emițătorului de plasmă și probă la 3 cm, s-au înregistrat reduceri de 0,4 până la 1,9, respectiv 0,4 până la 1,6 log ufc mL⁻¹ pentru *E. coli* O157:H7 și *L. innocua*, iar la distanța de 4 cm, inactivarea *E. coli* O157:H7 a fost de 0,1 până la 0,9 log ufc mL⁻¹, în timp ce *L. innocua* a fost redusă cu 0,4 până la 1,5 log ufc mL⁻¹.

- **Timpul**

În ceea ce privește durata de timp a aplicării tratamentului cu plasmă, cele mai bune rezultate au fost obținute după 120 s de tratament, în cazul ambelor microorganisme testate. Astfel, în cazul *E. coli* O157:H7, după 120 s tratament cu plasmă, a fost înregistrată o reducere a populației bacteriene de 2,5 log ufc mL⁻¹ în comparație cu proba martor, la o putere de 25 W și o distanță de 2 cm. În aceleași condiții, *L. innocua* a fost redusă cu 4,6 log ufc mL⁻¹. În cazul aplicării tratamentului timp de 60 s, s-a observat că rezultatele înregistrate, atât în cazul *E. coli* O157:H7, cât și a *L. innocua*, au fost aproximativ egale la distanța de 4 cm, indiferent de puterea utilizată, în timp ce la distanța de 2 cm, reducerea înregistrată a fost direct proporțională cu puterea aplicată.

Tabel 5.2 Reducerea *E. coli* O157:H7 și *Listeria innocua* înregistrată în urma tratamentului cu plasmă

Distanță (cm)	Timp (s)	<i>E. coli</i> O157:H7*, log ufc mL ⁻¹			<i>Listeria innocua</i> *, log ufc mL ⁻¹		
		Putere (W)			Putere (W)		
		10	15	25	10	15	25
2	30	0,6	1,5	1,1	0,6	0,4	1,2
	60	0,7	1,8	1,4	1,0	0,8	3,3
	120	0,9	1,5	2,5	1,4	1,7	4,6
3	30	0,6	0,4	1,1	0,8	0,4	0,9
	60	0,6	0,5	1,4	0,8	0,4	1,0
	120	0,7	0,9	1,9	0,8	0,6	1,6
4	30	0,7	0,1	0,2	0,4	1,1	1,2
	60	0,6	0,6	0,6	0,8	0,8	1,2
	120	0,7	0,6	0,9	0,8	1,0	1,5

*Valorile prezentate în tabel reprezintă valoarea medie a reducerii microbiene raportată la probele martor (0 s), exprimată în log ufc mL⁻¹.

- **Microorganisme**

Se observă că în urma aplicării tratamentului cu plasmă la o distanță de 2 cm, respectiv 4 cm, reducerea bacteriei *E. coli* O157:H7 a fost mai puțin pronunțată decât cea a *L. innocua*. În

cazul tuturor distanțelor testate și la toate puterile încercate, după primele 30 s de tratament, ambele microorganisme au răspuns aproximativ la fel tratamentului, reducerile bacteriene înregistrate fiind asemănătoare. O dată cu mărirea timpului de acțiune a tratamentului cu plasmă, reducerea bacteriană în cazul *L. innocua* a fost mai evidentă, iar la 25 W/2 cm/60 s reducerea a fost aproape dublă față de cea rezultată în cazul *E. coli* O157:H7. Întrucât condițiile de lucru au fost identice în cazul ambelor microorganisme, la fel și tratamentul cu plasmă aplicat, diferența poate fi explicată de structura diferită a peretelui celular a celor două microorganisme.

5.1.2. Concluzii

O scădere a populației microbiene a fost observată în urma aplicării tratamentului cu plasmă. Inactivarea bacteriană este dependentă de timpul de acțiune a tratamentului, de puterea acestuia, cât și de distanța de la care proba este tratată. Microorganismele utilizate în cadrul experimentelor au prezentat un nivel de sensibilitate diferit. Astfel, *L. innocua* s-a dovedit a fi mai sensibilă la tratamentul cu plasmă rece decât *E. coli* O157:H7. În urma rezultatelor obținute, efectul antimicrobian al tratamentului cu plasmă rece a fost evident, atât față de microorganismele Gram pozitive cât și de cele Gram negative.

5.2. Efectele tratamentului cu plasmă rece asupra calității salatei proaspăt tăiată

5.2.1. Rezultate și discuții

- **Efectele tratamentului cu plasmă asupra eficienței fotochimice**

Fluorescența clorofilei a fost măsurată în vederea analizării răspunsului frunzelor de salata mielului proaspăt tăiată față de diferiți parametri de proces ai tratamentului cu plasmă, astfel încât calitatea produsului să poată fi cuantificată.

Conform figurii 5.2., ce indică răspunsul țesutului plantei la stresul extern aplicat, nivelul maxim al eficienței fotochimice (F_v/F_m) a fost semnificativ afectat în urma aplicării tratamentului direct cu plasmă rece, la o distanță de 2 cm între vârful emițătorului de plasmă și suprafața frunzei. O extindere a duratei tratamentului de la 2 min la 3, respectiv 4 min a condus la o reducere similară a activității metabolice a probelor testate.

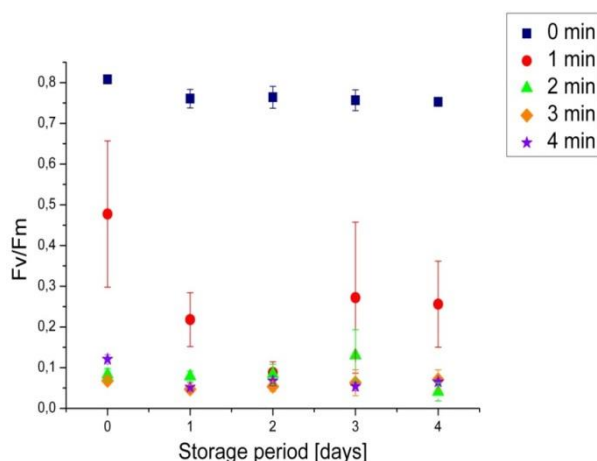


Figura 5.2. Eficiența fotochimică maximă a frunzelor de salata mielului în urma aplicării a diferiți timpuri de tratament cu plasmă la distanța de 2 cm, pe parcursul perioadei de depozitare

În mod contrar însă, un tratament de 1 min cu plasmă a prezentat doar o alterare moderată a raportului F_v/F_m . În cazul tuturor probelor analizate, nivelul inițial de inhibare a eficienței fotochimice a fost menținut pe durata întregii perioade de depozitare, fără a exista o variație semnificativă în decursul perioadei determinate (Fig. 5.3).

