

Utjecaj tretmana pulsirajućeg svjetla na upakiranu modelnu kulturu *Lactobacillus plantarum*

Gavran, Maristela

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:398708>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Maristela Gavran

7565/PT

**Utjecaj tretmana pulsirajućeg svjetla na upakiranu
modelnu kulturu *Lactobacillus plantarum***

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Prehrambeno-procesno inženjerstvo 1

Mentor: doc. dr. sc. *Tomislava Vukušić Pavičić*

Zagreb, 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procesno-prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj tretmana pulsirajućeg svjetla na upakiranu modelnu kulturu *Lactobacillus plantarum*

Maristela Gavran, 0058212311

Sažetak: Svrha ovog rada je promotriti utjecaj pulsirajućeg UV svjetla na modelnu kulturu *Lactobacillus plantarum* L73 upakiranu u PP/Ac/PVDC i PPmet/PE ambalažu pri različitim udaljenostima uzorka (1,9, 4,65, 7,23, 9,75 i 13,65 cm) te vremenima tretiranja (5, 15, 30 i 60 sekundi). Nakon tretmana je provedena diferencijalna motridbena kalorimetrija kako bi se utvrdile potencijalne promjene barijernih svojstava oba ambalažna materijala. Rezultati istraživanja pokazuju da dolazi do potpune inaktivacije bakterije *L. plantarum* L73 ukoliko je pakirana u PP/Ac/PVDC ambalažu, dok PPmet/PE ambalaža onemogućava redukciju bakterije zbog nepropusnosti UV zračenja. DSC analiza je pokazala da djelovanjem pulsirajućeg svjetla nije došlo do promjene u strukturi niti jednog ambalažnog materijala.

Ključne riječi: diferencijalna motridbena kalorimetrija, *Lactobacillus plantarum*, polietilen, polipropilen, pulsirajuće UV svjetlo

Rad sadrži: 34 stranice, 16 slika, 7 tablica, 45 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: doc.dr.sc. Tomislava Vukušić Pavičić

Pomoć pri izradi: mag.ing. Mia Ivanov

Datum obrane: 1. srpnja 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

University undergraduate study Food Technology

Department of Food Engineering

Laboratory for Food Process Engineering

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Effect of pulsed light treatment on the packaged *Lactobacillus plantarum* strain

Maristela Gavran, 0058212311

Abstract: The purpose of this study is to examine the effect of pulsed UV light on *Lactobacillus plantarum* L73 packaged in PP/Ac/PVDC and PPmet/PE at different distances of the sample (1,9, 4,65, 7,23, 9,75 i 13,65 cm) and treatment times (5, 15, 30 i 60 seconds). Differential scanning calorimetry was done after the treatment to determine potential changes of barrier properties of both packaging. Research results show that complete inactivation of *L. Plantarum* L73 was achieved if the bacteria was packaged in PP/Ac/PVDC, while PPmet/PE packaging disables reduction of the bacteria because it's impermeable to UV light. DSC analysis showed that pulsed UV light didn't cause changes in the structure of neither of the packaging materials.

Keywords: differential scanning calorimetry, *Lactobacillus plantarum*, polyethylene, polypropylene, pulsed UV light

Thesis contains: 34 pages, 16 figures, 7 tables, 45 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD Tomislava Vukušić Pavičić, Assistant professor

Technical support and assistance: mag.ing. Mia Ivanov, Scientific Assistant

Defence date: 1st of July, 2020.

Sadržaj

| | |
|---|----|
| 1. Uvod | 1 |
| 2. Teorijski dio..... | 2 |
| 2.1. Pulsirajuće ultraljubičasto svjetlo | 2 |
| 2.1.1. Djelovanje pulsirajućeg UV svjetla | 2 |
| 2.1.2. Fotokemijske i fototermičke reakcije..... | 3 |
| 2.1.3. Primjena pulsirajućeg UV svjetla | 4 |
| 2.2. <i>Lactobacillus plantarum</i> | 5 |
| 2.3. Ambalaža za pakiranje prehrambenih proizvoda | 5 |
| 2.3.1. PP/Ac/PVDC ambalaža..... | 6 |
| 2.3.2. PPmet/PE ambalaža..... | 6 |
| 2.3.3. Diferencijalna motridbena kalorimetrija..... | 7 |
| 3. Eksperimentalni dio | 8 |
| 3.1. Materijali | 8 |
| 3.1.1. Mikroorganizam..... | 8 |
| 3.1.2. Podloga za uzgoj mikroorganizma | 8 |
| 3.1.3. Ambalaže..... | 8 |
| 3.1.4. Oprema i uređaji..... | 9 |
| 3.2. Metode | 9 |
| 3.2.1. Priprema uzorka bakterije <i>Lactobacillus plantarum</i> | 9 |
| 3.2.2. Izrada ambalaže za modelnu kulturu <i>Lactobacillus plantarum</i> | 10 |
| 3.2.3. Određivanje temperature | 10 |
| 3.2.4. Tretiranje uzorka pulsirajućim svjetlom | 11 |
| 3.2.5. Diferencijalna motridbena kalorimetrija..... | 12 |
| 4. Rezultati i rasprava..... | 13 |
| 4.1. Utjecaj pulsirajućeg svjetla na redukciju modelne kulture <i>Lactobacillus plantarum</i> | 13 |
| 4.2. Promjene temperature | 16 |
| 4.3. Utjecaj pulsirajućeg svjetla na ambalažne materijale..... | 18 |
| 4.3.1. Utjecaj pulsirajućeg svjetla na vanjski izgled ambalažnih materijala..... | 18 |
| 4.3.2. DSC analiza | 21 |
| 5. Zaključci | 29 |
| 6. Literatura | 30 |

1. Uvod

Prehrana ima izravan utjecaj na zdravlje ljudi, stoga je u interesu prehrambene industrije proizvoditi hranu koja ima pozitivan utjecaj na ljudski organizam odnosno postavlja se zahtjev očuvanja izvorne nutritivne vrijednosti hrane te njenih organoleptičkih karakteristika prilikom procesiranja hrane. Danas se pozornost usmjerava na minimalnu obradu prehrambenih proizvoda koja zadovoljava zahtjeve potrošača odnosno njome se postiže visoka kvaliteta proizvoda uz potpunu mikrobiološku inaktivaciju. Minimalna obrada hrane se odnosi na primjenu netoplinskih tehnologija poput pulsirajućeg svjetla, visokog hidrostatskog tlaka, ultrazvuka i drugih. Njihove prednosti u odnosu na konvencionalne toplinske metode obrade hrane su bolje očuvanje senzorskih svojstava hrane i njene nutritivne vrijednosti, kratko trajanje tretmana te neznatno povišenje temperature prilikom procesa (Verma i Prajapati, 2016).

Pulsirajuće svjetlo je netoplinska metoda obrade hrane čiji potencijal je prepoznat u 20. stoljeću no i dalje nije u komercijalnoj upotrebi. Ova metoda se koristi za inaktivaciju mikroorganizama na površini hrane (pekarski proizvodi, svježe voće i povrće te meso) i za sterilizaciju ambalažnog materijala (Mahendran i sur., 2019; Bhavya i Umesh Hebbar, 2017). Također ju karakterizira mali utrošak energije, brza obrada uzorka, očuvanje kakvoće hrane te ne utječe negativno na okoliš. Danas se pulsirajuće svjetlo primjenjuje u prehrambenoj industriji, farmaceutskoj industriji te područjima medicine kao što su dermatologija i oftalmologija. U dermatologiji se koristi za tretiranje rozaceje (Kassir i sur., 2011), akni (Choi i sur., 2010), raka kože (Wat i sur., 2014) i drugih stanja, dok je u oftalmologiji svoju primjenu našla u liječenju blefaritisa i suhih očiju (Gupta i sur., 2016).

Svrha ovog završnog rada je promotriti utjecaj pulsirajućeg svjetla na modelnu kulturu bakterije *Lactobacillus plantarum* upakirane u dva različita ambalažna materijala, pri različitim vremenskim intervalima i udaljenostima uzoraka od izvora UV svjetla.

2. Teorijski dio

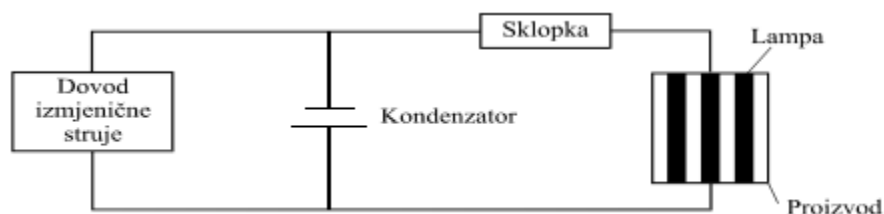
2.1. Pulsirajuće ultraljubičasto svjetlo

Elektromagnetsko zračenje se može definirati kao val ili čestica. Svaki val ima svoju frekvenciju i valnu duljinu. Spektar elektromagnetskog zračenja obuhvaća gama-zrake, x-zrake, ultraljubičastu i vidljivu svjetlost, infracrvene zrake, mikrovalove te radiovalove odnosno njegova valna duljina iznosi od 10^{-12} m do 10^3 m pri čemu najkraće zrake imaju najmanje valne duljine.

Pulsirajuće UV svjetlo je netoplnska tehnologija koja se ubraja među novije metode procesiranja odnosno konzerviranja hrane. Temelj ove metode čini kratkotrajno djelovanje pulsirajućeg svjetla jakog intenziteta koje se ubraja u spektar od ultraljubičastog do bliskog infracrvenog područja. Spektar pulsirajućeg UV svjetla je sličan sunčevom svjetlu odnosno obuhvaća spektar od 100 nm do 1 100 nm. Najčešće se provodi tretman od 1 do 20 pulseva po sekundi (Oms-Oliu i sur., 2010). Upotreba pulsirajućeg UV svjetla započinje 1980. godine, a za obradu hrane je odobrena 1996. godine od strane Američke agencije za hranu i lijekove (Bhavya i Umesh Hebbar, 2017). U odnosu na kontinuirano UV svjetlo, koje je u upotrebi od 1920. godine, pulsirajuće UV svjetlo pokazuje veću učinkovitost i mogućnost prodiranja jer ono ima veću maksimalnu snagu u odnosu na kontinuirano UV svjetlo pri primjeni jednake energije (Luo i sur., 2014).

2.1.1. Djelovanje pulsirajućeg UV svjetla

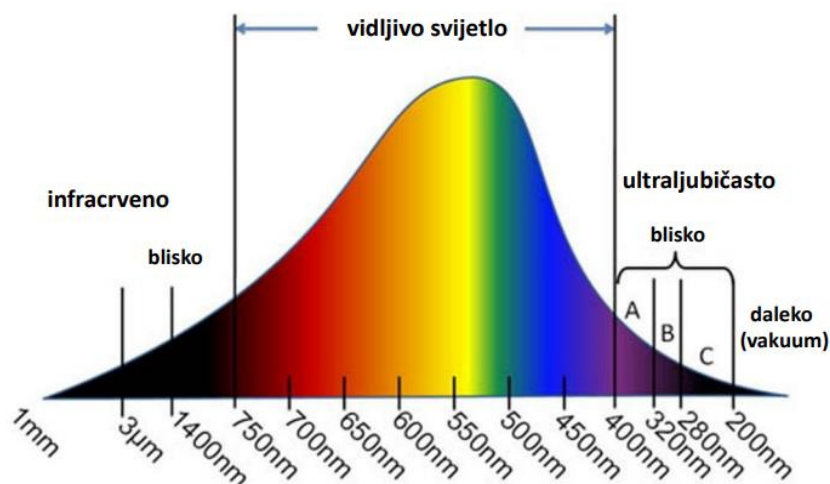
Uređaj za provođenje tretmana pulsirajućim UV svjetlom se sastoji od izvora izmjenične struje visokog napona, kondenzatora, sklopke te prostora za izvođenje tretmana u kojem se nalazi UV lampa (Slika 1.) Dovedena izmjenična struja visokog napona se pohranjuje u kondenzator, zatim se određena količina dovedene električne struje u puno kraćem vremenu otpušta u UV lampu kako bi se izvršio tretman što rezultira povećanjem snage. Prilikom navedenog pražnjenja električne struje dolazi do pretvorbe električne energije u svjetlosnu koja dopire do uzorka odnosno proizvoda (Bhavya i Umesh Hebbar, 2017). Djelovanje pulsirajućeg svjetla se izražava u J/cm^2 odnosno predstavlja količinu svjetlosne energije koju uzorak primi po jedinici površine.



