

# Primjena pulsirajućeg UV svjetla u inaktivaciji kvasca *Saccharomyces cerevisiae*

---

Ivanešić, Luka

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:159:081317>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-21**



*Repository / Repozitorij:*

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



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij prehrambena tehnologija**

**Luka Ivanešić**

**7513/PT**

**Primjena pulsirajućeg UV svjetla u inaktivaciji kvasca *Saccharomyces cerevisiae***

**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 prehrambeno-procesno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

**Primjena pulsirajućeg UV svjetla u inaktivaciji kvasca *Saccharomyces cerevisiae***

**Luka Ivanešić, 00582114945**

### Sažetak:

Danas je u svijetu sve veća potreba za produljenjem roka zdravstvene ispravnosti prehrambenih proizvoda uz primjenu što brže i jednostavnije tehnologije i što manjeg utjecaja na nutritivni sastav zapakiranog proizvoda. Zato se sve više počinju istraživati netoplinke tehnike obrade proizvoda poput tretmana pulsirajućim UV svjetlom kod kojeg ne dolazi do značajnog razvoja topline tijekom tretmana uz pritom vrlo dobru inaktivaciju mikroorganizama. Zato je cilj ovog rada bio dokazati uspješnost tretmana pulsirajućim UV svjetlom za inaktivaciju kvasca *Saccharomyces cerevisiae* u dvije različite ambalaže uz promjenjive parametre vremena trajanja tretmana i udaljenosti uzorka od izvora zračenja.

Rezultati istraživanja pokazali su najveću uspješnost u inaktivaciji kvasca nakon tretmana u ambalaži PP/Ac/PVDC koja je karakteristična po svojoj propusnosti za elektromagnetsko zračenje te je dobivena 100%-tna decimalna redukcija kvasca. Kod tretmana u ambalaži PPmet/PE, koju karakterizira neprozirnost i time nepropusnost na elektromagnetsko zračenje, nije bilo decimalne redukcije kvasca te se kao takva pokazala neprimjerenom za tretman pulsirajućim UV svjetlom.

**Ključne riječi:** kvasac *Saccharomyces cerevisiae*, ambalaža, pulsirajuće UV svjetlo

**Rad sadrži:** 27 stranica, 6 slika, 7 tablica, 40 literaturnih navoda, 0 priloga

**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:** Mia Ivanov, mag. ing.

**Datum obrane:**

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

**University of Zagreb**  
**Faculty of Food Technology and Biotechnology**  
**University undergraduate study Food Technology**

**Departement of Food Engineering**  
**Laboratory for Food Processes Engineering**

**Scientific area: Biotechnical Sciences**  
**Scientific field: Food Technology**

**Application of pulsed UV light for inactivation of *Saccharomyces cerevisiae* yeast**

**Luka Ivanešić, 00582114945**

**Abstract:** Today, there is a growing need to extend the shelf life of food products with the application of the faster and simpler technology with the minimum impact on the nutritional composition of the packaged product. Therefore, non-thermal techniques of product processing, such as treatment with pulsed UV light, in which there is no significant development of heat during the treatment with very good inactivation of microorganisms, are increasingly being researched. The aim of this study was to prove the success of treatment with pulsed UV light in inactivation of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* in two different packages with variable parameters of treatment being duration and distance of the sample from the radiation source. The results of the research showed the greatest success in yeast inactivation after treatment in PP/Ac/PVDC packaging, which is characterized by its permeability to electromagnetic radiation, and a 100% decimal reduction of yeast was obtained. In the treatment in PPmet/PE packaging, which is characterized by opacity and thus impermeability to electromagnetic radiation, there was no decimal reduction of yeast and as such is unsuitable for treatment with pulsed UV light.

**Keywords:** yeast *Saccharomyces cerevisiae*, packaging, pulsed UV light

**Thesis contains:** 27 pages, 6 figures, 7 tables, 40 references, 0 supplements

**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:** Mia Ivanov, MSc

**Defence date:**

## SADRŽAJ

|   |    |
|---|----|
| 1. UVOD .....   | 1  |
| 2. TEORIJSKI DIO.....   | 2  |
| 2.1. UV svjetlo .....   | 2  |
| 2.1.1. Nastanak pulsa .....   | 2  |
| 2.2. MIKROORGANIZAM <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....   | 3  |
| 2.3. AMBALAŽNI MATERIJAL.....   | 5  |
| 2.3.1. Ambalažni materijal PP/Ac/PVDC.....  | 5  |
| 2.3.2. Ambalažni materijal PPmet/PE .....   | 6  |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO.....   | 8  |
| 3.1. MATERIJALI .....   | 8  |
| 3.1.1. Mikroorganizam .....   | 8  |
| 3.1.2. Uređaji .....  | 8  |
| 3.2. METODE.....  | 8  |
| 3.2.1. Priprema mikroorganizma <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .....                                    | 8  |
| 3.2.2. Određivanje temperature.....   | 9  |
| 3.2.3. DSC analiza uzorka .....   | 9  |
| 3.2.4. Određivanje izgleda ambalaže .....   | 9  |
| 3.2.5. Provođenje eksperimenta .....  | 10 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA.....  | 12 |
| 4.1. Utjecaj tretmana pulsirajućim UV svjetlom na promjenu broja mikroorganizama i izgled ambalaže..... | 12 |
| 4.2. DSC analiza ambalaže .....   | 19 |
| 5. ZAKLJUČAK.....   | 24 |
| 6. LITERATURA .....   | 25 |