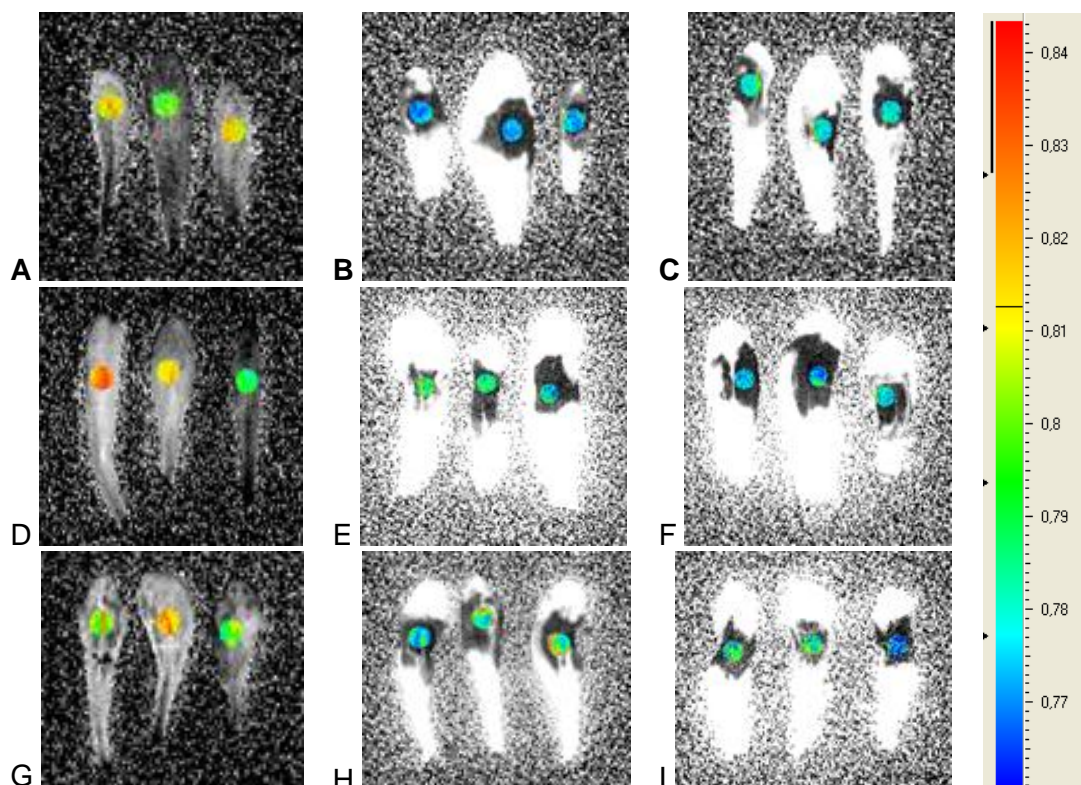


Figura 5.3. Modificarea raportului F_v/F_m în ziua 0 după 0, 2 și 4 min de tratament cu plasmă (A, B, C), ziua 2 după 0, 1 și 3 min de tratament (D, E, F) și ziua 4 după 0, 1 și 2 min de tratament cu plasmă rece (G, H, I).

În cazul tratamentului indirect cu plasmă, utilizarea distanței de 4 cm dintre vârful emițătorului de plasmă și probă a condus la obținerea unor valori mai bune ale raportului F_v/F_m decât cele obținute în cazul utilizării distanței de 2 cm, pentru toți timpii de acțiune testați. Pe parcursul perioadei de depozitare, valorile eficienței fotochimice ale tuturor probelor tratate descresc. Ele ating o valoare medie după prima zi de depozitare, urmând ca valorile raportului F_v/F_m să nu prezinte diferențe importante pe durata depozitării.

Rezultatele obținute arată că tratamentul cu plasmă realizat în condițiile prezentate și aplicat pentru o durată mai lungă de 1 min, conduce la o deteriorare ireversibilă a sistemului metabolic al plantei. Așadar, rezultatele obținute pot fi de folos unor investigații ulterioare, în care probele să fie supuse tratamentului cu plasmă pentru perioade mai reduse de timp și la distanțe mai mari față de vârful emițătorului de plasmă, pentru evitarea inhibării activității metabolice a plantei analizate.

- **Efectele tratamentului cu plasmă asupra spectrelor de emisie ale fluorescenței**

Măsurarea emisieii fluorescenței a fost utilizată drept indicator al calității interne al frunzelor de salată tratate cu plasmă rece. Fluorescența pigmentilor fotosintetici a fost analizată în vederea evaluării schimbărilor de ordin calitativ ale frunzelor de salata mielului, în funcție de diferitele tratamente aplicate. Spectrele emisieii de fluorescență de-a lungul perioadei de depozitare după aplicarea tratamentului cu plasmă la o distanță de 2 cm față de probă sunt prezentate în figura 5.4.