Slika 1. Shematski prikaz uređaja za obradu pulsirajućim UV svjetlom (Lovrić, 2003)

2.1.2. Fotokemijske i fototermičke reakcije

Za djelovanje pulsirajućeg ultraljubičastog svjetla je ključno neionizirajuće zračenje odnosno ultraljubičasto zračenje te vidljivo i infracrveno zračenje (Slika 2.). Ultraljubičasto zračenje je elektromagnetsko zračenje čija valna duljina iznosi od 200 nm do 400 nm. Postoji nekoliko podjela ovog zračenja. Valna duljina od 400 nm do 315 nm se odnosi na UVA zrake, od 315 nm do 280 nm su UVB zrake te od 280 nm do 100 nm su UVC zrake (ISO 21348, 2007). Vidljiva svjetlost je vrsta elektromagnetskog zračenja koja je vidljiva ljudskom oku te se sastoji od ljubičaste boje do crvene boje odnosno od 380 nm do 760 nm (ISO 21348, 2007). Infracrveno zračenje je nevidljivo ljudskom oku, ali se može osjetiti kao toplina te obuhvaća spektar elektromagnetskog zračenja od 760 nm do 1 mm (ISO 21348, 2007).



Slika 2. Spektar infracrvenog, vidljivog i ultraljubičastog zračenja (Laboratorij za opću i anorgansku kemiju i elektroanalizu, Prehrambeno-biotehnoški fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2019)

Promjene koje uzrokuje tretman pulsirajućim UV svjetlom mogu biti fotokemijske, fototermičke ili fotofizičke. Ultraljubičasto zračenje uzrokuje fotokemijske reakcije pri čemu je ključno djelovanje zračenja valne duljine od 220 nm do 290 nm odnosno UVC zraka kojima se postiže redukcija broja mikroorganizama. Ono smanjuje broj mikroorganizama na način da se apsorbira na konjugirane dvostruke ugljikove veze u nukleinskim kiselinama, DNA i RNA, i proteinima kojima mijenja i oštećuje strukturu. Navedenom apsorpcijom dolazi do nastanka dimera timina u molekuli deoksiribonukleinske kiseline (Abida i sur., 2014). Vidljivo i infracrveno zračenje uzrokuje fototermičke reakcije. Apsorpcijom spomenutog zračenja dolazi do zagrijavanja mikroorganizma te konačno do njegove deformacije i uništavanja što je potvrđeno eksperimentom sa sporama plijesni *Aspergillus niger* kojeg su Wekhof i suradnici proveli 2001. godine (Nicorescu i sur., 2013). Fotofizičke promjene se odnose na promjene citoplazmatske membrane i sadržaja stanice koje su uzrokovane djelovanjem ultraljubičastog zračenja što je dokazano eksperimentom na gljivama (Ramos-Villarreal i sur., 2012). Fotokemijskim, fototermičkim i/ili fotofizičkim reakcijama se ostvaruje sterilizacija pulsirajućim UV svjetlom.

2.1.3. Primjena pulsirajućeg UV svjetla

Pulsirajuće UV svjetlo je metoda netoplinke obrade koja se upotrebljava za sterilizaciju prehrambenih proizvoda, ambalaže i različitih površina (Bhavva i Umesh Hebbar, 2017), za obradu tekuće i krute hrane poput mesa, ribe, voća i povrća (Mahendran i sur., 2019) te vode (Song i sur., 2016), za produljenje trajnosti namirnica te za poboljšanje funkcionalnih svojstava određenih molekula poput vitamina D₂ i proteina (Arbolea i sur., 2011). Dokazan je i baktericidan učinak na patogene bakterijske vrste *Salmonella sp.* i *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli O157:H7*, *Listeria monocytogenes* te na bakterijske vrste *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis* (Huang i sur., 2015; Fernandez i sur., 2016; Uslu i sur., 2016; Rajkovic i sur., 2017) pri čemu nije došlo do promjene senzorskih i nutritivnih svojstava namirnice. Tretman pulsirajućim UV svjetlom se može koristiti za sterilizaciju komunalne otpadne vode (Uslu i sur., 2016). Također se može koristiti umjesto toplinskih i kemijskih metoda za sterilizaciju.

2.2. *Lactobacillus plantarum*

Bakterije mliječne kiseline, koje se svrstavaju u porodicu *Lactobacillaceae*, su jedne od najčešće korištenih bakterijskih vrsta za fermentaciju prehrambenih proizvoda u industriji te su prirodno prisutne u ljudskom organizmu. To su gram-pozitivne, anaerobne bakterije koje sudjeluju u fermentaciji ugljikohidrata pri čemu ona može biti homofermentativna ili heterofermentativna. Homofermentativnom fermentacijom nastaje mliječna kiselina, a heterofermentativnom nastaju mliječna kiselina te drugi produkti poput etanola (Salvetti i sur., 2012). Ove bakterije su nesporogene te mogu biti štapićastog (bacilli) ili okruglog (koki) oblika. Također su otporne na niske pH vrijednosti (Kant i sur., 2011).

Lactobacillus plantarum je jedna od vrsta bakterija mliječne kiseline te su gram-pozitivne, anaerobne, heterofermentativne, nesporogene bakterije štapićastog oblika. Ova bakterijska vrsta je široko rasprostranjena i lako prilagodljiva, ali se najčešće nalazi u ljudskom organizmu i mliječnim proizvodima (Abdelazez i sur., 2018). *Lactobacillus plantarum* ima sposobnost preživljavanja u gastrointestinalnom traktu ljudskog organizma, u kiselim uvjetima u želudcu te sposobnost prihvaćanja na epitelne stanice bez ograničavanja njegovog djelovanja na organizam, stoga se smatra probiotikom (Ramos i sur., 2013). S obzirom da je *Lactobacillus plantarum* probiotik, on ima povoljan utjecaj na ljudsko zdravlje. Neki od povoljnih utjecaja na ljudsko zdravlje su antioksidacijsko djelovanje (Li i sur., 2012), snižavanje razine triglicerida (Yu i sur., 2012), regulacija imunološkog sustava te djeluje kao antikoagulans i protuupalno (Abdelazez i sur., 2018). *Lactobacillus plantarum* ima i antibakterijsko djelovanje ovisno o produktu koji nastane fermentacijom, stoga se može koristiti kao biokonzervans. Također pokazuje i potencijalno antifungalno djelovanje (Abdelazez i sur., 2018).

2.3. Ambalaža za pakiranje prehrambenih proizvoda

Ambalaža štiti proizvod od proizvodnje, transporta, skladištenja te konačno do predviđene upotrebe. Njena svrha je očuvanje i zaštita od mehaničkog oštećenja, kemijskih i biokemijskih promjena te mikroorganizama, davanje informacija o proizvodu te njegovo predstavljanje, promoviranje i olakšanje distribucije. Ambalaža se često sastoji od plastomera (termoplasta) odnosno polimernih materijala koji pri temperaturi taljenja mijenjaju svoje agregatno stanje te se

mogu lako oblikovati. Polimerni materijali se sastoje od istovrsnih ili različitih polimera kojima se dodaju određeni dodaci kako bi im se poboljšala svojstva. Polimeri nastaju procesom polimerizacije, to jest povezivanjem monomera (Robertson, 2012).

2.3.1. PP/Ac/PVDC ambalaža

PP/Ac/PVDC ambalaža je načinjena od plastomera odnosno polipropilena (PP) s prevlakom akrila i poliviniliden klorida (PVDC). Polipropilen nastaje kao produkt polimerizacije propilena uz prisustvo katalizatora te pri niskom tlaku i temperaturi. U usporedbi s polietilenom koji se također vrlo često upotrebljava u pakiranju namirnica, ima manju gustoću (0,90-0,91 g/cm³), veću čvrstoću i otpornost na porast temperature te je podložniji oksidaciji (Koerner i Koerner, 2018). Također ga karakterizira umjerena otpornost na ultraljubičasto zračenje te je nepropusan za vlagu, plinove i mirise (Allahvaisi, 2012). Temperatura tališta mu iznosi 130-171°C. Polipropilen film je netoksičan, proziran te ima glatku i sjajnu površinu. Polipropilen film može biti rotiran monoaksijalno ili biaksijalno. Polipropilen se može prevući različitim materijalima kako bi se poboljšala njegova svojstva propusnosti plinova i toplinskog zataljivanja (Ščetar i sur., 2017). Akrilna prevlaka je monomer akrilne i metakrilne kiseline. Iako ne utječu na barijerna svojstva ambalažnog materijala, ove prevlake se koriste jer poboljšavaju toplinsko zataljivanje. Također ih karakterizira postojanost i otpornost na ultraljubičasto zračenje (Ščetar, 2014). Poliviniliden klorid se često koristi kao prevlaka jer poboljšava barijerna svojstva na plinove i vodenu paru. Ukoliko se koristi za prevlačenje tankih ambalažnih materijala, poboljšava njihovu čvrstoću (Allahvaisi, 2012).

2.3.2. PPmet/PE ambalaža

PPmet/PE ambalaža se sastoji od dva plastomera, metaliziranog polipropilena (PPmet) i polietilena (PE). Metalizirani polipropilen karakterizira, kao i onaj nemetalizirani, vrlo niska gustoća, visoko talište, s porastom temperature mu se mijenjaju svojstva, netoksičnost, podložnost oksidaciji, otpornost na ultraljubičasto zračenje te nepropusnost za vlagu, plinove i mirise. Metalizirani polipropilen je polipropilen koji je prevučen tankim slojem aluminijske folije što mu daje karakterističan metalni izgled, sjaj i neprozirnost. Aluminijska folija poboljšava barijerna svojstva na

plinove, vlagu, svjetlost, mirise i ulja (Allahvaisi, 2012). Polietilen je plastomer koji nastaje polimerizacijom etilena te je jedan od najčešće korištenih polimernih materijala za pakiranje namirnica. Polietilen je žilav i elastičan materijal voštanog opipa i djelomične prozirnosti te je potpuno nepropusan za vodu (Ščetar, 2014). Polietilen se s obzirom na način proizvodnje dijeli na polietilen visoke i niske gustoće. Svojstva polietilena ovise o njegovoj gustoći. Polietilen niske gustoće (LDPE) je vrlo fleksibilan materijal, postojan do 85°C te se koristi za izradu vrećica i pakiranje pastoznih, viskoznih proizvoda. Njegova gustoća iznosi 0,91-0,925 g/cm³. Polietilen visoke gustoće (HDPE) je relativno krut i čvrst materijal koji je postojan do temperature od 127°C, stoga se može sterilizirati. On se često upotrebljava za izradu boca i čepova. Njegova gustoća iznosi 0,941-0,960 g/cm³ (Stipanelov Vrandečić, 2017).

2.3.3. Diferencijalna motridbena kalorimetrija

Kalorimetrija je metoda kojom se mjeri količina topline koja se oslobađa ili veže prilikom kemijskih ili fizičkih procesa. Promjena količine topline dovodi do promjene vrijednosti temperature ili do stvaranja toplinskog toka koji uzrokuje promjenu vrijednosti temperature. Jedna od najvažnijih kalorimetrijskih metoda je diferencijalna motridbena kalorimetrija. Diferencijalna motridbena kalorimetrija (DSC - Differential scanning calorimetry) je termoanalitička metoda kojom se mjeri razlika toplinskog toka između uzorka i referentnog uzorka pri kontroliranoj promjeni temperature odnosno mjeri se razlika u količini topline koja je potrebna tijekom zagrijavanja ili hlađenja da razlika u temperaturi između uzorka i referentnog uzorka bude jednaka nuli (Gill i sur., 2010). Ova metoda omogućava određivanje termofizičkih svojstava različitih materijala (specifični toplinski kapacitet, točka taljenja), faznih prijelaza (kristalizacija, taljenje, ispravanje, sublimacija, staklasti prijelaz), analize sastava materijala te fizičko-kemijskih parametara (kinetika prijelaza kod taljenja, kristalizacije te temperature prijelaznih stanja). Postoje dvije vrste izvedbe DSC uređaja, a to su DSC toplinskog toka i DSC kompenziranog toplinskog toka. Glavna razlika između spomenute dvije izvedbe je što kod DSC toplinskog toka su uzorak i referentni uzorak u istoj komori, dok su kod DSC kompenziranog toplinskog toka u dvije odvojene komore (Höhne i sur., 2013).