# 1. UVOD

U novije vrijeme sve je veća potreba za primjenom inovativnih tehnologija koje omogućuju proizvodnju zdravstveno ispravnih proizvoda, a da se pritom ne narušava njihova nutritivna vrijednost. Zato je sve češća primjena netoplinskih tehnika koje umanjuju negativan toplinski učinak na nutritivni sastav namirnica. Zbog velike otpornosti nekih mikroorganizama kao što su *Cryptosporidium* i *Giardia* traže se nove metode koje zahtijevaju minimalno korištenje kemikalija te su ekološki prihvatljive. Pri korištenju dezinfekcijskih sredstava dolazi do stvaranja potencijalno toksičnih nusprodukata koji su kao takvi nepoželjni u kontaktu s hranom. Ti nedostaci doveli su do napretka u razvoju novih antimikrobnih tehnologija poput UV tretmana (Sharifi-Yazdi i Darghahi, 2006). Ultraljubičasto (UV) zračenje je vrsta elektromagnetskog zračenja čije se područje valnih duljina kreće između 10 i 400 nm. U istraživanjima je najveću učinkovitost i efektivnost u inaktivaciji mikroorganizama pokazao UV-C spektar svjetla, a posebno pri valnoj duljini 260 do 265 nm (Gayán i sur., 2014). Korištenjem pulsirajućeg UV svjetla na zapakirane namirnice moguće je dobiti decimalnu redukciju mikroorganizma u iznosu do 100% (Wekhof i sur., 2001).

Visoka učinkovitost sterilizacije posljedica je ciljanog i momentalnog pregrijavanja koji uništava mikroorganizme (Wekhof i sur., 2001), a produljenjem vremena tretmana kojim djelujemo na mikroorganizme povećavamo efikasnost tretmana (Krishnamurthy i sur., 2004). Dezinfekcijski mehanizam pulsirajućeg svjetla kao i sposobnost inaktivacije staničnih mikroorganizama i virusa UV svjetlom je dobro poznata (Fine i Gervais, 2004). Do sada je ova tehnologija bila ograničena i korištena u farmaciji, održavanju čistoće i kvalitete vode te u medicini, a u novije vrijeme je pokazala velik potencijal za sterilizaciju pakirane hrane ili pakiranih medicinskih otopina (Wekhof, 2000).

Cilj ovog rada bio je ispitivanje inaktivacijskog učinka tretmana pulsirajućeg UV svjetla na čistu kulturu mikroorganizma *Saccharomyces cerevisiae* upakiranog u dvije vrste ambalaže PP/Ac/PVDC i PPmet/PE. S obzirom na vrstu ambalaže i njezina svojstva pratili smo izgled, fizička oštećenja i temperaturu ambalaže te promjene u broju mikroorganizma i kemijskom sastavu ambalaže prije i nakon tretmana UV svjetlom.

## 2. TEORIJSKI DIO

### 2.1. UV svjetlo

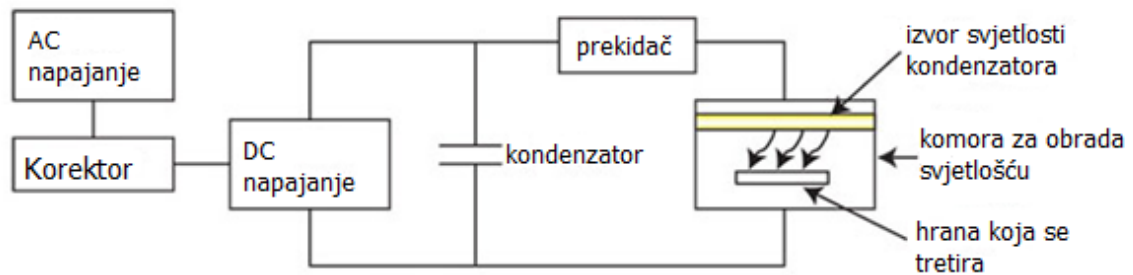
Ultraljubičasto zračenje (ultraljubičasta svjetlost; UV prema *engl. ultraviolet*) je elektromagnetsko zračenje čije se valne duljine kreću između 10 i 400 nm. Najpoznatiji izvor takvog elektromagnetskog zračenja je Sunce, dok se takva vrsta zračenja također može stvoriti na Zemlji umjetnim putem najčešće pomoću električnog luka (Krishnamurthy i sur., 2004). Prema valnoj duljini UV svjetlost možemo podijeliti na 3 područja koja imaju značajan utjecaj na ljude i njihovu okolinu, to su UV-A, UV-B i UV-C područje. UV-A područje ili dugovalno područje karakterizirano valnim duljinama od 320 do 400 nm, UV-B ili srednjevalno područje karakterizirano valnim duljinama od 280 do 320 nm, dok je UV-C ili kratkovalno područje karakterizirano valnim duljinama u rasponu od 200 do 280 nm (Gayán i sur., 2014). Učinak UV svjetla na genetički materijal mikroorganizma se smatra glavnim razlogom za mikrobnu inaktivaciju iako se UV svjetlom mogu oštetiti i drugi dijelovi stanice poput proteina. UV-C područje se smatra najletalnijim za mikroorganizme, osobito pri valnoj duljini između 260 i 265 nm, jer pri toj valnoj duljini zračenje korelira s maksimalnom mogućnosti apsorpcije DNA mikroorganizma (Kowalski, 2009). Istraživanja su pokazala da purinske i pirimidinske baze u nukleinskim kiselinama najviše vežu UV zračenje u svoju strukturu pri čemu se uništavaju kovalentne veze i dolazi do smrti stanice (Anderson i sur., 2000; Gayán i sur., 2014).

Pulsirajuće UV svjetlo je novija metoda koja nam omogućava da u kratkom vremenskom periodu inaktiviramo mikroorganizme predajući im energiju koja se apsorbira na visoko-konjugirane veze u proteinima i aminokiselinama pri čemu se narušava stanični metabolizam (Takeshita i sur., 2003). Djelovanje pulsirajućeg UV svjetla zasniva se na kratkotrajnim pulsevima svjetla jakog intenziteta širokog spektra te se to područje kreće od ultravioletnog do bližeg infracrvenog područja (Lelas, 2006).