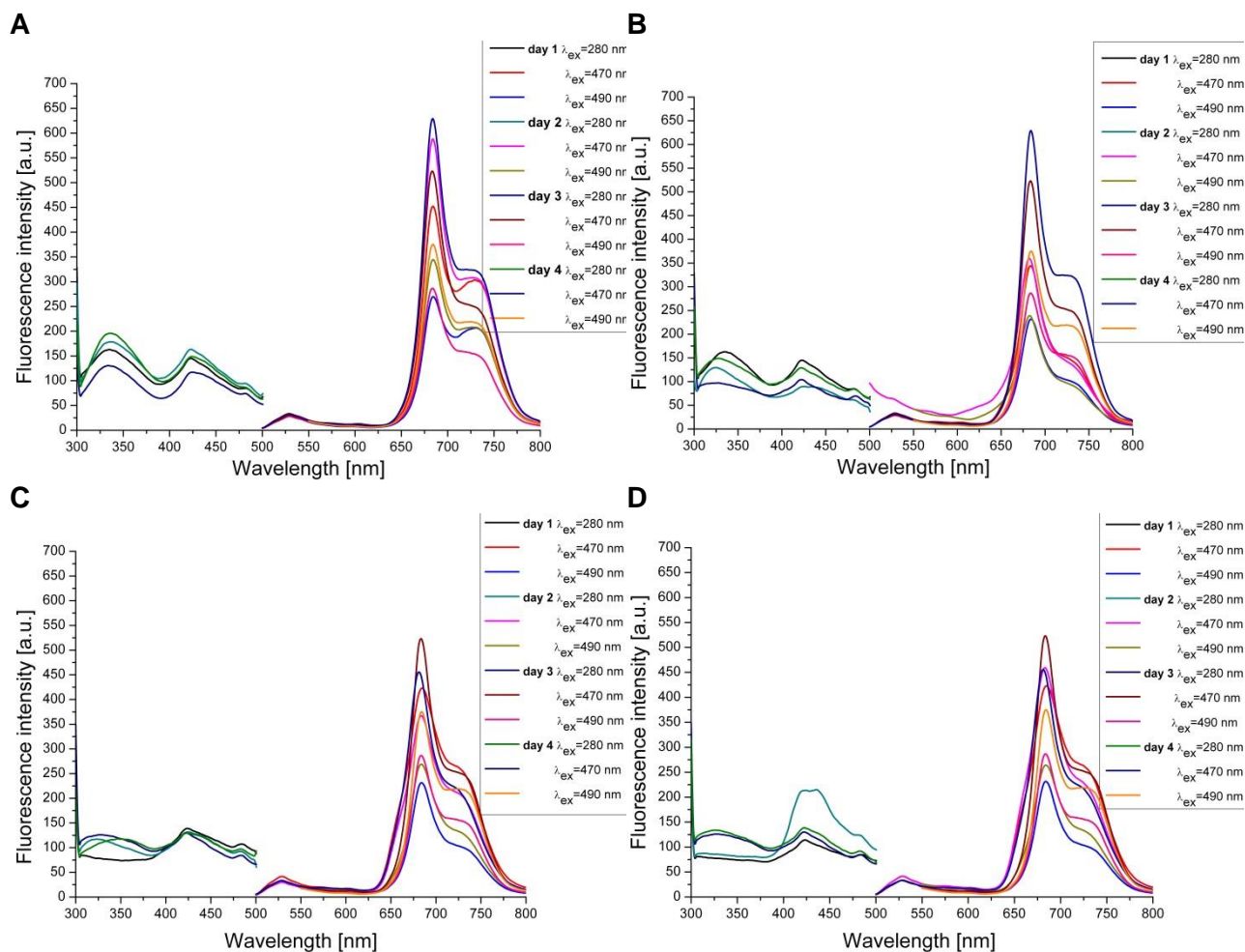


Figura 5.4. Flurența frunzelor de salata mielului după 0 min (A), 1 min (B), 3 min (C) și 4 min (D) de tratament cu plasmă rece la o distanță de 2 cm

În cazul probelor martor se poate observa că pe parcursul perioadei de depozitare, intensitatea fluorescenței descrește, drept rezultat al degradării clorofilei. Cu toate acestea, frunzele de salată tratate cu plasmă prezintă diferite intensități ale emisie de fluorescență, datorită duratei diferite a tratamentului aplicat. Astfel, la distanța de 2 cm, după 1 min de tratament cu plasmă, intensitatea fluorescenței frunzei tratate poate fi comparată cu cea a probei control, însă o dată cu mărirea perioadei de aplicare a tratamentului, intensitatea fluorescenței este invers proporțională cu durata tratamentului aplicat. Aceste rezultate pot indica faptul că un declin al gradului de fluorescență, indiferent de lungimea de undă a emisie sau de excitația aplicată, poate sugera o scădere a conținutului de clorofilă.

Grzegorzewski *et al.* (2011) a indicat că datorită speciilor puternic reactive ale plasmei, poate avea loc o dezintegrare a membranelor celulare în cazul probelor supuse tratamentului, fenomen urmat de eliberarea componentelor celulare. Acestea pot conduce la obținerea de rezultate diferite, iar intensitatea fluorescenței probelor supuse tratamentului poate avea valori mai mari decât cele obținute în cazul probelor martor.

- **Efectele tratamentului cu plasmă asupra culorii**

În urma aplicării tratamentului direct cu plasmă la o distanță de 2 cm, s-a observat o afectare a culorii frunzelor de salata mielului. O modificare considerabilă a culorii a fost observată în prima zi în cazul tuturor probelor tratate cu plasmă (Fig. 5.5). Imediat după tratamentul cu plasmă, probele tratate timp de 4 min au prezentat cea mai semnificativă diferență în raport cu probele control.