3. Eksperimentalni dio

3.1. Materijali

3.1.1. Mikroorganizam

Utjecaj tretmana pulsirajućim svjetlom je testiran na bakterijskoj kulturi *Lactobacillus plantarum* L73 koja je ustupljena iz Laboratorija za tehnologiju vrenja i kvasca, Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu.

3.1.2. Podloga za uzgoj mikroorganizma

MRS (De Man-Rogosa-Sharpe) bujon i agar su upotrebljavani za uzgoj bakterije *Lactobacillus plantarum* L73. Navedeni bujon (MRS broth with Tween[®] 80) i agar (MRS agar with Tween[®] 80) su proizvodi talijanske tvrtke Biolife. MRS agar se sastoji od peptona, mesnog ekstrakta, kvašćevog ekstrakta, glukoze, Tween 80, magnezijevog sulfata, manganovog sulfata, natrijevog acetata, diamonijevog citrata, dikalijevog hidrogenfosfata i agara. Jedina razlika u sastavu MRS agar i MRS bujona je što se u MRS bujon ne dodaje agar kako bi ta podloga bila tekuća.

MRS agar odnosno MRS bujon je pripremljen otapanjem 70.2 g odnosno 55.2 g u 1000 mL hladne destilirane vode te se zagrijavao do vrenja. Nakon toga je slijedila sterilizacija u autoklavu na 121°C koja je trajala 15 minuta.

3.1.3. Ambalaže

Korištene ambalaže za eksperimentalni dio ovog završnog rada su PP/Ac/PVDC i PPmet/PE ustupljene iz Laboratorija za pakiranje hrane, Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu.

3.1.4. Oprema i uređaji

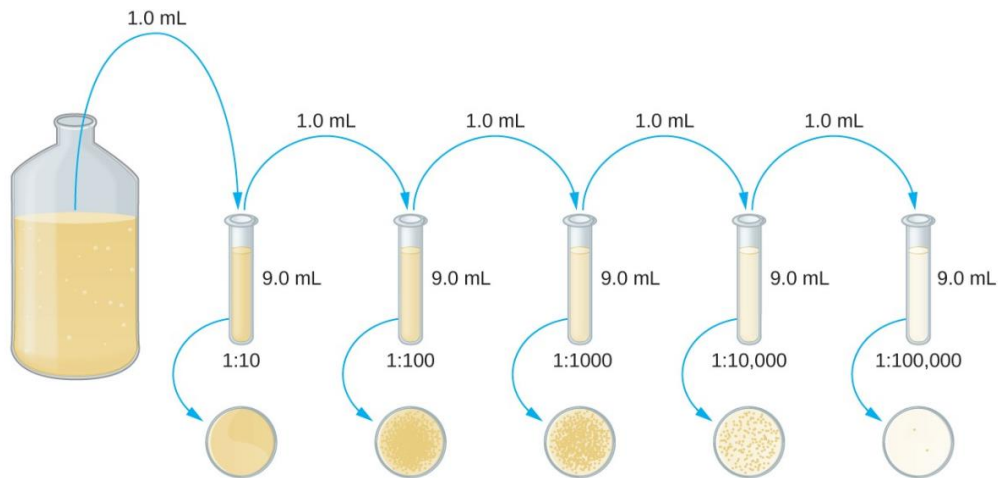
Korištena oprema i uređaji za izvođenje eksperimentalnog dijela ovog završnog rada uključuje centrifugu (Domet, Centric 150), inkubator (MyTemp Mini Digital Incubators, H2200-H), laminar (Klimooprema, model KTV-A), vorteks (IKA, Vortex 4 basic; BV), termometar (InfraRed Thermometer, PCE-777, PCE Instruments, SAD), uređaj za varenje (Audion, model Seal Kid 421, Viro, Republika Hrvatska), uređaj za diferencijalnu motridbenu kalorimetriju (DSC 214 Polyma Differential Scanning Calorimeter, NETZSCH-Gerätebau GmbH) te uređaja za izvođenje tretmana pulsirajućim svjetlom (Model Z-1000 Pulsed light system, Xenon Corporation, USA).

3.2. Metode

3.2.1. Priprema uzorka bakterije *Lactobacillus plantarum*

Uzorak bakterije *Lactobacillus plantarum* L73 pripremljen je naciepljivanjem 10 μ L bakterijske kulture u 10 mL MRS bujona pri aseptičnim uvjetim u laminaru (Klimaaoprema, model KTV-A) te je inkubiran tijekom 24 sata pri 32 °C. Zatim se provodilo centrifugiranje (Domet, Centric 150) u trajanju od 10 minuta kako bi se bakterijska kultura pročistila od tekuće podloge odnosno bujona. Supernatant je odliven nakon centrifugiranja, a bakterijskoj kulturi je dodano 10 mL destilirane vode i uzorak se vorteksirao (IKA, Vortex 4 basic; BV). Postupak centrifugiranja, odlijevanja supernatanta, dodavanja destilirane vode i vorteksiranja se ponavljao tri puta. Zatim se vršilo decimalno razrjeđenje 10⁻⁶ uzorka bakterijske kulture u epruветama pri čemu se dodalo po 9 μ L destilirane vode i po 1 μ L bakterijske kulture iz centrifugiranog uzorka. Nakon toga su se decimalna razrjeđenja naciepljivala na MRS agar u Petrijevim zdjelicama i inkubirala se 48 sati pri 32 °C. Isti postupak se provodio i nakon tretiranja uzoraka bakterije *Lactobacillus plantarum* L73 pulsirajućim svjetlom.

Nakon 48 sati inkubacije Petrijevih zdjelica u kojima je naciepljena bakterijska kultura iz netretiranih i tretiranih uzoraka, određivao se broj živih mikroorganizama neizravnim metodom brojanja poraslih mikroorganizama pomoću brojača kolonija (Slika 3). Broj živih mikroorganizama je izražen kao log CFU/mL.



$$CFU = \frac{\text{broj poraslih kolonija} \times \text{recipročna vrijednost decimalnog razrjeđenja}}{\text{volumen uzorka}}$$

Slika 3. Priprema decimalnog razrjeđenja (Parker i sur., 2016)

3.2.2. Izrada ambalaže za modelnu kulturu *Lactobacillus plantarum*

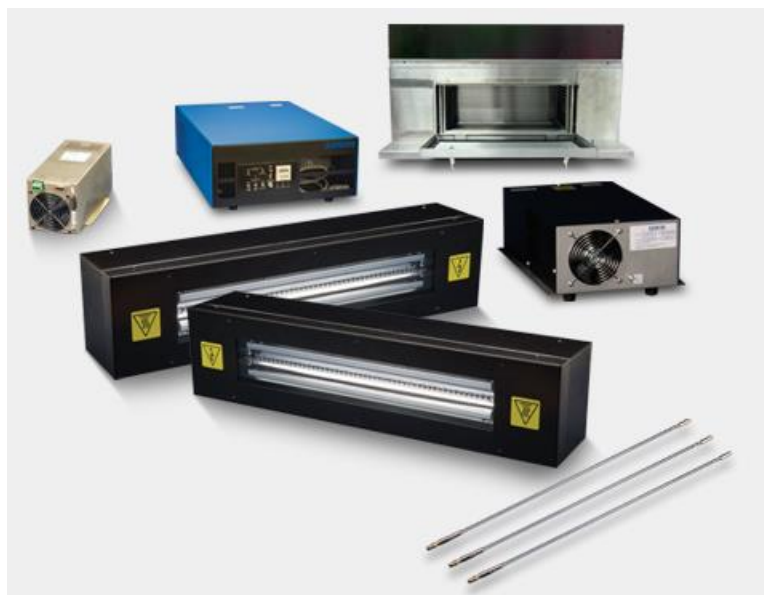
Bakterijska kultura *Lactobacillus plantarum* volumena 10 mL upakirana je u pripremljeni ambalažni materijal PP/Ac/PVDC i PPmet/PE dimenzija 13,5 cm x 13,5 cm, te potom zavarena pomoću uređaja Audion, model Seal Kid 421.

3.2.3. Određivanje temperature

Prije i nakon tretiranja uzoraka pulsirajućim svjetlom se odredila temperatura svakog uzorka pomoću digitalnog infracrvenog termometra InfraRed Thermometer, PCE-777. Određivanje temperature se provodilo tako da se termometar usmjerio na uzorak i očitala se vrijednost na zaslonu termometra.

3.2.4. Tretiranje uzorka pulsirajućim svjetlom

Pripremljena modelna kultura bakterije *Lactobacillus plantarum* L73 je upakirana u ambalažu PP/Ac/PVDC odnosno PPmet/PE te je tretirana pulsirajućim svjetlom u uređaju Xenon, model Z-1000 Pulsed light system (Slika 4.). Lampa u navedenom uređaju za tretiranje uzoraka pulsirajućim svjetlom proizvodi 3 pulsa po sekundi pri čemu je za svaki puls svjetlosti potrebno 505 J električne energije. Prije i nakon tretmana je određena temperatura uzorka u ambalaži pomoću termometra. Također su se bilježile nastale vizualne promjene na ambalažama nakon tretmana. Dva su varirajuća parametra, a to su vrijeme tretiranja i udaljenost uzorka odnosno plitice od izvora svjetlosti (lampe). U Tablici 1. su navedeni parametri pri kojima su upakirani uzorci tretirani pulsirajućim svjetlom..



Slika 4. Uređaj za izvođenje tretmana pulsirajućim svjetlom (Xenon Corporation, 2018)

Tablica 1. Parametri tretiranja upakiranih uzoraka pulsirajućim svjetlom

| | Udaljenost/cm | Vrijeme tretiranja/s |
|---|----------------------|-----------------------------|
| 1 | 1,9 | 5 |
| 2 | 1,9 | 15 |

| | | |
|----|-------|----|
| 3 | 4,65 | 5 |
| 4 | 4,65 | 15 |
| 5 | 7,23 | 5 |
| 6 | 7,23 | 15 |
| 7 | 7,23 | 30 |
| 8 | 9,75 | 5 |
| 9 | 9,75 | 15 |
| 10 | 9,75 | 30 |
| 11 | 9,75 | 60 |
| 12 | 13,65 | 5 |
| 13 | 13,65 | 15 |
| 14 | 13,65 | 30 |
| 15 | 13,65 | 60 |

3.2.5. Diferencijalna motridbena kalorimetrija

DSC analiza je provedena za obje vrste ambalažnih materijala, PP/Ac/PVDC i PPmet/PE, kako bi se utvrdile potencijalne promjene tijekom djelovanja pulsirajućeg svjetla. Za analizu je uzet uzorak tretirane ambalaže. Uzorak tretirane ambalaže je izrezan pomoću posebnog pribora, stavljen su u posudicu i izvagan (bilo je potrebno i praznu posudicu izvagati) te je stavljen poklopac na posudicu s uzorkom. Kao referentni uzorak je korištena prazna posudica koja se nalazi u kućištu uređaja. Zatim je uzorak u posudici s poklopcem stavljen u uređaj za diferencijalnu motridbenu kalorimetriju, DSC 214 Polyma Differential Scanning Calorimeter, NETZSCH-Gerätebau GmbH, i pokrenuta je analiza. Tijekom analize struji dušik koji ima ulogu plina nosioca. Protok dušika iznosi 40 mL/min i 60 mL/min. Prvo se provelo zagrijavanje tijekom kojeg je došlo do povećanja temperature u kućištu uređaja i do promjene količine topline između uzorka i referentnog uzorka te posljedično i do promjene toplinskog toka. Zatim se provelo hlađenje tijekom kojeg se smanjila temperatura u kućištu i količina topline između uzorka te je opet došlo do promjene toplinskog toka. Raspon temperatura tijekom kojeg su se provela mjerenja iznosi od 40°C-340°C za sve uzorke. Promjene topline su detektirane senzorom u uređaju. Zagrijavanje i hlađenje se provelo kako bi se utvrdile kemijske i fizikalne promjene uzorka pri određenim temperaturama.