#### 2.1.1. Nastanak pulsa

Pulsirajuće svjetlo se dobiva akumuliranjem električne energije koja dolazi iz gradske mreže. Izvor gradske mreže mora zadovoljavati potrebe uređaja u iznosu su od 200 do 240 VAC, monofazna, 50/60 Hz i 30A nominalno. Akumuliranje električne energije se događa u dijelu uređaja koji se naziva kondenzator (slika 1.) (Krishnamurthy i sur., 2004). Energija se akumulira u kratkim djelićima sekunde te se zatim otpušta u mnogo kraćem vremenu što se odražava na povećanje snage. Svjetlo nastaje u kratkim pulsevima visokog intenziteta koji su

oko 20 000 puta jači od sunčeve svjetlosti, a traju nekoliko stotina mikrosekundi (Lelas, 2006). Količina energije svjetlosti koja pada na namirnicu izražavamo u  $J/cm^2$ . U istraživanju koje su proveli Wekhof i suradnici (2001) pokazalo se kako djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla točnije UV-C svjetla na mikroorganizme *A. Niger* i *B. Subtilis* potrebna energija za njihovu inaktivaciju varira između 0,5 i 1,5  $J/cm^2$ .



Slika 1. Shematski prikaz uređaja za obradu pulsirajućim svjetlom

Letalni učinak svjetlosnih pulseva ovisi o valnoj dužini. Za obradu prehrambenih proizvoda najčešće se koriste čitavi spektri ili samo određeno valno područje, a svjetlosni pulsevi induciraju fotokemijske i fototermičke reakcije (Chen i sur., 2015; Hierro i sur., 2009). Svjetlo bogato UV zrakama izaziva fotokemijske promjene, dok ono vidljivog i infracrvenog područja uzrokuje toplinske promjene (Wambura i Verghese, 2011). Velika količina energije dolazi velikom brzinom na površinu namirnice djelujući na tanki površinski sloj povisujući temperaturu koja uništava stanice mikroorganizama (Lelas, 2006).

## 2.2. MIKROORGANIZAM *Saccharomyces cerevisiae*

Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* jednostanični je eukariot koji pripada carstvu Fungi i razredu Ascomycetes. Nevidljiv je golim okom te je karakterističnog okruglastog ili ovalnog oblika. Kvasac se najbrže razmnožava pri temperaturama od 20-35°C, dok su za potrebe industrije ti uvjeti specifičniji i kreću se između 28-33°C (Waters i sur., 2009). Tijekom uzgoja kvasca vrlo bitnu ulogu ima i pH otopine u kojoj se uzgaja te je za uzgoj kvasca najpogodnija pH vrijednost oko izoelektrične točke 6,0-7,0 (Grba, 2010).

Njegova sposobnost visoke fermentacijske aktivnosti i dobrog podnošenja različitih ekstremnih uvjeta okoline koji su prisutni u industrijskim pogonima, dovela je do selekcije nekoliko sojeva



kvasca s određenim specifikacijama (Herskowitz, 1988). Modifikacije sojeva kvasaca su napredovale do razine gdje mikroorganizam može koristiti i druge vrste šećera kao što su pentoze primjerice ksilozu. Iako je konzumacija ksiloze manja od glukoze pokazuje mogućnost većeg iskorištenja različitih vrsta šećera s ciljem dobivanja alkohola etanola (Almeida i sur., 2011). Razlikujemo više vrsta kvasaca i s obzirom na vrstu kvasci se mogu koristiti u različitim dijelovima prehrambene industrije kao što su pekarska industrija, industrija pive i vina te žestokih alkoholnih pića (Grba, 2010).

Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* je eukariotska stanica koja se sastoji od niza unutrašnjih membrana i struktura koje nazivamo organeli i citoskelet (Duina i sur., 2014). Citoskelet se sastoji od mikrotubula i ima vrlo važnu ulogu u održavanju oblika stranice te povećanja čvrstoće i otpornosti stanice prema unutarstaničnom tlaku koji iznosi oko 10 bara (Ecker i sur., 2006). Izgradnja stanične stijenke je reguliran proces koji ovisi o napredovanju staničnog ciklusa stanice (Klis i sur., 2006). Proteini u staničnoj stijenci reguliraju rad stijenke ovisno o okolišnim uvjetima. U nepovoljnim uvjetima ili prilikom oštećenja stijenke enzimi u staničnoj stijenci započinju sintezu hitina koji ima ulogu u zaštiti i obnovi stijenke (Teparić i sur., 2010).

UV svjetlo djeluje fotokemijski na proteine kao i na DNA te najveća apsorpcija UV zračenja od strane proteina kreće se u rasponu od 240 nm do 280 nm (Kowalski, 2009). Jezgra eukariotskih stanica okružena je dvostrukom membranom sa porama koje omogućuju prolazak materijala. Pored membrane nalazi se složeni cjevasti sustav koji se naziva endoplazmatski retikulum čija je uloga prijenos i dozrijevanje proteina. Endoplazmatski retikulum sastoji se od hrapavog ili grubog dijela koji sadrži ribosome u svojoj strukturi te ima ulogu u sintezi proteina, dok glatki ne sadrži ribosome i ima ulogu u sintezi lipida. Tvornicu energije u eukariotskim stanicama čine mitohondriji. Mitohondriji su organele koje se nalaze u gotovo svim eukariotskim stanicama i obavijeni su dvostrukom membranom. U mitohondriju se odvija jedan od najvažnijih ciklusa u radu stanice, a to je ciklus limunske kiseline ili Krebsov ciklus kao i sinteza adenozin trifosfata elektronskim transportom i oksidativnom fosforilacijom (Pagano, 1990). Djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla na stanicu kvasca dolazi do oštećivanja genetskog materijala stanice te do koaguliranja i raspadanja proteina. Najviše utjecaja na raspad i oštećenje genetskog materijala imaju pirimidini (timin i citozin) koji su jako fotoreaktivni dušični prstenovi za razliku od purina (adenin i gvanin). UV svjetlo djeluje na molekule timina u DNA te dovodi do stvaranja timin dimera koji dovodi do inaktivacije stanice i nemogućnosti razmnožavanja (Kowalski, 2009.). U prosjeku 80% pirimidina i 45% purina stvaraju UV fotoprodukte što pokazuje fotosenzibilnost pirimidina (Becker i Wang, 1989).