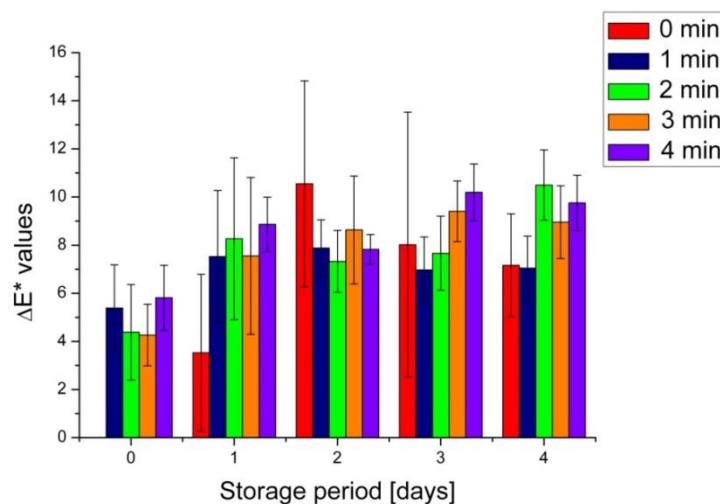


Figura 5.5. Diferența totală de culoare de-a lungul perioadei de depozitare a probelor tratate cu plasmă (2 cm)

Pe perioada depozitării, frunzele de salată netratate au prezentat cea mai pronunțată variație a culorii în raport cu cea înregistrată în ziua 0. Pe durata celor 4 zile de depozitare, variația culorii s-a datorat în special modificărilor valorilor parametrului a^* , aceasta înregistrând cea mai mare sensibilitate pe parcursul depozitării. În mod contrar, valorile parametrului L^* (luminozitate) au rămas aproximativ uniforme în timpul perioadei de depozitare. În urma aplicării unui tratament la o distanță de 4 cm, diferențele de culoare au fost cu mult mai reduse în comparație cu cele rezultate în urma aplicării tratamentului la distanța de 2 cm.

S-a observat că variația parametrului a^* a fost cea mai evidentă, atât în cazul probelor tratate cu plasmă în raport cu cele control, în ziua 0, cât și în timpul depozitării. Întrucât procesul de îmbrunare poate fi exprimat în funcție de valoarea a^* , rezultatele obținute în acest studiu sunt în acord cu cele enunțate de Lonchamp *et al.* (2009), privind fenomenul de îmbrunare al frunzelor în timpul perioadei de depozitare, respectiv al pierderii culorii verzi în cazul probelor netratate cu plasmă, în acest caz.

5.2.2. Concluzii

A fost observată că o ajustare a parametrilor de proces ai dispozitivului emițător de plasmă conduce la modificări ale efectelor tratamentului aplicat asupra probelor testate. În cazul tratării unor produse alimentare, dar în mod special al tratării fructelor și legumelor proaspăt tăiate, care își pierd rapid calitățile datorită proceselor de degradare (respirație, senescență, microbiota naturală). În cazul aplicării tratamentului direct cu plasmă, la o distanță de 2 cm față de probele testate, cele mai bune rezultate obținute, în ceea ce privește atributele calitative analizate imediat după aplicarea tratamentului dar și pe parcursul perioadei de depozitare, au fost obținute aplicând tratamentul timp de 1 min. În cazul aplicării tratamentului indirect cu plasmă, la distanța de 4 cm față de probele testate, rezultate satisfăcătoare au fost obținute atât după 1 min, cât și după 2 min.

În funcție de parametrii de proces aplicați, calitatea frunzelor de salată a fost afectată în mod diferit. Cu toate acestea, condițiile de aplicare a tratamentului cu plasmă trebuie adaptate tipului de produs alimentar testat.

5.3. Efectele tratamentului cu plasmă rece asupra frunzelor de salată inoculate cu *Escherichia coli* O157:H7

5.3.1. Rezultate și discuții

- **Supraviețuirea *E. coli* O157:H7 inoculată pe salată în urma aplicării tratamentului cu plasmă**

În urma testelor efectuate, se observă că nu există o diferență semnificativă între rezultatele obținute în urma aplicării tratamentului cu plasmă rece la o distanță de 3, respectiv 4 cm. Se observă răspunsul similar al microorganismelor tratate la cele două distanțe. Imediat după aplicarea tratamentului cu plasmă, în ziua 0, la distanța de 3 cm, reducerea microbiană cea mai însemnată s-a înregistrat după 4 min de tratament, scăderea medie fiind de 2,3 log ufc mL⁻¹, în timp ce în urma aplicării tratamentului timp de 2 și 3 min, au fost obținute valori similare în ceea ce privește inactivarea *E. coli* H157:O7, reducerea microbiană fiind de 1,7 log ufc mL⁻¹, respectiv 1,6 log ufc mL⁻¹. La distanța de 4 cm, rezultatul cel mai bun al inactivării microorganismului inoculat pe salată a fost obținut în urma aplicării tratamentului cu plasmă timp de 3 min, reducerea înregistrată fiind de 3,4 log ufc mL⁻¹ față de proba martor. În urma depozitării probelor în condiții de refrigerare, se observă o scădere pronunțată a concentrației microbiene în primele două zile. La finalul perioadei de depozitare, reducerea microbiană atinge valoare minimă de detecție în cazul probelor tratate cu plasmă rece.

Așadar, în urma rezultatelor obținute se poate spune că tratamentul cu plasmă rece a înregistrat un efect antimicrobian imediat după aplicare. Rezultatele cele mai bune au fost obținute în urma utilizării unei distanțe de 4 cm între vârful emițătorului de plasmă și suprafața probei, la un timp de aplicare a tratamentului de 3, respectiv 4 min.

- **Cinetica populației microbiene inoculată pe salată în decursul perioadei de depozitare**

În cazul probelor control, inoculate cu o concentrație de 5 – 6 log ufc mL⁻¹, a fost înregistrată o reducere microbiană de 2,4 log ufc mL⁻¹ după 2 zile de depozitare în condiții de refrigerare. La sfârșitul perioadei de depozitare, în ziua 4, concentrația microbiană a probelor control a fost de 1,6 log ufc mL⁻¹, cu 3,4 log ufc/mL mai redusă decât la momentul începerii activităților experimentale. Întrucât acestor probe nu le-a fost aplicat niciun tratament de decontaminare, reducerea microbiană însemnată ce a fost înregistrată poate fi datorată neadaptării tulpinii microbiene utilizate la suprafața pe care a fost inoculată, reprezentată de frunza de salată, în condițiile de depozitare aplicate.