4. Rezultati i rasprava

U ovom radu je bio ispitivan utjecaj tretmana pulsirajućim svjetlom na upakiranu modelnu kulturu *Lactobacillus plantarum* L73 te na promjene ambalažnih materijala pri različitim parametrima vremena tretiranja i udaljenosti uzorka. Rezultati ovog istraživanja su prikazani u Tablici 2.-7. i na Slici 5.-16.

4.1. Utjecaj pulsirajućeg svjetla na redukciju modelne kulture *Lactobacillus plantarum*

Rezultati djelovanja tretmana pulsirajućim svjetlom pri različitim udaljenostima uzorka (1,9, 4,65, 7,23, 9,75 i 13,65 cm) i vremenu tretiranja (5, 15, 30 i 60 sekundi) na redukciju upakirane modelne kulture *Lactobacillus plantarum* L73 su prikazani u Tablici 2. i 3.

Tablica 2. Utjecaj pulsirajućeg svjetla na redukciju modelne kulture *Lactobacillus plantarum* L73 u ambalaži PP/Ac/PVDC pri udaljenostima uzorka (1,9, 4,65, 7,23, 9,75 i 13,65 cm) te vremenima tretiranja (5, 15, 30 i 60 sekundi)

| | Udaljenost uzorka/cm | Vrijeme tretiranja/s | log CFU/mL (Prije tretmana) | log CFU/mL (Nakon tretmana) |
|----|----------------------|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1 | 1,9 | 5 | 10,02 | 9,65 |
| 2 | 1,9 | 15 | 9,77 | 0 |
| 3 | 4,65 | 5 | 6,37 | 0 |
| 4 | 4,65 | 15 | 5,94 | 0 |
| 5 | 7,23 | 5 | 6,39 | 0 |
| 6 | 7,23 | 15 | 5,48 | 0 |
| 7 | 7,23 | 30 | 9,92 | 0 |
| 8 | 9,75 | 5 | 8,05 | 0 |
| 9 | 9,75 | 15 | 8,41 | 0 |
| 10 | 9,75 | 30 | 8,14 | 0 |
| 11 | 9,75 | 60 | 8,47 | 0 |

| | | | | |
|----|-------|----|-------|---|
| 12 | 13,65 | 5 | 7,03 | 0 |
| 13 | 13,65 | 15 | 7,76 | 0 |
| 14 | 13,65 | 30 | 6,78 | 0 |
| 15 | 13,65 | 60 | 10,26 | 0 |

U Tablici 2. koja se odnosi na PP/Ac/PVDC ambalažni materijal, eksperimentalni podaci pokazuju da pri svih pet udaljenosti od izvora svjetla na kojima je upakovana modelna kultura *Lactobacillus plantarum* L73 tretirana te pri svim vremenima tretiranja je došlo do potpune redukcije odnosno log CFU/mL nakon tretmana iznosi 0. Iznimka je uzorak koji je tretiran prema parametrima na poziciji 1 odnosno 1,9 cm te pri vremenu od 5 sekundi. Rezultat za taj uzorak pokazuje da nije došlo do redukcije bakterijske kulture odnosno log CFU/mL nakon tretmana iznosi 9,65. Brojna istraživanja su dokazala da tretman pulsirajućim UV svjetlom ima baktericidni učinak što potvrđuju i rezultati u Tablici 2.. S obzirom da je uzorak bio upakovan, značajan čimbenik je i ambalažni materijal. Do potpune inaktivacije bakterije *Lactobacillus plantarum* L73 je došlo zbog upotrebe PP/Ac/PVDC ambalažnog materijala. PP/Ac/PVDC ambalaža je prozirna te se sastoji od polipropilena kojeg karakterizira velika transmisija ultraljubičastog zračenja koje uzrokuje inaktivaciju mikroorganizama čime je postignut fotokemijski učinak (Keklik i sur., 2009). U određenim prijašnjim istraživanjima su dobiveni slični rezultati tj. dokazana je redukcija različitih upakovanih bakterijskih vrsta poput *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* i *Listeria innocua* djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla pri čemu se ambalažni materijal sastojao od polipropilena i/ili polietilena tj. bio je proziran i plastičan (Proulx i sur., 2015; Keklik i sur., 2009; Ringus i Moraru, 2013; Keklik, 2009; Fernandez i sur., 2009). Ovim istraživanjem je dokazano da je PP/Ac/PVDC ambalažni materijal pogodan za pakiranje nesteriliziranog proizvoda te naknadnu provedbu sterilizacije bez interferencije samog ambalažnog materijala.

Tablica 3. Utjecaj pulsirajućeg svjetla na redukciju modelne kulture *Lactobacillus plantarum* L73 u ambalaži PPmet/PE pri udaljenostima uzorka (1,9, 4,65, 7,23, 9,75 i 13,65 cm) te vremenima tretiranja (5, 15, 30 i 60 sekundi)

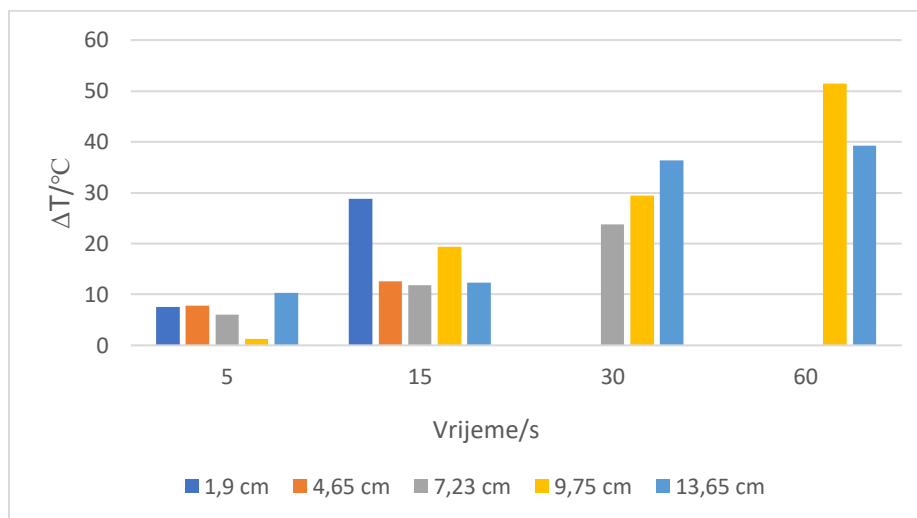
| | Udaljenost uzorka/cm | Vrijeme tretiranja/s | log CFU/mL (Prije tretmana) | logCFU/mL (Nakon tretmana) |
|----|-----------------------------|-----------------------------|--|---------------------------------------|
| 1 | 1,9 | 5 | 8,54 | 8,51 |
| 2 | 1,9 | 15 | 7,55 | 7,8 |
| 3 | 4,65 | 5 | 8,15 | 8,68 |
| 4 | 4,65 | 15 | 8,32 | 7,89 |
| 5 | 7,23 | 5 | 8,24 | 8,62 |
| 6 | 7,23 | 15 | 7,32 | 8,27 |
| 7 | 7,23 | 30 | 6,95 | 8,22 |
| 8 | 9,75 | 5 | 7,33 | 8,53 |
| 9 | 9,75 | 15 | 7,24 | 8,02 |
| 10 | 13,65 | 5 | 7,24 | 8,51 |
| 11 | 13,65 | 15 | 6,97 | 7,65 |
| 12 | 13,65 | 30 | 7,77 | 8,17 |
| 13 | 13,65 | 60 | 7,3 | 7,77 |

Prema podacima iz Tablice 3. koja se odnosi na uzorke upakirane u PPmet/PE ambalažni materijal, tretman pulsirajućim UV svjetlom nije uzrokovao potpunu redukciju bakterije *Lactobacillus plantarum* L73 ni pri jednom zadanom parametru odnosno broj mikroorganizama nakon tretmana je ostao nepromijenjen u odnosu na broj mikroorganizama prije tretmana. Razlog tomu je upotrijebljeni ambalažni materijal. PPmet/PE ambalaža se kao i PP/Ac/PVDC ambalaža sastoji od polipropilena te još sadrži i polietilen tj. dva materijala koja su prozirna. Međutim, polipropilen u PPmet/PE ambalaži je metaliziran aluminijem što ovu ambalažu čini u potpunosti neprozirnom. S obzirom da je ona neprozirna ne može transmitirati ultraljubičasto zračenje, stoga ne dolazi ni do fotokemijskog učinka odnosno ne dolazi do redukcije broja mikroorganizama (Balköse i sur., 2010). Ovim istraživanjem je dokazano da je PPmet/PE ambalažni materijal nepropusan na djelovanje pulsirajućeg UV svjetla.

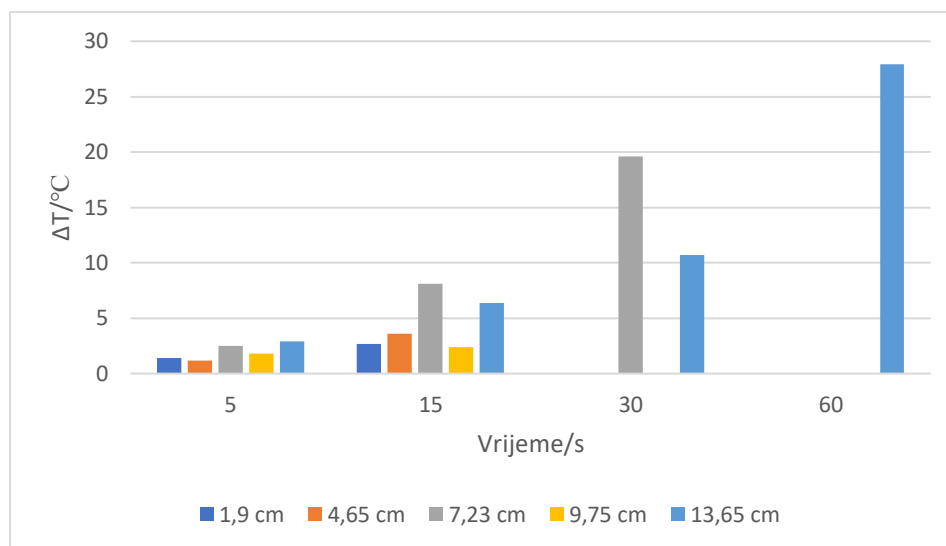
Usporedbom rezultata iz Tablica 2. i 3. se može zaključiti da uspješnost redukcije broja mikroorganizama djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla znatno ovisi o izboru ambalažnog materijala. Točnije, što materijal ima veću transmisiju i refleksiju ultraljubičastog zračenja doći će do manje redukcije broja mikroorganizama nakon tretiranja uzorka pulsirajućim UV svjetlom. Navedeno je u skladu s rezultatima prijašnjih istraživanja (Ringus i Moraru, 2013). Određeni autori preporučavaju upotrebu transparentne ambalaže kako bi se ostvarila inaktivacija mikroorganizama ovim tretmanom te izbjegavanje neprozirne ambalaže (Heinrich i sur., 2016; Chauhan, 2019).

4.2. Promjene temperature

Nakon tretiranja upakirane modelne kulture *Lactobacillus plantarum* s pulsirajućim svjetlom na pet različitih udaljenosti pri četiri različita vremena, došlo je do povećanja vrijednosti temperature kod obje upotrebene ambalaže, PP/Ac/PVDC i PPmet/PE, što je i prikazano grafički na Slici 5. i 6.



Slika 5. Prikaz ovisnosti promjene temperature o vremenu tretiranja pri različitim udaljenostima za ambalažu PP/Ac/PVDC



Slika 6. Prikaz ovisnosti promjene temperature o vremenu tretiranja pri različitim udaljenostima za ambalažu PPmet/PE

Temperaturne vrijednosti uzorka nakon tretmana se razlikuju ovisno o udaljenosti uzorka od izvora svjetlosti, vremenu tretiranja te vrsti materijala u koji je modelna kultura upotrebljene bakterije upakirana. Najveće povećanje temperature je zabilježeno nakon tretiranja na udaljenosti uzorka od 9,75 cm te vremenu tretiranja od 60 sekundi za ambalažu PP/Ac/PVDC (51,4°C) dok je najveći porast za ambalažu PPmet/PE zabilježen kod udaljenosti uzorka od 13,65 cm te vremenu tretiranja od 60 sekundi (27,9°C). Za udaljenost uzorka od 1,9 cm od izvora svjetla, za ambalažu PP/Ac/PVDC, se na Slici 5. primjećuje da povećanje temperature za vrijeme tretiranja od 5 sekundi iznosi 7,6°C dok za vrijeme tretiranja od 15 sekundi iznosi 28,8°C odnosno porast temperature je znatno veći. Na istoj slici se može očitati da za udaljenost uzorka od 13,65 cm od izvora svjetla povećanje temperature za vrijeme tretiranja od 5 sekundi iznosi 10,3°C, za vrijeme od 15 sekundi iznosi 12,3°C, a za vremena od 30 sekundi i 60 sekundi iznosi 36,3°C odnosno 39,2°C. Ista pojava vrijedi i za preostale tri udaljenosti uzorka (4,65, 7,23 i 9,75 cm) za ambalažu PP/Ac/PVDC.