## 2.3. AMBALAŽNI MATERIJAL

Ambalaža je laički rečeno bilo kakav materijal koji okružuje neku namirnicu, štiti je od kvarenja, produžuje rok trajanja same namirnice, čuva kvalitetu proizvoda i inertan je (Turtoi & Nicolau, 2007). Najveći razvoj ambalaže dogodio se u vrijeme industrijske revolucije kada su otkriveni različiti novi materijali kao što su aluminij i aluminijske posudice, posudice od valovitog kartona, celofan, polistiren i dr. (Vujković i sur., 2007). Takvi novi materijali povećali su kvalitetu očuvanja proizvoda i zadržavanje nutritivnih svojstava namirnice. U današnje se vrijeme zbog ekonomskih i tehničkih razloga namirnice najčešće pakiraju u nepovratnu ambalažu (Vujković i sur., 2007).

### 2.3.1. Ambalažni materijal PP/Ac/PVDC

PP/Ac/PVDC je kopolimerna ambalaža koja se sastoji od polipropilena, acetilnog sloja i poliviniliden-klorida. Polipropilen ili PP je plastomer linearnih makromolekula. Dobiva se koordiniranom polimerizacijom propilena uz prisutnost odgovarajućeg katalizatora. Tijekom same polimerizacije dolazi do rasta ugljikovodičnog lanca ugradnjom monomernih jedinica između rastućeg lanca i katalizatora. Za polimerizaciju se najčešće koriste Ziegler-Natta katalizatori i u samoj proizvodnji postoje različiti postupci dobivanja polimera sa promjenjivim tehničkim izvedbama kao što su promjenjivi katalizatori, u sredini u kojoj se odvija polimerizacija, načinu kontrole molekulske mase i načinu uklanjanja ataktičkog polimera. Polimerizacija se može odvijati u samoj suspenziji, u plinovitoj fazi, u masi i u otapalu. Svi ti postupci se mogu primijeniti i u kopolimerizaciji gdje se najčešće koristi polimerizacija u suspenziji koja se odvija na temperaturama između 45°C i 85°C i tlaku do 2 Mpa. Polipropilen je najlakši među plastičnim polimerima gustoće 0.905 g/cm<sup>3</sup>. Zbog velike kristalnosti posjeduje veliku rasteznu čvrstoću i krutost. Ima izrazito visoku točku tališta pa se takav materijal može pasterizirati i sterilizirati zadržavajući visokoj rasteznoj čvrstoći. Polipropilen posjeduje izvanredna električna svojstva, kemijski je inertan, otporan na vlagu i mikronapukline, nije stabilan na toplinu, elektromagnetska zračenja i kisik te se mora stabilizirati dodatkom antioksidanasa i apsorbera UV zraka (Vujković i sur., 2007). Osim dodataka ostalih polimera kao što su poliviniliden-klorid ili etilvinil-alkohola s ciljem povećanje kvalitete materijala i smanjenjem propusnosti na kisik i vodenu paru može se i koristiti protein zein iz kukuruza (Doğan Atik i sur., 2008). U radu španjolskih znanstvenika pokazalo se da djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla na površine PE ambalaže dolazi do značajno velike ili potpune redukcije mikroorganizama što odgovara navedenim karakteristikama ambalaže da je propusna za elektromagnetsko zračenje (Pedrós-Garrido i sur.,2018). Poliviniliden-klorid ili PVDC je polimer

nastao homopolimerizacijom i kopolimerizacijom te često ulazi u sastav s drugim polimerima. U krutom stanju lanci makromolekula su gusto složeni u polimeru i zbog toga sam PVDC ima izrazito visok stupanj kristalnosti 75%. Zbog visokog stupanja kristalizacije materijal ima vrlo malu propusnost na plinove i vodenu paru. Zbog takvih svojstava izrazito se ističe od ostalih polimera i najčešće se koristi kao kopolimer. Kopolimeri PVDC imaju bolja svojstva nego homopolimeri jer im je temperatura tališta niža i olakšava se prerada takvog materijala. Proizvodnja PVDC se odvija prema mehanizmu slobodnih radikala u emulziji ili suspenziji. Posude za proizvodnju moraju biti izrađene od nehrđajućeg čelika jer PVDC je izrazito korozivan i agresivan pri povišenim temperaturama zbog velikog udjela klora. Postupak je diskontinuiran i provodi se na temperaturama od 30°C ili kontinuiran i ne prelazi 80°C. Zbog izraženo dobrih barijernih svojstava na plinove i vodenu paru te otpornosti na djelovanje masti i ulja i izraženu fleksibilnost, takav se materijal najčešće koristi za pakiranje prehrambenih proizvoda. Zadnja komponenta ambalaže čine celulozni derivati. Među najčešćim derivatima ubrajamo acetilpropil celulozu i acetilbutil celulozu skraćeno Ac, dok u ovu skupinu također spada i etil-celuloza ili EC. Ac derivati se najčešće koriste u proizvodnji polimernih materijala, filmova i lakova (Vujković i sur., 2007). Celulozni derivati jako ovise od vlastitom vodenom sastavu te o vlažnosti okoline u kojoj se nalaze (Slavutsky i Bertuzzi, 2014). Veliki utjecaj tretmana u inaktivaciji mikroorganizma ima debljina sloja ambalaže. Povećanjem sloja ambalaže smanjuje se učinkovitost tretmana (Ha i sur., 2016).