În urma aplicării tratamentului cu plasmă rece, cea mai importantă reducere microbiană a fost înregistrată de proba tratată timp de 3 min la o distanță de 4 cm, în timp ce după primele 2 zile de depozitare în condiții de refrigerare, același rezultat a fost înregistrat de probe tratate timp de 2, respectiv 4 min la distanța de 4 cm. La finalul perioadei de depozitare, rezultatele obținute în cazul probelor tratate la distanța de 3 cm au fost similare cu cele înregistrate la distanța de 4 cm și situate în jurul limitei de detecție.

5.3.2. Concluzii

Așa cum nota și Perni *et al.* (2008), reglajul electric prin adaptarea intensității poate schimba modul în care plasma afectează bacteriile, astfel încât să se ajungă de la vătămări subletale ale celulelor la unele letale; acest lucru reprezintă o nouă descoperire, similară cu strategiile de intensificare a decontaminării prin mărirea tensiunii impulsurilor electrice sau a temperaturii în cazul tratamentelor termice, metode care s-au dovedit a fi eficiente în cazul microorganismelor afectate subletal.

În urma activităților experimentale desfășurate, s-a observat că distanța dintre vârful emițătorului de plasmă și suprafața probei reprezintă un parametru important al aplicării tratamentului cu plasmă rece produselor alimentare. Astfel, utilizând dispozitivul generator de plasmă sub formă de jet descris anterior, se poate spune că o distanță de 4 cm poate fi utilizată

astfel încât să se asigure o inactivare a microorganismului *E. coli* O157:H7 prin aplicarea tratamentului timp de 2-3 min.

Capitolul 6. RELEVANȚA PRACTICĂ A TEZEI DE DOCTORAT, CONTRIBUȚII ORIGINALE ȘI PERSPECTIVE DE CONTINUARE A CERCETĂRILOR

Relevanța practică a tratamentelor propuse

Studiile prezentate în teză se doresc a fi un răspuns la tendința europeană de eliminare a soluțiilor clorinate din apa de spălare a produselor convenționale minimal procesate, pentru evitarea formării de produși cancerigeni, ca urmare a reacției clorului activ cu materia organică.

Astfel, au fost utilizate soluții de spălare pe bază de acizi organici și uleiuri esențiale din plante.

În urma testării soluțiilor de acid citric, acid ascorbic și acid lactic, în concentrații de 1% și 2%, acidul citric a obținut cele mai bune rezultate, atât din punct de vedere microbiologic cât și senzorial, în ambele concentrații utilizate, rezultate comparabile cu cele obținute în urma utilizării soluțiilor clorinate. Așadar, utilizarea unei soluții de 1% acid citric poate reprezenta o soluție optimă de înlocuire a soluțiilor clorinate utilizate în prezent în etapa de spălare a salatei gata-de-consum.

Soluțiile pe bază de uleiuri esențiale de ceapă, oregano și cimbru au demonstrat un puternic efect antimicrobian față de bacteriile des asociate cu acest produs vegetal, însă necesitatea utilizării soluției de dimetil sulfoxid (DMSO) în vederea obținerii unei emulsii omogene poate reprezenta un impediment în aplicarea acestui tip de tratament la nivel industrial și acceptarea lui de către consumatori, ceea ce impune înlocuirea lui cu un compus natural care să conducă la obținerea unor rezultate similare, atât din punct de vedere microbiologic cât și fizico-chimic și senzorial.

În ceea ce privește utilizarea unui tratament cu plasmă rece la presiune atmosferică ca o metodă de decontaminare a salatei verzi, acest tratament a reprezentat cea mai eficientă metodă antimicrobiană testată. În același timp însă, pentru obținerea unor rezultate satisfăcătoare în ceea ce privește menținerea caracteristicilor fizico-chimice și a atributelor senzoriale inițiale ale produsului, și după aplicarea tratamentului cu plasmă, dar și la finalul perioadei de depozitare, eforturile de găsire a parametrilor optimi de proces în cazul dispozitivului utilizat au necesitat îndelungi activități experimentale, iar rezultatele finale nu au fost întotdeauna cele scontate. Utilizarea plasmei în industria alimentară poate fi limitată și datorită speciilor reactive de oxigen care sunt produse, din cauza cărora, produsele cu un conținut ridicat de lipide vor fi puternic afectate de procesul de oxidare, ducând la formarea de acizi hidroxicili, acizi cetonicici, acizi grași cu lant scurt, aldehide care produc mirosuri neplacute.

Contribuții originale

- Punerea la punct a unui protocol de lucru de utilizare a sistemului multisenzor pentru controlul calității alimentelor („nasul electronic”) pentru evaluarea amprentei senzoriale a probelor de salată și stabilirea potențialului impact al unor concentrații diferite de soluții de spălare pe bază de uleiuri esențiale asupra proprietăților senzoriale și a termenului de valabilitate al salatei verzi proaspăt tăiate;
- Izolarea și identificarea bacteriei *Pseudomonas tolaasii* utilizând sistemul de identificare OmniLog[®], în vederea utilizării ulterioare a acestui microorganism din microbiota naturală a salatei verzi, în scopul studierii, testării și stabilirii efectelor antimicrobiene ale unor diferite tratamente de spălare aplicate acestui produs vegetal;
- Stabilirea premiselor de a pune baza unei soluții tehnologice de utilizare a uleiului esențial de ceapă în procesul de spălare al salatei minimal procesate, astfel încât utilizarea soluțiilor clorinate să fie evitată iar termenul de valabilitate al produsului ambalat în atmosferă normală să fie prelungit cu 2 zile;
- Realizarea primului studiu românesc de utilizare a unui sistem generator de plasmă rece la presiune atmosferică, ca metodă de decontaminare a salatei verzi, efectele tratamentului

fiind urmărite atât imediat după aplicarea lui, cât pe parcursul perioadei de depozitare a produsului.

Perspectivă de continuare a cercetărilor

Rezultatele obținute în urma realizării acestui studiu subliniază noi direcții de cercetare în domeniul alimentelor minimal procesate, în scopul prelungirii perioadei de valabilitate a acestora și a menținerii proprietăților lor microbiologice, fizico-chimice și senzoriale inițiale un timp cât mai îndelungat.