Iz navedenog se zaključuje da ukoliko se povećava vrijeme tretiranja uzorka s pulsirajućim svjetlom, doći će do porasta temperature nakon tretmana pod uvjetom da se uzorak tretira na istoj udaljenosti. Razlog tomu je djelovanje infracrvenog zračenja. Navedeno vrijedi za obje ambalaže, PP/Ac/PVDC i PPmet/PE. U prijašnjim istraživanjima (Gómez i sur., 2011; Keklik i sur., 2009) su dobiveni slični rezultati te isti autori (Gómez i sur., 2011) navode da je porast temperature veći što je uzorak bliže izvoru svjetlosti i da porast temperature ovisi o položaju uzorka na plitici.

Za ambalažu PP/Ac/PVDC (Slika 5.) pri udaljenosti od 1,9 cm te vrijeme tretiranja od 5 sekundi, porast temperature iznosi 7,6°C, dok pri istoj udaljenosti i vremenu tretiranja za ambalažu PPmet/PE (Slika 6.) porast temperature iznosi 1,4°C. Kada se usporede porasti temperatura obje ambalaže pri ostalim udaljenostima i vremenima tretiranja, uočava se da su oni uvijek znatno veći za ambalažu PP/Ac/PVDC. Razlog tomu je što se PP/Ac/PVDC ambalaža sastoji od polipropilena koji ima veću transmisiju ultraljubičastog zračenja (Keklik i sur., 2009), dok polipropilen koji je metaliziran aluminijem i čini PPmet/PE ambalažu nema sposobnost transmisije ultraljubičastog zračenja odnosno on je neproziran (Balköse i sur., 2010).

4.3. Utjecaj pulsirajućeg svjetla na ambalažne materijale

4.3.1. Utjecaj pulsirajućeg svjetla na vanjski izgled ambalažnih materijala

Nakon tretiranja upakiranih uzoraka s pulsirajućim svjetlom pri pet različitim udaljenosti i četiri različita vremena, kod određenih upakiranih uzoraka je došlo do vidljivih promjena na ambalaži. Podaci istraživanja su prikazani u Tablici 4. i 5. Izgled ambalaže nakon tretmana je opisan kao neoštećena, oštećena (odnosi se na pojavu rupa), oštećena sa spaljenim rubovima, blago deformirana, deformirana te deformirana sa spaljenim rubovima ovisno o intenzitetu promjene.

Tablica 4. Prikaz zabilježenih vizualnih promjena tretiranih uzoraka u ambalaži PP/Ac/PVDC pri udaljenostima uzorka (1,9, 4,65, 7,23, 9,75 i 13,65 cm) te vremenima tretiranja (5, 15, 30 i 60 sekundi)

| | Udaljenost uzorka/cm | Vrijeme tretiranja/s | T/°C (Prije tretmana) | T/°C (Nakon tretmana) | Izgled ambalaže nakon tretmana |
|---|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | 1,9 | 5 | 21,1 | 28,7 | oštećena |
| 2 | 1,9 | 15 | 21,3 | 50,1 | oštećena, spaljeni rubovi |
| 3 | 4,65 | 5 | 22,9 | 30,7 | neoštećena |
| 4 | 4,65 | 15 | 22,2 | 34,8 | blago deformirana |
| 5 | 7,23 | 5 | 22,7 | 28,7 | neoštećena |
| 6 | 7,23 | 15 | 22,4 | 34,2 | neoštećena |

| | | | | | |
|----|-------|----|------|------|------------------------------|
| 7 | 7,23 | 30 | 21,2 | 45 | neoštećena |
| 8 | 9,75 | 5 | 23,8 | 25 | neoštećena |
| 9 | 9,75 | 15 | 24,2 | 43,6 | neoštećena |
| 10 | 9,75 | 30 | 23,2 | 52,6 | neoštećena |
| 11 | 9,75 | 60 | 23,2 | 74,6 | deformirana, spaljeni rubovi |
| 12 | 13,65 | 5 | 23,3 | 33,6 | neoštećena |
| 13 | 13,65 | 15 | 23,3 | 35,6 | neoštećena |
| 14 | 13,65 | 30 | 22,8 | 59,1 | neoštećena |
| 15 | 13,65 | 60 | 21,6 | 60,8 | oštećena |

Iz rezultata istraživanja za ambalažu PP/Ac/PVDC iz Tablice 4. se uočava da ambalaža koja je tretirana prema parametrima na poziciji 11 (9,75 cm, 60 s) ima najintenzivnije promjene (deformirana, spaljeni rubovi) što se objašnjava najvećim porastom temperature (51,4°C) u usporedbi s ostalim tretiranim uzorcima. Za ambalaže koje su nakon tretiranja bile neoštećene je karakterističan nezamjetan porast temperature (npr. za uzorak tretiran prema parametrima na poziciji 5 je porast temperature 6°C). Međutim, ukoliko je došlo do znatnijeg porasta temperature, a ambalaža je neoštećena, to se objašnjava većom udaljenosti uzorka od izvora svjetlosti (npr. za uzorak tretiran prema parametrima na poziciji 14 porast temperature je 36,3°C).

Podaci iz Tablice 5. za ambalažu PPmet/PE pokazuju da ambalaža koja je tretirana prema parametrima na poziciji 7 pokazuje najznačajnije promjene u izgledu ambalaže (deformirana, oštećena) što se objašnjava porastom temperature od 19,6°C. Iako kod navedenog uzorka nije došlo do najvećeg porasta temperature (on je zabilježen za udaljenost 5 te vrijeme tretiranja od 60 sekundi i iznosi 27,9°C) on ipak pokazuje najintenzivnije promjene jer se nalazi bliže izvoru svjetlosti nego uzorak kod kojeg je došlo do najvećeg porasta temperature. Iz eksperimentalnih podataka se zaključuje da su vidljive promjene u izgledu ambalaže nakon tretiranja pulsirajućim svjetlom intenzivnije što je uzorak bliže izvoru svjetlosti i što je veće vrijeme tretiranja te je s time povezan i porast temperature nakon tretiranja. Navedeno vrijedi za obje tretirane vrste ambalaže. Razlog tomu je osjetljivost polipropilena, koji se nalazi u obje ambalaže, i polietilena koji se nalazi u PPmet/PE ambalaži na ultraljubičasto zračenje odnosno ukoliko se oni izlože ultraljubičastom zračenju dolazi do fotodegradacijskih i termodegradacijskih procesa te oni gube svoja karakteristična svojstva što se očituje u izgledu ambalaže (Tolinski, 2015). Ultraljubičasto zračenje

djeluje tako da dolazi u interakciju sa slobodnim atomima ugljika u molekulama te nastaju slobodni radikali koji reagiraju s kisikom što rezultira nastankom karbonilne skupine u glavnom lancu i dovodi do oštećenja ambalaže (Yousif i Haddad, 2013).

Tablica 5. Prikaz zabilježenih vizualnih promjena tretiranih uzoraka u ambalaži PPmet/PE pri udaljenostima uzorka (1,9, 4,65, 7,23, 9,75 i 13,65 cm) te vremenima tretiranja (5, 15, 30 i 60 sekundi)

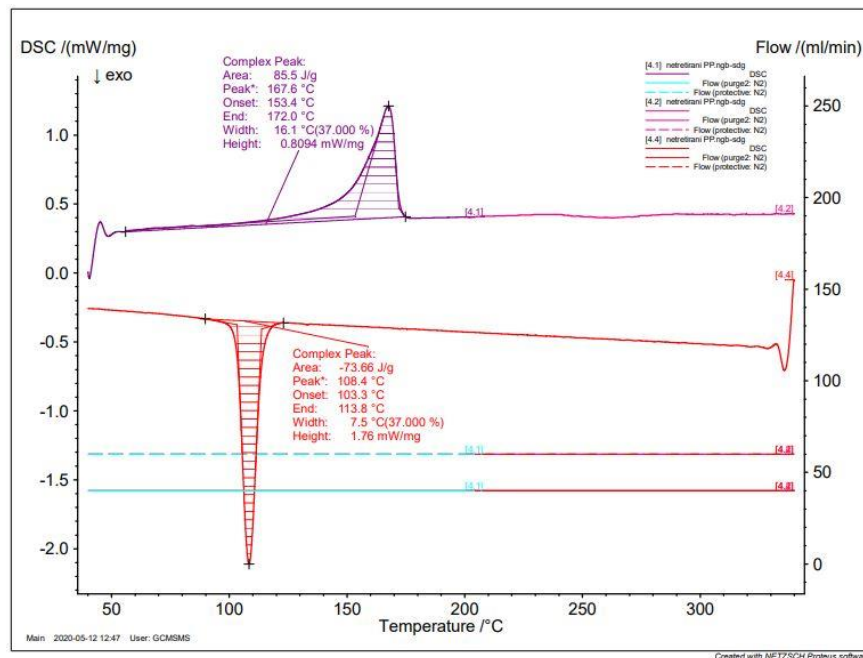
| | Udaljenost uzorka/cm | Vrijeme tretiranja/s | T/°C (Prije tretmana) | T/°C (Nakon tretmana) | Izgled ambalaže nakon tretmana |
|----|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|---------------------------------------|
| 1 | 1,9 | 5 | 22 | 23,4 | blago deformirana |
| 2 | 1,9 | 15 | 23,4 | 26,1 | oštećena, spaljena na rubovima |
| 3 | 4,65 | 5 | 22,7 | 23,9 | blago deformirana |
| 4 | 4,65 | 15 | 20 | 23,6 | spaljeni rubovi |
| 5 | 7,23 | 5 | 21,7 | 24,2 | neoštećena |
| 6 | 7,23 | 15 | 21,2 | 29,3 | blago deformirana |
| 7 | 7,23 | 30 | 21,1 | 40,7 | deformirana, oštećena |
| 8 | 9,75 | 5 | 21,1 | 22,9 | neoštećena |
| 9 | 9,75 | 15 | 21,7 | 24,1 | deformirana |
| 10 | 13,65 | 5 | 20,5 | 23,4 | neoštećena |
| 11 | 13,65 | 15 | 20,4 | 26,8 | neoštećena |
| 12 | 13,65 | 30 | 23 | 33,7 | neoštećena |
| 13 | 13,65 | 60 | 20,7 | 48,6 | deformirana |

Pri parametrima na pozicijama 6 i 7, PP/Ac/PVDC ambalaža ne pokazuje znakove oštećenja dok pri istim parametrima PPmet/PE ambalaža pokazuje promjene ambalaže (blago deformirana te deformirana, oštećena) pri čemu su porasti temperatura slični (11,8 i 23,8°C za PP/Ac/PVDC te 8,1 i 19,6°C za PPmet/PE). Usporedbom rezultata obje ambalaže, dolazi se do zaključka da u određenim slučajevima PPmet/PE ambalaža pokazuje intenzivnije promjene nakon tretmana pri jednakim udaljenostima uzorka, vremenu tretiranja te sličnom porastu temperature. Uzrok navedenih promjena izgleda ambalaže je što polipropilen ima višu točku taljenja (130°C-171°C) od polietilena (115°C-135°C).