### 2.3.2. Ambalažni materijal PPmet/PE

Ovaj ambalažni materijal sadrži metalizirani polipropilen. Originalni polipropilen je jedan od najlakših polimera i zbog velike kristalnosti ima svojstvo velike rastezne čvrstoće i krutosti materijala. Postupkom metalizacije takvog polimera dobivamo drugačija svojstva samog materijala. Metalizacija je postupak u kojem se na površinu polimernog filma nanose metali u tankom sloju s ciljem poboljšanja barijernih svojstava same ambalaže (Vujković i sur., 2007). Zbog metalizacije smanjuje se propusnost ultravioletnog i vidljivog elektromagnetskog spektra za više od 90%, a dobiveni materijal je jednake propusnosti na plinove i vodenu paru (Boudenne i sur., 2005). Za izradu takve ambalaže najčešće se koristi postupak vakuumske metalizacije odnosno podtlačno metaliziranje gdje se pod sniženim tlakom film prelazi preko bubnja za hlađenje gdje se kondenziraju pare aluminijske ili nekog drugog metala koje sublimiraju iz same kupke. Takav film se namotava uređajem i nakon završenog ciklusa otvara se vakuumska komora i vadi namotaj metaliziranog filma. U sastavu ove ambalaže nalazimo i

polietilen ili PE. Polietilen je jedna od najjednostavnijih makromolekula ugljikovodičnog lanca i spada u skupinu najvažnijih i najpoznatijih polimera u današnje vrijeme. U industriji se proizvodi polimerizacijom etilena i sastoji se od mnogo istih jedinica koje su međusobno povezane u veliku lančastu strukturu. Sva svojstva polietilena ovise o njegovoj strukturi, uvjetima polimerizacije i dodacima. PE ne mora nužno biti linearna molekula, već se neki vodikovi atomi u lancu mogu zamijeniti s kraćim ili duljim ugljikovodičnim lancima. Takvo grananje molekula može uzrokovati smanjenje stupnja kristalnosti same molekule, što dovodi do stvaranja molekula različitih fizičkih svojstava (Lagaron i sur., 2004).

Pokazalo se da ambalaža u tretmanu pulsirajućim UV svjetlom ima veliki utjecaj na smanjenje efektivnosti i učinkovitosti istog te ovisno o sastavu ambalaže ima veći ili manji utjecaj (Haughton i sur., 2011).

## 3. EKSPERIMENTALNI DIO

### 3.1. MATERIJALI

#### 3.1.1. Mikroorganizam

U ovom radu korišten je kvasac *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 204508, dobiven iz Laboratorija za opću mikrobiologiju i mikrobiologiju namirnica, Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

#### 3.1.2. Uređaji

Pri izradi eksperimentalnog dijela ovog rada korišteni su sljedeći uređaji:

- Uređaj za pulsirajuće UV svjetlo (Xenon Model Z-1000 Pulsed Light System, Wilmington, MA 01887 USA)
- infracrveni mjerač temperature InfraRed Thermometer, PCE-777, PCE Instruments, USA
- DSC uređaj ( Netzsch DSC 214 Polyma, Njemačka)
- centrifuga (Tehtnica Centric 150, Slovenija)
- inkubator (Benchmark, My TEMP Mini Digital incubators, Kina)
- lemilica za pripremu ambalaže (Audion Elektro, Type 421 SK-2, Nizozemska)

### 3.2. METODE

#### 3.2.1. Priprema mikroorganizma *Saccharomyces cerevisiae*

Volumen od 10  $\mu$ L mikroorganizma se nacjepljuje u 10 mL prethodno sterilizirane tekuće podloge Malt ekstrakta te se kvasac smješta 24 sata na 32°C u inkubator (Benchmark, My TEMP Mini Digital incubators, Kina). Nakon inkubacije uzorak se dvostruko pročišćava i centrifugira 10 minuta na 1000 okretaja. Pročišćavanje se provodi nakon svake centrifuge na način da se gornji tekući dio odlijeva i dodaje 10 mL sterilne destilirane vode. Nakon zadnje centrifuge uzorak se homogenizira te se uzima 10  $\mu$ L uzorka koji se koristi za pripremu razrjeđenja u rasponu od  $10^{-1}$  do  $10^{-6}$  koja se nacjepljuju na krutu hranjivu podlogu Malt ekstrakt agar i koriste za dokazivanje prisutnosti mikroorganizama prije i nakon tretmana.

Ostatak homogeniziranog uzorka se odlijeva u ambalažu i zatvara u sterilnim uvjetima te se tretira pulsirajućim UV svjetlom.

### 3.2.2. Određivanje temperature

Digitalnim infracrvenim termometrom određivana je temperatura svih zapakiranih uzoraka prije i poslije tretmana. Mjerenje se provodi direktnim pozicioniranjem uređaja iznad uzorka te očitanjem temperature na zaslonu uređaja.

### 3.2.3. DSC analiza uzorka

Diferencijalna skenirajuća kalorimetrija je tehnika kod koje se prikazuje ovisnost toplinskih efekata i temperature. Toplinska svojstva polimernog materijala su prije i nakon tretmana ispitana na Diferencijalnom motridbenom kalorimetru DSC 214 *Polyma* u atmosferi dušika protoka  $60 \text{ ml min}^{-1}$ . DSC analiza provedena je prema metodi opisanom u radu Kljusurić J. G. (2003). Polimerni materijal je usitnjen i stavljen u aluminijske posudice te je posudica zatvorena aluminijskim poklopcem. Prosječna masa uzorka u posudicama je bila do 10 mg. Nakon smještaja u uređaj uzorci su zagrijavani u intervalu od  $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$  do  $200 \text{ }^{\circ}\text{C}$  te zatim do  $340 \text{ }^{\circ}\text{C}$  uz brzinu zagrijavanja od  $10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ . Postignuta temperatura  $340 \text{ }^{\circ}\text{C}$  zadržavana se 10 minuta, te se potom uzorci hlade do početne temperature brzinom hlađenja  $-10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ .

### 3.2.4. Određivanje izgleda ambalaže

Određivanje izgleda ambalaže se provodi tijekom eksperimenta praćenjem izgleda ambalaže prije i poslije tretmana pulsirajućim UV svjetlom. Tijekom tretmana dolazi do zagrijavanja ambalaže te se mogu javiti velika oštećenja i uzrokovati uništavanje uzorka.