Astfel, noi tipuri de acizi organici ar putea fi supuse testării, sau chiar amestecuri de astfel de soluții, cu scopul afectării într-o proporție cât mai redusă a atributelor senzoriale ale produsului.

În ceea ce privește utilizarea uleiurilor esențiale în soluțiile de spălare ale produselor vegetale gata-de-consum, este nevoie de o dezvoltare viitoare a acestui tip de tratament, care să permită o mai bună înțelegere a interacțiilor complexe atunci când sunt folosite concentrații de 300 până la 500 ppm ulei esențial de ceapă.

Tratamentul cu plasmă rece reprezintă o soluție inovativă de tratament post-recoltare în cazul legumelor frunzoase, însă doar prin stabilirea unor parametri de proces adecvați produsului alimentar tratat, efectele nedorite privind calitățile senzoriale ale produsului supus tratamentului pot fi evitate. De asemenea, studii care să analizeze modificările nutriționale și chimice care au loc în alimentele tratate cu plasmă rece sunt necesare, astfel încât să poată fi cuantificată afectarea din punct de vedere nutrițional a produsului supus acestui tratament.

Perspectivă de valorificare a rezultatelor cercetării

Rezultatele obținute în cadrul acestei lucrări de cercetare vor fi utilizate în scopul obținerii unui brevet pentru soluția de sanitizare pe bază de ulei esențial de ceapă, astfel încât aceasta să poată fi utilizată de procesatorii de legume proaspete, urmărindu-se în acest mod evitarea utilizării soluțiilor clorinate în etapa de spălare a salatei gata-de-consum.

LISTĂ LUCRĂRI PUBLICATE ȘI PREZENTATE

Articole științifice:

1. Florentina Matei Radoi, Israel-Roming Florentina, Cristea Stelica, **Smeu Irina**, Radu Anca, Quantitative study of Deoxynivalenol and Ochratoxin accumulation in synthetic media, *Romanian Biotechnological Letters*, Vol. 16, No. 1, 2011, Supplement, pp. 33-39 (factor de impact: 0,363).
2. Ionescu M., Mustatea G., Ionescu V., **Smeu I.**, Spadaro G., Vuluga Z., New packaging materials and their effect on the shelf-life of packaged salad, *Proceeding of the 4th International Symposium "New Research in Biotechnology" USAMV Bucharest, Romania, 2011*, pp. 156-165 (ISSN 1224-7774).
3. Mitelut A., Culetu A., **Smeu I.**, Popa M, Research on mycotoxin content of *Triticum aestivum* in Romanian south crops, *Proceeding of the 4th International Symposium "New Research in Biotechnology" USAMV Bucharest, Romania, 2011*, pp. 190-196 (ISSN 1224-7774).
4. **Irina Smeu**, Mona Elena Popa, Effect of minimally processing operations on the shelf life and quality characteristics of Romanian lettuce, *Romanian Biotechnological Letters*, Vol. 16, No. 6, 2011, Supplement, pp. 139-143 (factor de impact: 0,363).
5. **Irina Smeu**, Matthias Baier, Antje Frohling, Anca Ioana Nicolau, Noma Elena Popa, Oliver Schluter, Quality attributes of fresh-cut lettuce treated with cold plasma, *Scientific Bulletin, Series F, Biotechnologies*, Vol. XVI, 2012, pp. 164-171 (ISSN 2285-1364, ISSN-L 2285-1364).
6. **Irina Smeu**, Anca Ioana Nicolau, Enhancement of food safety – antimicrobial effectiveness of cold plasma treatments, *The Annals of the Dunarea de Jos of Galati – Food Technology*; faza: acceptat spre publicare.
7. **Irina Smeu**, Denisa Eglantina Duță, Anca Ioana Nicolau, The impact of some essential

oils on shelf life and sensorial properties of fresh-cut lettuce (*Lactuca sativa* L.), Postharvest Biology and Technology (factor de impact: 2,454); faza: sub recenzie.

Lucrări comunicate la conferințe internaționale:

1. **Irina Smeu**, *Use of modified atmosphere packaging (MAP) for shelf-life prolonging of fresh-cut fruits and vegetables*, 17th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (RICCCE XVII), 7-10 Septembrie 2011, Sinaia, România Prezentare orală
2. **Irina Smeu**, Mona-Elena Popa, Alina Dobre, Mariana Ionescu, Nastasia Belc, Giuseppe Spadaro, Gabriel Mustatea, *Shelf-life prolonging of fresh-cut Romanian lettuce*, 2nd FCUB ERA Workshop, Food Chemistry and Biotechnology, 18-19 Octombrie 2011, Belgrad, Serbia Prezentare poster
3. Alina A. Dobre, **Irina Smeu**, Valeria Gagiu, Petru Niculita, *Vapour phase antimicrobial activity of selected essential oils against food borne bacteria and toxigenic fungi*, 2nd FCUB ERA Workshop, Food Chemistry and Biotechnology, 18-19 Octombrie 2011, Belgrad, Serbia Prezentare poster
4. **Irina Smeu**, Mona-Elena Popa, *Efecto de la atmosfera modificada sobre la calidad y la vida util de la ensalada minimamente procesada*, 5th Symposium Internacional sobre tecnologias alimentarias, 24 Octombrie 2011, Caragena, Spania Prezentare orală
5. **Irina Smeu**, Mona-Elena Popa, *Effect of minimal processing operations on the shelf-life and quality characteristics of Romanian lettuce*, 4th International Symposium of Biotechnology, 10-11 Noiembrie 2011, București, România Prezentare orală
6. Mariana Ionescu, Gabriel Mustatea, Valentin Ionescu, **Irina Smeu**, Giuseppe Spadaro, Zina Vuluga, *New packaging materials and their effect on the shelf-life of packaged salad*, 4th International Symposium of Biotechnology, 10-11 Noiembrie 2011, București, România Prezentare orală
7. Amalia Mitelut, Alina Culetu, **Irina Smeu**, Mona Popa, *Research on mycotoxin content of Triticum aestivum in Romanian south crops*, 4th International Symposium of Biotechnology, 10-11 Noiembrie 2011, București, România Prezentare poster
8. **Irina Smeu**, Mona-Elena Popa, *Comparative study between air and modified atmosphere packaging (MAP) for shelf-life prolonging of Romanian lettuce*, International Conference „Environmental Capacity Building” 11-13 Noiembrie 2011, București, România Prezentare poster
9. **Irina Smeu**, Anca Ioana Nicolau, Mona-Elena Popa, *Effect of processing operations on the shelf-life and quality of lettuce*, The PhD Student Symposium, „Dunarea de Jos” University of Galati, 8 Decembrie 2011, Galați, România Prezentare poster
10. **Irina Smeu**, Matthias Baier, Antje Frohling, Anca Ioana Nicolau, Mona Elena Popa, Oliver Schluter, *Quality attributes of fresh-cut lettuce treated with cold plasma*, International Conference „Agriculture for life, Life for Agriculture”, 4-6 Octombrie 2012, București, România Prezentare orală
11. **Irina Smeu**, Anca Ioana Nicolau, Alina Dobre, *Suitability of sodium hypochlorite versus modified atmosphere packaging as an effective preservation method applied to fresh-cut lettuce*, „Belgrade Food International Conference”, 26-28 Noiembrie 2012, Belgrad, Serbia Prezentare poster
12. **Irina Smeu**, Anca Ioana Nicolau, *Shelf life prolonging of fresh-cut Romanian lettuce*, Sao Paulo School of Advanced Science: Advances in Molecular Structuring of Food Materials, 1-5 Aprilie 2013, Sao Paulo, Brazilia Prezentare poster
13. **Irina Smeu**, Anca Ioana Nicolau, Gabriel Mustatea, *The effect of alternative disinfection techniques on the quality attributes of fresh-cut lettuce*, International Conference „Agriculture for life, Life for Agriculture”, 5-8 Junie 2013, București, România Prezentare orală
14. **Irina Smeu**, Anca Ioana Nicolau, *Enhancement of food safety – antimicrobial effectiveness of cold plasma treatments*, The 6th International Prezentare orală

Symposium EuroAliment – Around Food, 3-5 Octombrie, Galați, România

Premii și alte distincții

1. **Travel grant; Premiul II – cel mai bun poster**
2nd FCUB ERA Workshop, Food Chemistry and Biotechnology, 18-19th October 2011, Belgrade, Serbia
Irina Smeu, Mona-Elena Popa, Alina Dobre, Mariana Ionescu, Nastasia Belc, Giuseppe Spadaro, Gabriel Mustatea, *Shelf-life prolonging of fresh-cut Romanian lettuce*
2. **Travel grant**
„Belgrade Food International Conference”, 26-28th November 2012, Belgrade, Serbia
Irina Smeu, Anca Ioana Nicolau, Alina Dobre, *Suitability of sodium hypochlorite versus modified atmosphere packaging as an effective preservation method applied to fresh-cut lettuce*
3. **Travel grant**
Sao Paulo School of Advanced Science: Advances in Molecular Structuring of Food Materials, 1-5th April 2013, Sao Paulo, Brazil
Irina Smeu, Anca Ioana Nicolau, *Shelf life prolonging of fresh-cut Romanian lettuce*
4. **Travel grant**
18th Romanian International Conference on Chemistry and Chemical Engineering (RICCCE XVIII), 4-7th September 2013, Sinaia, Romania
Irina Smeu, Anca Ioana Nicolau, *Role of organic acids washing solutions on shelf life extension of fresh-cut lettuce (Lactuca sativa L.)*
5. **Premiu general - Premiul I**
Proiect POSDRU 76822 – TOP ACADEMIC

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

Akbas, M.Y., Ölmez, H. 2007. Effectiveness of organic acid, ozonated water and chlorine dippings on microbial reduction and storage quality of fresh-cut iceberg lettuce. J. Sci. Food Agric. 87, 2609-2616.

Allende, A, Artés, F. 2003. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality and of fresh processed 'Lollo Rosso' lettuce. Food Res. Int. 36, 739-746.

Allende, A., Selma, M.V., López-Gálvez, F., Villaescusa, R., Gill, M.I. 2008. Role of commercial sanitizers and washing systems on epiphytic microorganisms and sensory quality of fresh-cut escarole and lettuce. Postharvest Biol. Technol. 49, 155-163.

Artés, F., Gómez, P., Aguayo, E., Escalona, V., Artés-Hernández, F. 2009. Suitable sanitation techniques for keeping quality and safety of fresh-cut plant commodities. Postharvest Biol. Technol. 51, 287-296.

Baier, M., Foerster, J., Schnabel, U., Knorr, D., Ehlbeck, J., Herppich, W. B., Schlüter, O. 2013. Direct non-thermal plasma treatment for the sanitation of fresh corn salad leaves: Evaluation of physical and physiological effects and antimicrobial efficacy. Postharvest Biol. Technol. 84, 81-87.

Bermúdez-Aguirre, D., Barbosa-Cánovas, G. 2013. Disinfection of selected vegetables under nonthermal treatments: Chlorine, acid citric, ultraviolet light and ozone. Food Control, 29, 82-90.

Bolin, H.R., Huxoll, C.C. 1991. Effect of preparation procedures and storage parameters on quality retention of salad-cut lettuce. J. Food Sci. 56, 416-418.

Franzetti, L., Scarpellini, M. 2007. Characterisation of *Pseudomonas* spp. isolated from foods. Ann. Microbiol. 57(1), 39-47.

Grzegorzewski, F., Ehlbeck, J., Schlüter, O., Kroh, L., Rohn, S., 2011. Treating lamb's lettuce with a cold plasma – Influence of atmospheric pressure Ar plasma immanent species on the

phenolic profile of *Valerianella locusta*. LWT-Food Sci. Technol. 44, 2285-2289.