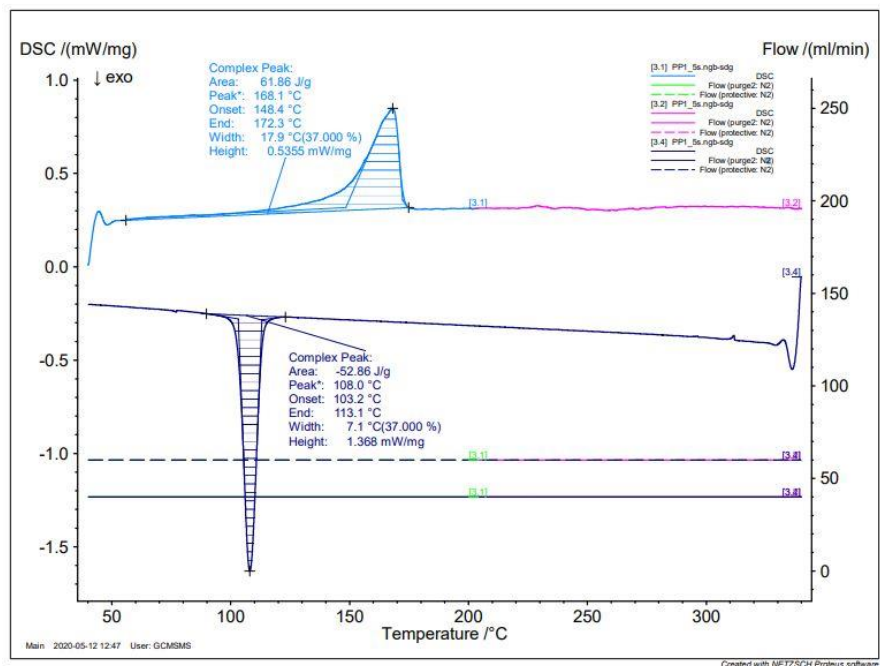
4.3.2. DSC analiza

Rezultati provedene diferencijalne motridbene kalorimetrije su prikazani kao ovisnost protoka topline o temperaturi jer iz omjera ta dva parametra možemo odrediti specifični toplinski kapacitet koji nam daje informaciju o strukturi i stabilnosti uzorka odnosno ambalažnog materijala.

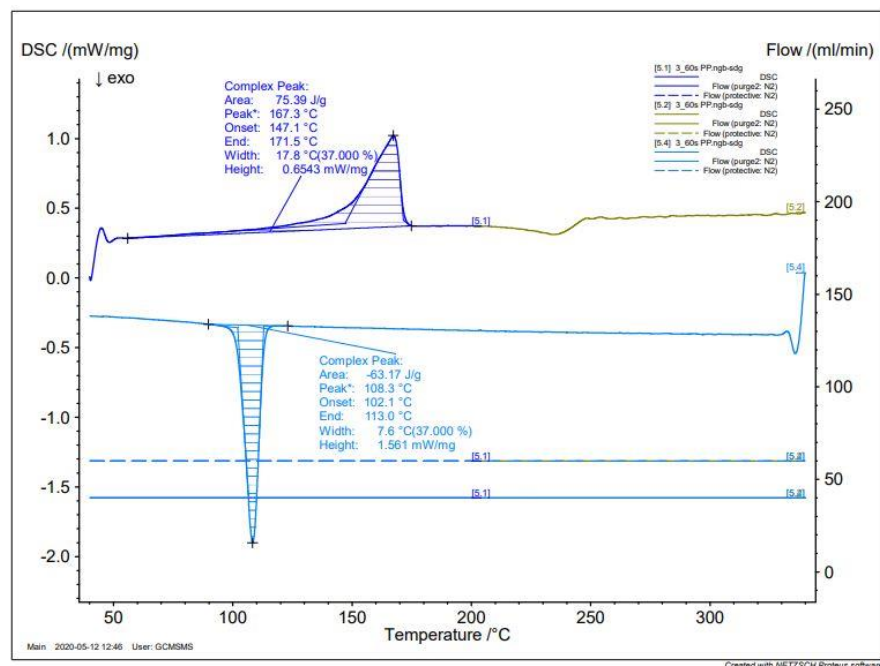
Rezultati DSC analize netretiranog uzorka PP/Ac/PVDC ambalaže (Slika 7.) pokazuju da je uzorak u čvrstom stanju do temperature od 110°C nakon čega započinje taljenje uzorka. Najviša točka taljenja je ostvarena na 167,6°C, a taljenje je potpuno pri temperaturi od 172°C. Zatim slijedi daljnje zagrijavanje uzorka pri čemu je pik ravna linija jer je protok topline gotov konstantan i tada je ambalažni materijal u potpunosti prešao u tekuće stanje. Zatim slijedi faza hlađenja. Potpuna kristalizacija uzorka je ostvarena na temperaturi od 90°C, a najviša točka kristalizacije na 108,4°C. Nakon toga slijedi ravna linija pika u daljnjem hlađenju. Analizirani tretirani uzorci pokazuju sličan trend (Slika 8.-11.).



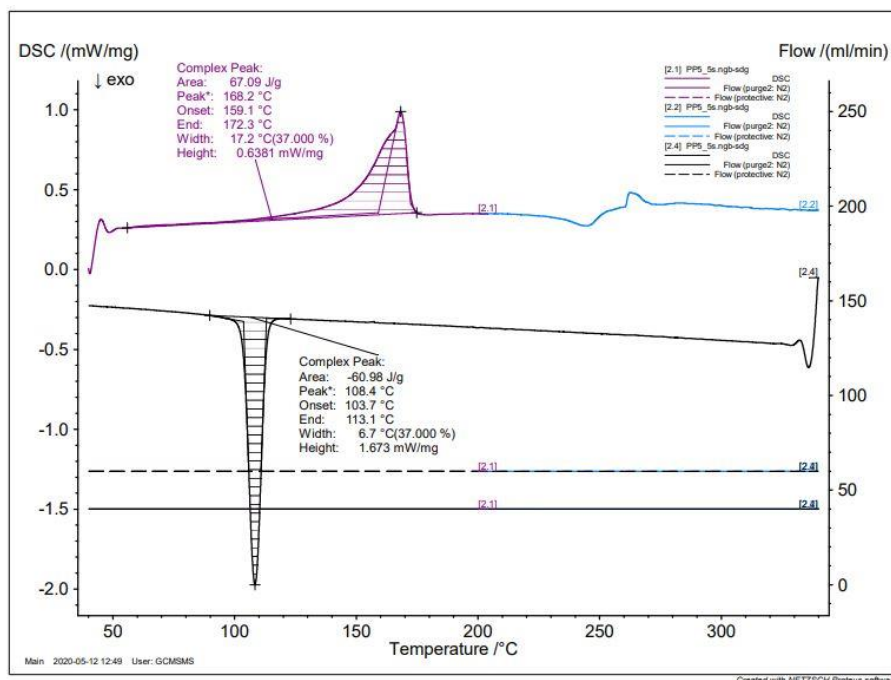
Slika 7. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za netretirani uzorak PP/Ac/PVDC ambalaže



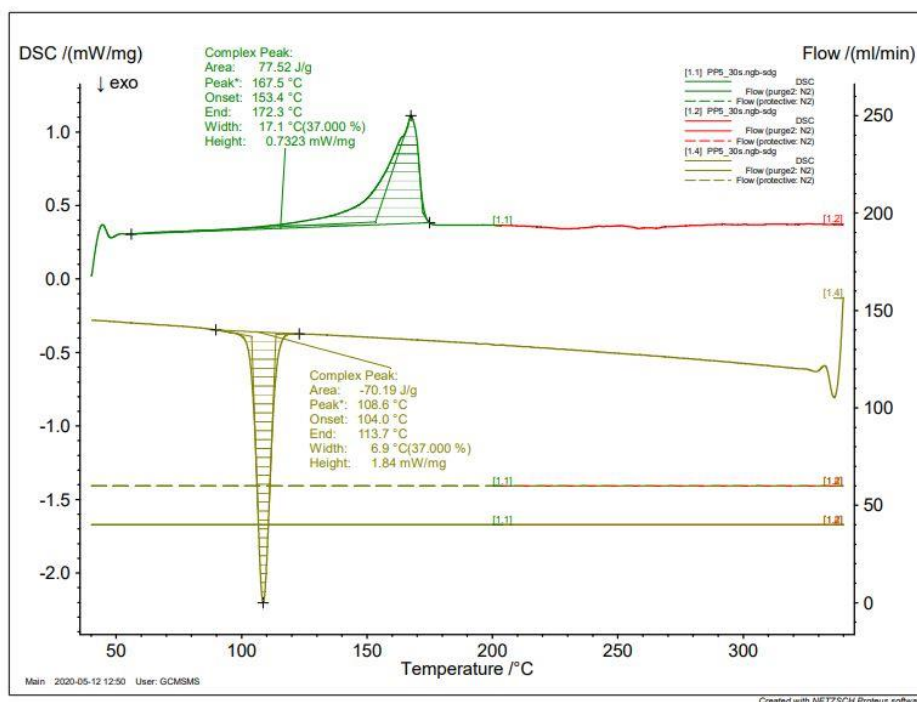
Slika 8. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za PP/Ac/PVDC ambalažu tretiranu na udaljenosti 1,9 cm i 5 sekundi



Slika 9. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za PP/Ac/PVDC ambalažu tretiranu na udaljenosti 4,65 cm i 60 sekundi



Slika 10. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za PP/Ac/PVDC ambalažu tretiranu na udaljenosti 7,23 cm i 5 sekundi



Slika 11. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za PP/Ac/PVDC ambalažu tretiranu na udaljenosti 7,23 cm i 30 sekundi

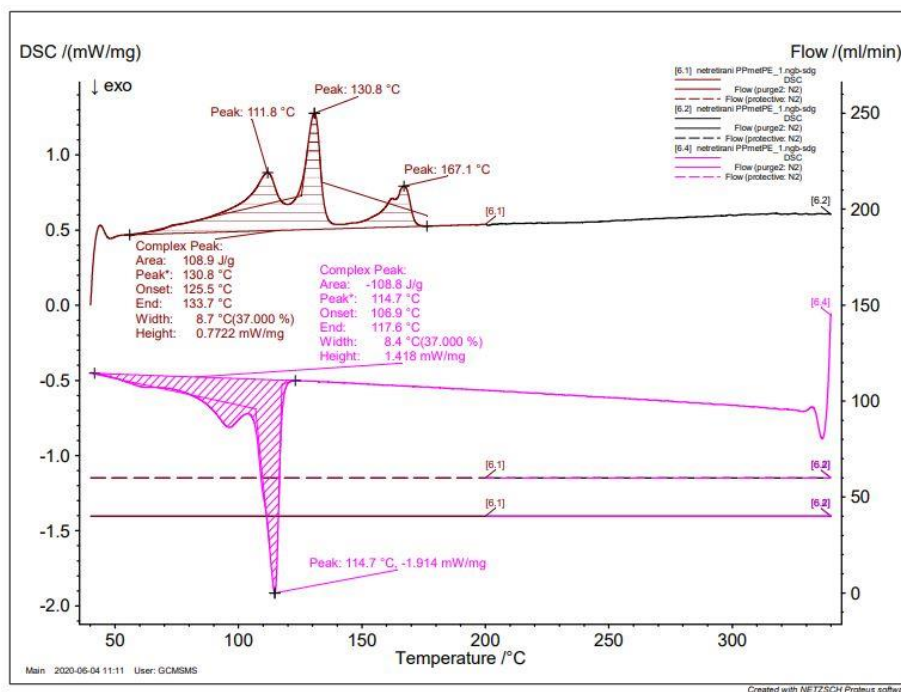
Tablica 6. Fizičko kemijski parametri netretiranog i tretiranih uzoraka PP/Ac/PVDC ambalaže dobiveni DSC analizom

| Uzorak (udaljenost/cm_vrijeme/s) | $T_m/^\circ\text{C}$ | $T_c/^\circ\text{C}$ | $\Delta H_{fus}/\text{Jg}^{-1}$ | $\Delta H_c/\text{Jg}^{-1}$ |
|-------------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| 0 | 167,6 | 108,4 | 85,5 | -73,66 |
| 1,9_5 | 168,1 | 108,0 | 61,86 | -52,86 |
| 4,65_60 | 167,3 | 108,3 | 75,39 | -63,17 |
| 7,23_5 | 168,2 | 108,4 | 67,09 | -60,98 |
| 7,23_30 | 167,5 | 108,6 | 77,52 | -70,19 |