Parametri izgleda su sljedeći:

- bez oštećenja - ambalaža kojoj se izgled nije promijenio, nema diskoloracije
- sa oštećenjem - ambalaža kojoj se izgled jako promijenio, velika oštećenja ambalaže te promjene u boji ambalaže

Slika 3. prikazuje primjer oštećene ambalaže PP/Ac/PVDC nakon tretmana pulsirajućim UV svjetlom kod uzorka PPac3-15.

Slika 4. prikazuje primjer oštećene ambalaže PPmet/PE nakon tretmana pulsirajućim UV svjetlom kod uzorka PPmet7-60.



Slika 3. Primjer oštećene PPmet/PE ambalaže nakon tretmana udaljenost=4,65 cm i vrijeme=15 sec (vlastita slika)



Slika 4. Primjer oštećene PP/Ac/PVDC ambalaže nakon tretmana udaljenost= 9,75 cm i vrijeme=60 sec (vlastita slika)

### 3.2.5. Provođenje eksperimenta

Pripremljeni uzorak kulture mikroorganizma *Saccharomyces cerevisiae* volumena 10 mL u sterilnim je uvjetima napunjen u polimernu ambalažu dimenzija 4x8 cm u obliku paketića. Formirana ambalaža s uzorkom se stavlja u uređaj za pulsirajuće UV svjetlo te se tretira prema dva varijabilna parametra. Definirani parametri eksperimentalnog rada prikazani su u tablici 1. Jačina tretmana pulsirajućim UV svjetlom proporcionalna je manjoj udaljenosti od izvora

zračenja te produljenjem vremena tretmana. Pri manjim udaljenostima potrebno je koristiti tretmane kraćeg vremenskog trajanja inače će doći do velikih oštećenja ambalaže i termalnog raspada uzorka.

Tablica 1. Prikaz definiranih parametara eksperimentalnog rada za uzorak od 10 mL (✓ označava odrađene uzorke)

| <b>Udaljenosti od izvora<br/>[cm]</b> | <b>Vrijeme [sec]</b> |        |        |        |
|---------------------------------------|----------------------|--------|--------|--------|
|                                       | 5 sec                | 15 sec | 30 sec | 60 sec |
| <b>1,9 cm</b>                         | ✓                    | ✓      |        |        |
| <b>4,65 cm</b>                        | ✓                    | ✓      | ✓      |        |
| <b>7,23 cm</b>                        | ✓                    | ✓      | ✓      |        |
| <b>9,75 cm</b>                        | ✓                    | ✓      | ✓      | ✓      |
| <b>13,65 cm</b>                       | ✓                    | ✓      | ✓      | ✓      |



## 4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom radu predmet istraživanja bila je inaktivacija mikroorganizma tretmanom pulsirajućim UV svjetlom. Kvasac *Saccharomyces cerevisiae* je odabran zbog jednostavnosti uzgoja, nepatogenosti i pogodnosti za provedbu modelnih istraživanja. Uobičajeno se inaktivacija mikroorganizama provodi primjenom povišene temperature ili primjenom kemijskih agenasa, ali se u novije vrijeme istražuje primjena pulsirajućeg UV svjetla zbog njegovog dezinfekcijskog mehanizma pri kojem ne dolazi do značajnog povišenja temperature uzorka te time ne dolazi do narušavanja nutritivnih svojstava prehrambenog proizvoda.

Cilj ovog rada bio je odrediti najpogodniji tretman za inaktivaciju upakiranog mikroorganizama pulsirajućim UV svjetlom kao i dokazati uspješnost inaktivacije upakiranog mikroorganizma *Saccharomyces cerevisiae* nakon tretmana u prozirnoj PP/Ac/PVDC i neprozirnoj PPmet/PE ambalaži.

### 4.1. Utjecaj tretmana pulsirajućim UV svjetlom na promjenu broja mikroorganizama i izgled ambalaže

U provedenim istraživanjima koristili smo kvasac otopljen u vodenoj otopini, zapakiran u dvije različite ambalaže. Ambalaža je tretirana elektromagnetskim zračenjem u UV spektru pulsirajućim načinom rada uređaja te se takvoj tretiranoj ambalaži mjerila temperatura, prisutnost mikroorganizma i izgled ambalaže kako bi se odredili optimalni uvjeti tretmana.

Nakon provedenih istraživanja rezultati analiza prikazani su u tablicama 2. do 5.

Tablica 2. Prikaz rezultata izgleda ambalaže, udaljenosti uzorka od izvora, vrijeme i temperatura prije (PT) i nakon (NT) tretmana u ambalaži PP/Ac/PVDC

| Uzorak           | Izgled ambalaže | Udaljenost [cm] | Vrijeme [sec] | Temperatura[°C] |      |
|------------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|------|
|                  |                 |                 |               | PT              | NT   |
| <b>PPAc1-5</b>   | bez oštećenja   | 1,9             | 5             | 22,8            | 30,8 |
| <b>PPAc1-15</b>  | bez oštećenja   | 1,9             | 15            | 22,3            | 32,4 |
| <b>PPAc3-5</b>   | bez oštećenja   | 4,65            | 5             | 22,5            | 30   |
| <b>PPAc3-15</b>  | bez oštećenja   | 4,65            | 15            | 22,7            | 37,1 |
| <b>PPAc3-30</b>  | sa oštećenjima  | 4,65            | 30            | 22,4            | 82,4 |
| <b>PPAc5-5</b>   | bez oštećenja   | 7,23            | 5             | 22,5            | 28,4 |
| <b>PPAc5-15</b>  | bez oštećenja   | 7,23            | 15            | 22,7            | 38,6 |
| <b>PPAc5-30</b>  | bez oštećenja   | 7,23            | 30            | 22,4            | 48,2 |
| <b>PPAc7-5</b>   | bez oštećenja   | 9,75            | 5             | 22,5            | 25   |
| <b>PPAc7-15</b>  | bez oštećenja   | 9,75            | 15            | 22,7            | 43,6 |
| <b>PPAc7-30</b>  | bez oštećenja   | 9,75            | 30            | 22,4            | 52,6 |
| <b>PPAc7-60</b>  | sa oštećenjima  | 9,75            | 60            | 22,5            | 66,2 |
| <b>PPAc10-5</b>  | bez oštećenja   | 13,65           | 5             | 22,7            | 33,6 |
| <b>PPAc10-15</b> | bez oštećenja   | 13,65           | 15            | 22,4            | 35,6 |
| <b>PPAc10-30</b> | bez oštećenja   | 13,65           | 30            | 22,5            | 59,1 |
| <b>PPAc10-60</b> | sa oštećenjima  | 13,65           | 60            | 22,4            | 62,2 |