Gutierrez, J., Bourke, P., Lonchamp, J., Barry-Ryan, C. 2009. Impact of plant essential oils on microbiological, organoleptic and quality markers of minimally processed vegetables. Innov. Food Sci. Emerg. 10, 195-202.

Kim, B., Klieber, A. 1997. Quality maintenance of minimally processed Chinese cabbage with low temperature and citric acid dip. J. Sci. Food Agr. 75(1), 31-36.

Lonchamp, J., Barry-Ryan, C., Devereux, M. 2009. Identification of volatile quality markers of ready-to-use lettuce and cabbage. Food Res. Int. 42, 1077-1086.

López-Gálvez, F., Allende, A., Truchado, P., Martínez-Sánchez, A., Tudela, J. A., Selma, M. V., Gil, M. I. 2010. Suitability of aqueous chlorine dioxide versus sodium hypochlorite as an effective sanitizer for preserving quality of fresh-cut lettuce while avoiding by-product formation. Postharvest Biol. Tec. 55, 53-60.

Lu, Y., Zhang, L., Lu, F., Bie, X., Yu, Z. 2006. Model of microbial growth on fresh-cut lettuce treated with chlorinated water during storage under different temperatures. J. Food Process Eng. 29, 106-118.

Martín-Diana, A., Rico, D., Barry-Ryan, C. 2008. Green tea extract as a natural antioxidant to extend the shelf-life of fresh-cut lettuce. Innovative Food Sci. Emerg. Technol. 9, 593-603.

Mazzila, P.G., Penna, T.C.V., Martins, A.M.S. 2003. Determination of decimal reduction time (D value) of chemical agents used in hospitals for disinfection purposes. BMC Infect. Dis. 3:24.

Mexis, S.F., Chouliara, E., Kontominas, M.G. 2009. Combined effect of an O₂ absorber and oregano essential oil on shelf-life extension of Greek cod roe paste (tarama salad) stored at 4 °C. Innov. Food Sci. Emerg. 10, 572-579.

Moquet, F., Mamoun, M., Oliver, J. M. 1996. *Pseudomonas tolaasii* and tolaasin: comparison of symptom induction on a wide range of *Agaricus bisporus* strains. FEMS Microbiol. Lett. 142(1), 99-103.

Nicolau, A. 2006. Microbiologie generală: Factori care influențează dezvoltarea microorganismelor. Ed. Academica, Galați, pp. 7-30.

Nielsen, T., Bergström, B., Borch, E. 2008. The origin of off-odours in packaged rucola (*Eruca sativa*). Food chem. 110, 96-105.

Nou, X., Luo, Y. 2010. Whole-leaf wash improves chlorine efficacy for microbial reduction and prevents pathogen cross-contamination during fresh-cut lettuce processing. J. Food Sci. 75(5), M283-M290.

O'Sullivan, D., O'Gara, F. 1992. Traits of Fluorescent *Pseudomonas* spp. involved in suppression of plant root pathogens. Microbiol. Rev. 56(4), 662-676.

Ölmez, H., Kretschmar, U. 2009. Potential alternative disinfection methods for organic fresh-cut industry for minimizing water consumption and environmental impact. LWT-Food Sci. Technol. 42, 686-693.

Peris, M., Escuder-Gilabert, L. 2009. A 21st century technique for food control: Electronic nose. Anal. Chim. Acta. 638, 1-15.

Riva, M., Franzetti, L., Galli, A. 2001. Microbiological quality of shelf-life modelling of ready-to-eat cicorino. J. Food Protect. 64(2), 228-234.

Rodgers, S.L., Cash, J.N., Siddiq, M., Ryser, E.T. 2004. A comparison of different chemical sanitizers for inactivating *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in solution and on apples, lettuce, strawberries, and cantaloupe. J. Food Protect. 67, 721-731.

Shivaji, S., Rao, N.S., Saisree, L., Sheth, V., Reddy, G.S.N., Bhargava, P.M. 1988. Isolation and identification of *Pseudomonas* spp. from Schirmacher Oasis, Antarctica. Appl. Environ. Microbiol. 55(3), 767-770.

Soler-Rivas, C., Jolivet, S., Arpin, N., Oliver, J. M., Wichers, H. J. 1999. Biochemical and

physiological aspects of brown blotch disease of *Agaricus bisporus*. FEMS Microbiol. Rev. 23(5), 591-614.

Surjadinata, B.B., Cisneros-Zevallos, L. 2003. Modeling wound-induced respiration of fresh-cut carrots (*Daucus carots* L.). J. Food Sci. 68, 2735-2740.

Tirpanalan, Ö., Zunabovic, M., Domig, K.J., Kneifel, W. 2011. Mini review: Antimicrobial strategies in the production of fresh-cut lettuce products, in: Méndez-Vilas, A. (Ed.), Science against microbial pathogens: communicating current research and technologies advances. Formatex., pp. 176-188.

Torri, L., Sinelli, N., Limbo, S. 2010. Shelf life evaluation of fresh-cut pineapple by using an electronic nose. Postharvest Biol. Technol. 56, 239-245.

Uyttendaele, M., Neyts, K., Vanderswalmen, H., Notebaert, E., Debevere, J. 2004. Control of *Aeromonas* on minimally processed vegetables by decontamination with lactic acid, chlorinated water, or thyme essential oil solution. Int. J. Food Microbiol. 90, 263-271.

Weltmann, K.D., Brandenburg, R., von Woedtke, T., Ehlbeck, J., Foest, R., Stieber, M., Kindel, E. 2008. Antimicrobial treatment of heat sensitive products by miniaturized atmospheric pressure plasma jets (APPJs). J. Phys. D: Appl. Phys. 41, 194008.

Yuk, H.G., Yoo, M.Y., Yoon, J.W., Moon, K.D., Marschall, D.L., Oh, D.H. 2006. Effect of combined ozone and organic acid treatment for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on lettuce. J. Food Sci. 71, 83-87.