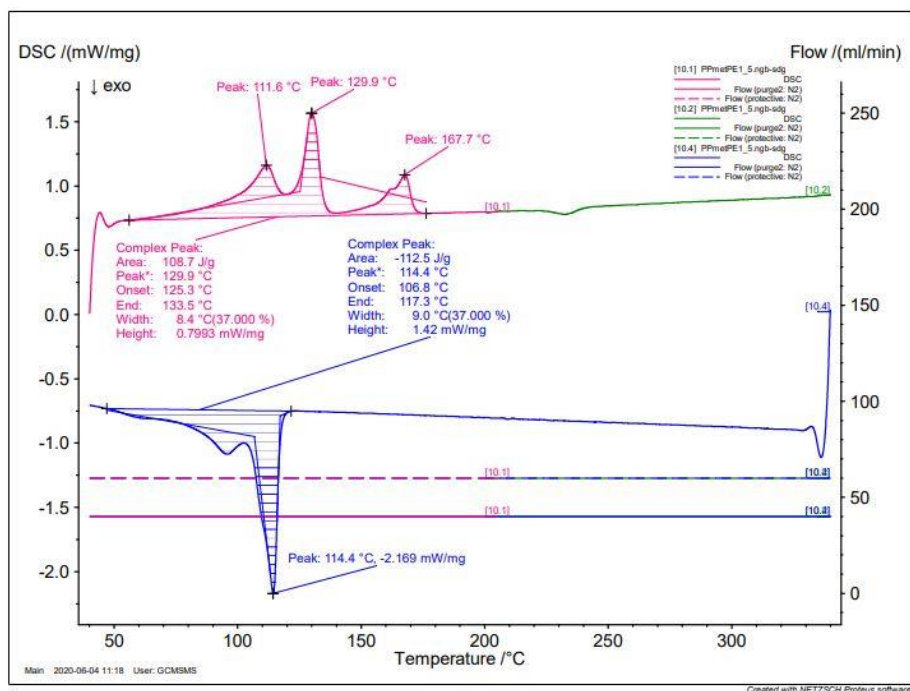
T_m – temperatura taljenja, T_c – temperatura kristalizacije, ΔH_{fus} – entalpija taljenja, ΔH_c - entalpija kristalizacije

Analiziranjem grafova dobivenih DSC analizom za ambalažu PP/Ac/PVDC (Slika 7.-11.) se može zaključiti da tijekom zagrijavanja i taljenja nije došlo do velikih promjena u strukturi niti jednog uzorka ambalažnog materijala jer su pikovi tijekom zagrijavanja širi i niži odnosno tijekom hlađenja su uži i viši čime je površina ispod pikova podjednaka što znači da su količine topline koje se oslobađaju odnosno vežu podjednake. U Tablici 6. se nalaze brojčani podaci koji to potvrđuju. Naprimjer, entalpija taljenja za uzorak ambalaže koji je tretiran na udaljenosti od 1,9 cm u vremenu od 5 sekundi iznosi 85,5 J/g, dok entalpija hlađenja istog uzorka iznosi -73,66 J/g. Usporedbom podataka iz Tablice 6. je evidentno da temperatura taljenja netretiranog i tretiranih uzoraka je približno jednaka i ona u prosjeku iznosi 167,74°C. To vrijedi i za temperaturu kristalizacije koja u prosjeku iznosi 108,34°C. Posljedično su entalpije taljenja i kristalizacije približno jednakih vrijednosti za netretirani i tretirane uzorke PP/Ac/PVDC ambalaže. Također komparacijom uzoraka koji su tretirani pri različitim parametrima udaljenosti i vremena tretiranja je očito da nije došlo do velikih razlika u temperaturi taljenja i temperaturi kristalizacije.

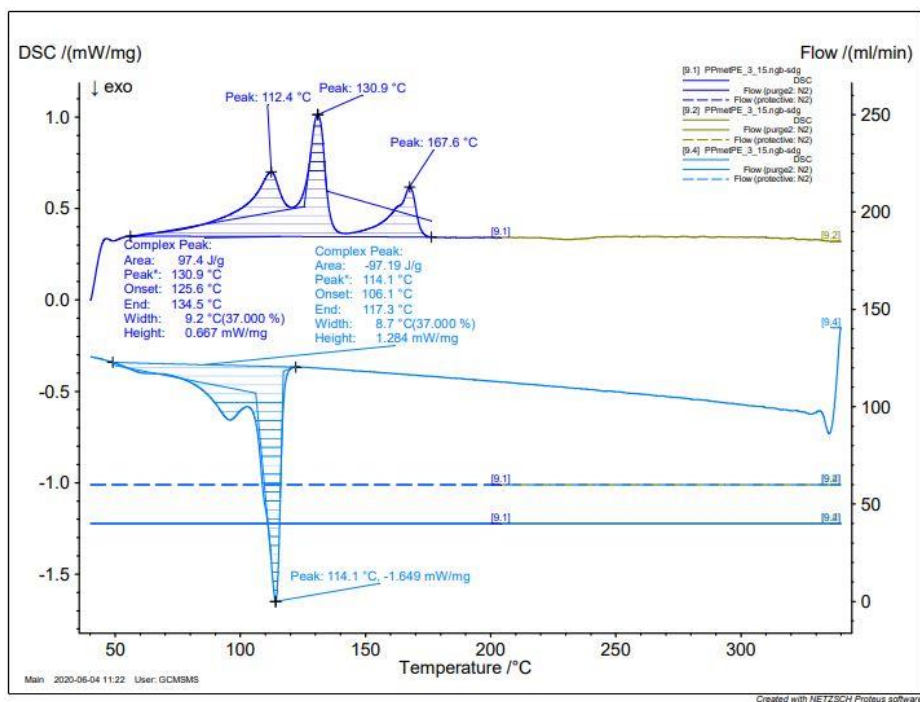
Rezultati DSC analize netretiranog uzorka PPmet/PE ambalaže (Slika 12.) pokazuju da je uzorak u krutom stanju do temperature od 60°C kada se počinje taliti odnosno prelaziti u tekuće stanje. Najviša točka taljenja je 130,8°C, a taljenje je potpuno pri temperaturi od 172°C. Zatim slijedi daljnje zagrijavanje uzorka pri čemu je pika ravna linija jer je protok topline gotov konstantan. Razlog tomu je što je analizirani ambalažni materijal u potpunosti prešao u tekuće stanje. Nakon toga se provodi hlađenje. Pri temperaturi od 50°C je ostvarena potpuna kristalizacija uzorka, dok najviša točka kristalizacije iznosi 114,7°C. Zatim slijedi ravna linija pika u daljnjem hlađenju. Na grafu su prisutna po 3 pika jer se PPmet/PE ambalaža sastoji od više komponenti. Sličan trend je prisutan i kod analiziranih tretiranih uzoraka (Slika 13.-16.).



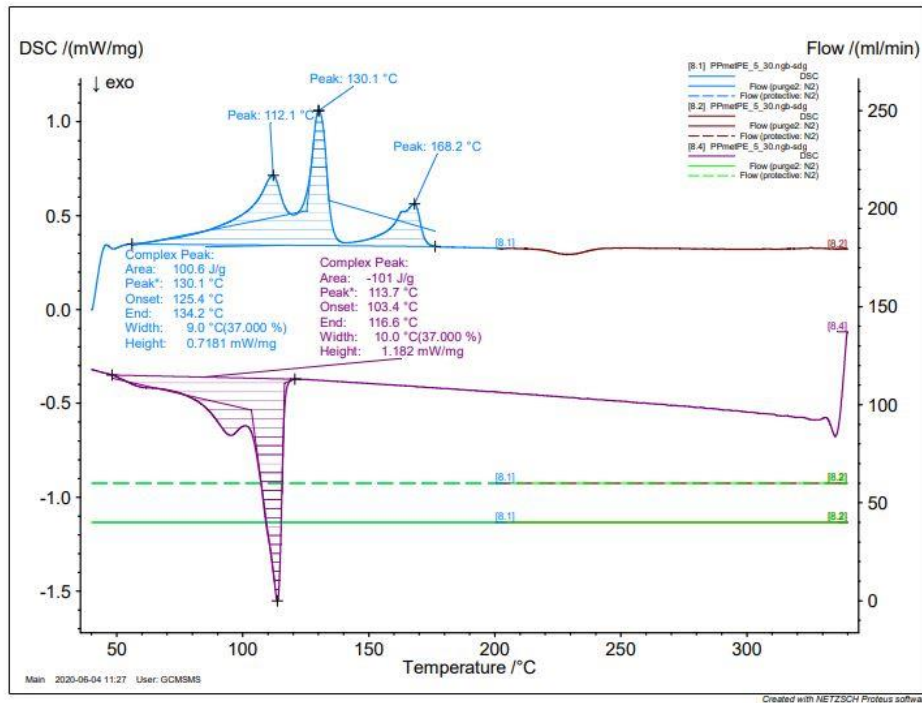
Slika 12. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za netretirani uzorak PPmet/PE ambalaže



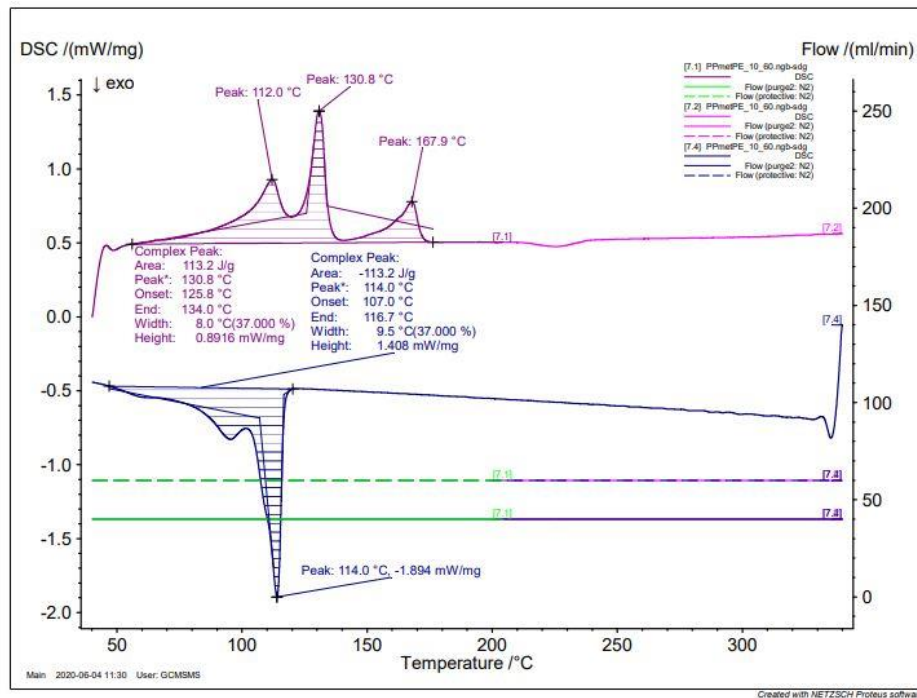
Slika 13. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za PPmet/PE ambalažu tretiranoj na udaljenosti 1,9 cm i 5 sekundi



Slika 14. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za PPmet/PE ambalažu tretiranoj na udaljenosti 4,65 cm i 15 sekundi



Slika 15. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za PPmet/PE ambalažu tretiranoj na udaljenosti 7,23 cm i 30 sekundi



Slika 16. Prikaz ovisnosti protoka topline o temperaturi za PPmet/PE ambalažu tretiranoj na udaljenosti 13,65 cm i 60 sekundi

Tablica 7. Fizičko kemijski parametri netretiranog i tretiranih uzoraka PPmet/PE ambalaže dobiveni DSC analizom

| Uzorak (udaljenost/cm_vrijeme/s) | $T_m/^\circ\text{C}$ | $T_c/^\circ\text{C}$ | $\Delta H_{fus}/\text{Jg}^{-1}$ | $\Delta H_c/\text{Jg}^{-1}$ |
|-------------------------------------|----------------------|----------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| 0 | 130,8 | 114,7 | 108,9 | -108,8 |
| 1,9_5 | 129,9 | 114,4 | 108,7 | -112,5 |
| 4,65_15 | 130,9 | 114,1 | 97,4 | -97,19 |
| 7,23_30 | 130,1 | 113,7 | 100,6 | -101,0 |
| 13,65_60 | 130,8 | 114,0 | 113,2 | -113,2 |

T_m – temperatura taljenja, T_c – temperatura kristalizacije, ΔH_{fus} – entalpija taljenja, ΔH_c – entalpija kristalizacije

Analiziranjem grafova dobivenih DSC analizom (Slika 12.-16.) se može zaključiti da prilikom zagrijavanja i taljenja nije došlo do značajnih promjena u strukturi niti jednog uzorka ambalažnog materijala jer su pikovi prilikom zagrijavanja širi i niži, a pikovi prilikom hlađenja su uži i viši odnosno površina ispod tih pikova je približno jednaka što znači da su količine topline koje se oslobađaju odnosno vežu podjednake. Navedeno je prikazano brojčano u Tablici 7. Naprimjer, entalpija taljenja za uzorak ambalaže koji je tretiran na udaljenosti od 1,9 cm u vremenu od 5 sekundi iznosi 108,7 J/g, dok entalpija hlađenja istog uzorka iznosi -112,5 J/g. Usporedbom eksperimentalnih podataka iz Tablice 7. je primjetno da temperatura taljenja netretiranog i tretiranih uzoraka je približno jednaka i ona u prosjeku iznosi 130,5°C. Isto vrijedi i za temperaturu kristalizacije koja u prosjeku iznosi 114,18°C. Posljedično su entalpije taljenja i kristalizacije približno jednakih vrijednosti za netretirani i tretirane uzorke PPmet/PE ambalaže. Isto tako, usporedbom uzoraka koji su tretirani pri različitim parametrima udaljenosti i vremena tretiranja je očito da nije došlo do velikih razlika u temperaturi taljenja i temperaturi kristalizacije.