Tablica 3. Prikaz rezultata broja mikroorganizma prije (PT) i nakon (NT) tretmana u ambalaži PP/Ac/PVDC

| <b>Uzorak</b>    | <b>logCFU mL<sup>-1</sup><br/>(PT)</b> | <b>logCFU mL<sup>-1</sup><br/>(NT)</b> |
|------------------|--|--|
| <b>PPAc1-5</b>   | 6,91                                   | 0                                      |
| <b>PPAc1-15</b>  | 7,16                                   | 0                                      |
| <b>PPAc3-5</b>   | 5,46                                   | 0                                      |
| <b>PPAc3-15</b>  | 5,75                                   | 0                                      |
| <b>PPAc3-30</b>  | 7,22                                   | 0                                      |
| <b>PPAc5-5</b>   | 5,04                                   | 0                                      |
| <b>PPAc5-15</b>  | 6,11                                   | 0                                      |
| <b>PPAc5-30</b>  | 6,63                                   | 0                                      |
| <b>PPAc7-5</b>   | 7,67                                   | 0                                      |
| <b>PPAc7-15</b>  | 7,14                                   | 0                                      |
| <b>PPAc7-30</b>  | 7,35                                   | 0                                      |
| <b>PPAc7-60</b>  | 6,82                                   | 0                                      |
| <b>PPAc10-5</b>  | 7,63                                   | 0                                      |
| <b>PPAc10-15</b> | 7,77                                   | 0                                      |
| <b>PPAc10-30</b> | 7,45                                   | 0                                      |
| <b>PPAc10-60</b> | 6,82                                   | 0                                      |

Tablica 4. Prikaz rezultata izgleda ambalaže, udaljenosti uzorka od izvora, vrijeme i temperatura prije (PT) i nakon (NT) tretmana u ambalaži PPmet/PE

| Uzorak            | Izgled ambalaže | Udaljenost [cm] | Vrijeme [sec] | Temperatura[°C] |      |
|-------------------|-----------------|-----------------|---------------|-----------------|------|
|                   |                 |                 |               | PT              | NT   |
| <b>PPmet1-5</b>   | sa oštećenjima  | 1,9             | 5             | 20,4            | 24,1 |
| <b>PPmet1-15</b>  | sa oštećenjima  | 1,9             | 15            | 20,4            | 28,1 |
| <b>PPmet3-5</b>   | bez oštećenja   | 4,65            | 5             | 20,6            | 24,5 |
| <b>PPmet3-15</b>  | sa oštećenjima  | 4,65            | 15            | 20,6            | 24,7 |
| <b>PPmet5-5</b>   | bez oštećenja   | 7,23            | 5             | 20,6            | 22,9 |
| <b>PPmet5-15</b>  | bez oštećenja   | 7,23            | 15            | 20,6            | 37,5 |
| <b>PPmet5-30</b>  | sa oštećenjima  | 7,23            | 30            | 20,5            | 33,4 |
| <b>PPmet7-5</b>   | bez oštećenja   | 9,65            | 5             | 22,3            | 26,2 |
| <b>PPmet7-15</b>  | bez oštećenja   | 9,65            | 15            | 22,3            | 33,2 |
| <b>PPmet10-5</b>  | bez oštećenja   | 13,65           | 5             | 22,4            | 30,1 |
| <b>PPmet10-15</b> | bez oštećenja   | 13,65           | 15            | 22,5            | 36,8 |
| <b>PPmet10-30</b> | bez oštećenja   | 13,65           | 30            | 22,4            | 28,8 |
| <b>PPmet10-60</b> | sa oštećenjima  | 13,65           | 60            | 22,5            | 68   |

Tablica 5. Prikaz rezultata broja mikroorganizma prije (PT) i nakon (NT) tretmana u ambalaži PPmet/PE

| <b>Uzorak</b>     | <b>logCFU<br/>mL<sup>-1</sup> (PT)</b> | <b>logCFU<br/>mL<sup>-1</sup> (NT)</b> |
|-------------------|--|--|
| <b>PPmet1-5</b>   | 8,86                                   | 8,67                                   |
| <b>PPmet1-15</b>  | 8,93                                   | 8,73                                   |
| <b>PPmet3-5</b>   | 8,23                                   | 8,48                                   |
| <b>PPmet3-15</b>  | 8,57                                   | 8,71                                   |
| <b>PPmet5-5</b>   | 8,60                                   | 8,72                                   |
| <b>PPmet5-15</b>  | 7,06                                   | 7,26                                   |
| <b>PPmet5-30</b>  | 7,25                                   | 7,51                                   |
| <b>PPmet7-5</b>   | 7,56                                   | 6,88                                   |
| <b>PPmet7-15</b>  | 7,17                                   | 7,07                                   |
| <b>PPmet10-5</b>  | 7,51                                   | 7,17                                   |
| <b>PPmet10-15</b> | 8,06                                   | 7,43                                   |
| <b>PPmet10-30</b> | 9,35                                   | 7,18                                   |
| <b>PPmet10-60</b> | 8,26                                   | 7,69                                   |