Time se dolazi do zaključka da tijekom tretiranja uzoraka PP/Ac/PVDC i PPmet/PE ambalaže pulsirajućim svjetlom nije došlo do značajnih promjena u strukturi tretiranih uzoraka neovisno o udaljenosti uzoraka od izvora svjetlosti i vremenu tretiranja. Ovim istraživanjem je dokazano da su PP/Ac/PVDC i PPmet/PE ambalaža pogodna za pakiranje prehrambenih proizvoda koje je potrebno tretirati visokom temperaturom jer prilikom tretmana neće doći do promjena u strukturi ambalaže odnosno neće se promijeniti njena barijerna svojstva.

5. Zaključci

Iz dobivenih rezultata ovog istraživanja se može zaključiti sljedeće:

- Potpuna inaktivacija bakterije *Lactobacillus plantarum* L73 djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla je ostvarena pri svim zadanim parametrima ukoliko je uzorak bio pakiran u PP/Ac/PVDC ambalažu, dok do redukcije nije došlo ukoliko je uzorak bio pakiran u PPmet/PE ambalažu.
- Porast temperature djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla je veći što je udaljenost uzorka od izvora svjetla manja te što je dulje vrijeme tretiranja.
- Vizualne promjene nastale djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla pri istim parametrima su izraženije na PPmet/PE ambalaži.
- Djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla nije došlo do promjene barijernih svojstava PP/Ac/PVDC i PPmet/PE ambalaže.
- PP/Ac/PVDC i PPmet/PE ambalaža su prikladne za pakiranje prehrambenih proizvoda koji će se tretirati pulsirajućim UV svjetlom.

6. Literatura

Abdelazez A., Abdelmotaal H., Zhu Z., Fang-Fang J., Sami R., Zhang L., Rahman Al-Tawaha A., Meng X. (2018) Potential benefits of *Lactobacillus plantarum* as probiotic and its advantages in human health and industrial applications: A review, *Advances in Environmental Biology*, str. 16-27

Abida J., Rayees B., Masoodi F. A. (2014) Pulsed light technology: a novel method for food preservation, *International Food Research Journal*, 21 (3), str. 839-848

Allahvaisi S. (2012) Chapter 1: Polypropylene in the Industry of Food Packaging, Polypropylene in the Industry, izd. 1, str. 5-6

Arboleya J. C., Artiguez M. L., Fernández E., Martínez-de-Marañón I. (2011) Method for improving functional properties by means of pulsed light, samples with improved functional properties and uses thereof, patent number WO 2011/113968 A1

Balköse D., Oguz K., Ozyuzer L., Tari S., Arkis E., Omurlu F. O. (2010) Morphology, order, light transmittance, and water vapor permeability of aluminum-coated polypropylene zeolite composite films, *Journal of applied polymer science*, vol. 120, izd. 3, str. 1671-1678

Bhavya M. L., Umesh Hebbar H. (2017) Pulsed light processing of foods for microbial safety, *Food Quality and Safety*, vol. 1, izd. 3, rujan 2017, str. 187–202

Chauhan O. P. (2019) Non-thermal Processing of Foods, 1. izd., str. 408

Choi Y. S., Suh H. S., Yoon M. Y., Min S. U., Lee D. H., Suh D. H. (2010) Intense pulsed light vs. pulsed-dye laser in the treatment of facial acne: a randomized split-face trial, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 24, str. 773-780

Fernandez M., Hospital X. F., Arias K., Hierro E. (2016) Application of Pulsed Light to Sliced Cheese: Effect on *Listeria* Inactivation, Sensory Quality and Volatile Profile, *Food and Bioprocess Technology*, vol. 9, str. 1335-1344

Fernandez M., Manzano S., De la Hoz L., Ordóñez J. A., Hierro E. (2009) Pulsed Light Inactivation of *Listeria monocytogenes* Through Different Plastic Films

Gill P., Moghadam T. T., Ranjbar B. (2010) Differential Scanning Calorimetry Techniques: Applications in Biology and Nanoscience, *Journal of biomolecular techniques : JBT*, 21(4), str. 167–193

Gómez P. L., Salvatori D. M., García-Loredo A., Alzamora S. M. (2011) Pulsed Light Treatment of Cut Apple: Dose Effect on Color, Structure, and Microbiological Stability, *Food and Bioprocess Technology*, vol. 5, str. 2311–2322

Gupta P. K., Vora G. K., Matossian C., Kim M., Stinnett S. (2016) Outcomes of intense pulsed light therapy for treatment of evaporative dry eye disease, *Canadian Journal of Ophthalmology*, vol. 51, izd. 4

Heinrich V., Zunabovic M., Varzakas T., Bergmair J., Kneifel W. (2016) Pulsed Light Treatment of Different Food Types with a Special Focus on Meat: A Critical Review

Höhne G., Hemminger W. F., Flammersheim H. J. (2013) Differential Scanning Calorimetry, 2. izd. Springer, str. 1-7

Huang Y., Sido R., Huang R., Chen H. (2015) Application of water-assisted pulsed light treatment to decontaminate raspberries and blueberries from Salmonella, *International Journal of Food Microbiology*, vol. 208, str. 43-50

ISO 21348:2007, Space environment (natural and artificial) — Process for determining solar irradiances

Kant R., Blom J., Palva A., Siezen R. J., de Vos W. M. (2011) Comparative genomics of *Lactobacillus*, *Microbial Biotechnology*, 4, str. 323-332

Kassir R., Kolluru A., Kassir M. (2011) Intense pulsed light for the treatment of Rosacea and Telangiectasias, *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, vol. 13, 5 izd.

Keklik N. M. (2009) Decontamination of poultry products by pulsed UV light

Keklik N.M., Demirci A., Puri V. M. (2009) Inactivation of *Listeria monocytogenes* on Unpackaged and Vacuum-Packaged Chicken Frankfurters Using Pulsed UV-Light, *Journal of Food Science*, vol. 74, izd. 8, str. 431-439

Koerner G. R., Koerner R. M. (2018) Polymeric Geomembrane Components in Landfill Liners, Solid Waste Landfilling: Concepts, Processes, Technology, str. 313-341

Li S., Zhao Y., Zhang L., Zhang X., Huang L., Li D., Niu C., Yang Z., Wang Q. (2012) Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented food, *Food Chemistry*, vol. 135, izd. 3, str. 1914-1919

Lovrić T. (2003) Procesi u prehrambenoj industriji s osnovama prehrambenog inženjerstva, 1. izd., str. 268.

Luo W., Chen A., Chen M., Dong W., Hou X. (2014) Comparison of sterilization efficiency of pulsed and continuous UV light using tunable frequency UV system, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol. 26, str. 220-225

Mahendran R., Ratish Ramanan K., Barba F. J., Lorenzo J. M., Lopez-Fernandez O., Munekata P. E. S., Roohinejad S., Sant'Ana A. S., Tiwari B. K. (2019) Recent advances in the application of pulsed light processing for improving food safety and increasing shelf life, *Trends in Food Science & Technology*, vol. 88, str. 67-79

Nicorescu I., Nguyen B., Moreau-Ferret M., Agoulon A., Chevalier S., Orange N. (2013) Pulsed light inactivation of *Bacillus subtilis* vegetative cells in suspensions and spices, *Food Control*, 31, str. 151-157

Oms-Oliu G., Martin-Belloso O., Soliva-Fortuny R. (2010) Pulsed Light Treatments for Food Preservation. A Review, *Food and Bioprocess Technology*, 3

Parker N., Schneegurt M., Thi Tu A., Lister P., Forster B. M. (2016) Microbiology, 1. izd., 9.1 How Microbes Grow, <<https://openstax.org/books/microbiology/pages/9-1-how-microbes-grow>> Pristupljeno 6. travnja 2020.

Proulx J., Hsu L. C., Miller B. M., Sullivan G., Paradis K., Moraru C. I. (2015) Pulsed-light inactivation of pathogenic and spoilage bacteria on cheese surface, *Journal of Dairy Science*, vol. 98, 9. izd., str. 5890-5898f

Rajkovic A., Tomasevic I., De Meulenaer B., Devlieghere F. (2017) The effect of pulsed UV light on *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin A on sliced fermented salami and its chemical quality, *Food Control*, vol. 73, str. 829-837

Ramos C. L., Thorsen L., Freitas Schwan R., Jespersen L. (2013) Strain-specific probiotics properties of *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus brevis* isolates from Brazilian food products, *Food Microbiology*, vol. 36, 1 izd., str. 22-29

Ramos-Villarreal A., Maftai N., Martin-Belloso O., Soliva-Fortuny R. (2012) The role of pulsed light spectral distribution in the inactivation of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* on fresh-cut mushrooms, *Food Control*, 24, str. 206-213

Ringus D. L., Moraru C. I. (2013) Pulsed Light inactivation of *Listeria innocua* on food packaging materials of different surface roughness and reflectivity

Robertson G. L. (2012) *Food Packaging: Principles and Practice*, 3. izd., str. 2-8

Salvetti E., Torriani S., Felis G. E. (2012) The Genus *Lactobacillus*: A Taxonomic Update, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4, str. 217-226

Song K., Mohseni M., Taghipour F. (2016) Application of ultraviolet light-emitting diodes (UV-LEDs) for water disinfection: A review, *Water research*, vol. 94, str. 341-349

Stipanelov Vrandečić, N. (2017) *Ambalaža*, Kemijsko tehnološki fakultet, Split

Šćetar M. (2014) Utjecaj ultrazvuka visoke snage na fizikalno-kemijske karakteristike barijernih filmova za pakiranje hrane (Doktorska disertacija), Prehrambeno biotehnološki fakultet u Zagrebu, Zagreb

Šćetar M., Kurek M., Režek Jambrak A., Debeaufort F., Galić K. (2017) Influence of high power ultrasound on physical-chemical properties of polypropylene films aimed for food packaging: Barrier and contact angle features, *Polymer International*, vol. 66, izd. 11, str. 1572-1578

Tolinski M. (2015) Additives for polyolefins: getting the most out of polypropylene, polyethylene and TPO, 2. izd., Elsevier, str. 32-34

Uslu G., Demirci A., Regan J. M. (2016) Disinfection of synthetic and real municipal wastewater effluent by flow-through pulsed UV-light treatment system, *Journal of Water Process Engineering*, vol. 10, str. 89-97

Verma C., Prajapati P. (2016) Emerging non thermal techniques of minimal processing of food, *International Journal of Research in Medical and Basic Sciences*, vol. 2, 4 izd.

Wat H., Wu D., Rao J., Goldman M. (2014) Application of Intense Pulsed Light in the Treatment of Dermatologic Disease: A Systematic Review

Yousif E., Haddad R. (2013) Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review

Yu Z., Zhang X., Li S., Li C., Li D., Yang Z. (2012) Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Chinese sauerkraut, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, vol. 29, str. 489–498

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Maristela Gavran

Maristela Gavran