Iz rezultata provedenog eksperimenta vidljivo je kako djelovanje pulsirajućeg UV svjetla dovodi do zagrijavanja uzorka neovisno o udaljenosti od izvora svjetla. Kod uzorka PPac3-30 postignuto je najveće zagrijavanje u iznosu od 60°C u odnosu na početnu temperaturu te ovakav tretman dovodi do oštećenja ambalaže što je vidljivo iz Tablice 2. Najveće zagrijavanje u drugoj ambalaži postignuto je kod uzorka PPmet10-60 i to za 45,5°C što je vidljivo iz Tablice 4. Krishnamurthy i suradnici (2004.) su u svom istraživanju pokazali da djelovanjem pulsirajućeg UV svjetla u kraćim vremenskim tretmanima dovodi do blagog zagrijavanja koje proporcionalno raste s produljenjem vremenskog trajanja tretmana, što je u skladu s dobivenim rezultatima. Izgled ambalaže kod velikog zagrijavanja najčešće je popraćen oštećenjima zbog velike osjetljivosti na temperature. U svom istraživanju provedenom na sličnim ambalažnim materijalima Keklik i suradnici (2010.) navode kako nemetalizirani materijali poput PP/Ac/PVDC podnose više temperature, što je u skladu s dobivenim rezultata iz kojih se može zaključiti kako je PP/Ac/PVDC ambalaža unatoč oštećenjima otpornija na povišene temperature nego PPmet/PE ambalaža.

Iz dobivenih rezultata nakon provedenih tretmana vidljivo je kako inaktivacija mikroorganizma značajno ovisi o ambalaži u kojoj se uzorak nalazi. Ambalaža PP/Ac/PVDC je propusna za ultraljubičasto i vidljivo elektromagnetsko zračenje te je iz Tablice 3. je kako je u prosjeku početni broj mikroorganizama  $6-7 \log\text{CFU mL}^{-1}$  dok na kraju tretmana dobivamo uzorak bez prisutnih mikroorganizama.

Iz rezultata prikazanih Tablicom 5. vidljivo je kako PPmet/PE ambalaža nije propusna za elektromagnetsko zračenje te pri tretmanu UV pulsirajućim svjetlom u toj ambalaži ne dolazi do inaktivacije mikroorganizama. Broj kvasca je nakon tretmana u metaliziranoj ambalaži približno jednak početnom broju te može doći do blagih odstupanja kao što je vidljivo u Tablici 5. Pad broja mikroorganizama u nekim od tretmana za ovu vrstu ambalaže uzrokovan je stvaranjem rupa u ambalaži zbog velike osjetljivosti na temperature i direktnim djelovanjem elektromagnetskog zračenja na uzorak. Zbog metalizacije ambalaže dolazi do redukcije propusnosti elektromagnetskog zračenja za više od 90% što dovodi do smanjenja efikasnosti tretmana. Također, pokazalo se da decimalna redukcija mikroorganizama ovisi o sastavu ambalaže te parametrima tretmana (Keklik i sur., 2010).

Rezultati ovog istraživanja potvrđuju uspješnost djelovanja pulsirajućeg UV svjetla u inaktivaciji mikroorganizama. Slični rezultati dobiveni su u istraživanju provedenom u Škotskoj gdje su se koristile različite vrste mikroorganizama uključujući i kvasac *Saccharomyces cerevisiae*. Tretman se provodio bez prisutnosti ambalaže i mjerio se broj pulseva koji uređaj predaje mikroorganizmu odnosno energija potrebna za redukciju mikroorganizma. Pri 550nm i 100 pulseva (1 puls po 1 sekundi) dobivena je decimalna redukcija od 5 ili 6  $\log\text{CFU mL}^{-1}$  u odnosu na početni broj (Rowan i sur., 1999).

Uspoređivanjem parametara iz istraživanja koji su proveli Rowan i suradnici (1999) i ovog eksperimentalnog rada u kojem je korišteno približno 100 pulseva u tretmanu i pri većoj valnoj duljini od 550 nm možemo potvrditi značaj u korištenju pulsirajućeg UV svjetla u inaktivaciji različitih vrsta mikroorganizama.

Uzimajući u obzir ambalažu koja se koristi do inaktivacije mikroorganizma može doći i na površini ambalaže. Uzimanjem briseva sa površine ambalaže nakon tretmana gdje rezultati pokazuju da nema rasta mikroorganizam dolazimo do zaključka da je tretman uspješan i na površini ambalaže.

Sličan eksperiment provodili su Chen i suradnici (2015) gdje su koristili različite vrste ambalaže kao što su nehrđajući čelik, PVDC, papirnati-polietilen, metaliziranu ambalažu i slično, te su tretirali inokuliranu površinu takvih ambalaža sa pulsirajućim UV svjetlom. Vrlo veliki značaj za uspješnost inaktivacije imaju reflektivnost površine i kemijski sastav ambalaže. Zaključili su da

prisutnošću odnosno odsutnošću benzenskih prstena u ambalaži kao UV funkcijske grupe u kemijskom sastavu ambalaže dolazi do smanjene odnosno povećane propusnosti ambalaže na UV svjetlo (Chen i sur., 2015). U istraživanju je broj pulseva iznosio između 1 i 30 te takvi parametri također dovode do redukcije različite vrste mikroorganizma za vrijednosti 3,5-4,5 logCFU mL<sup>-1</sup> za ambalaže koje sadrže benzenske prstenove odnosno 7 logCFU mL<sup>-1</sup> za ambalažu koja ne sadrži benzenske prstenove i omogućuje prolazak elektromagnetskog zračenja.

## 4.2. DSC analiza ambalaže

Diferencijalna motridbena kalorimetrija (DSC) je toplinska metoda kojom se mjeri razlika toplinskog toka između uzorka i referentnog materijala tijekom izlaganja materijala kontroliranom temperaturnom programu i atmosferi. DSC mjeri apsorbiranu odnosno otpuštenu toplinu iz materijala kao funkciju temperature ili vremena (izotermno), tj. omogućuje određivanje važnih toplinskih karakteristika kao što su talište i vrelište, te druge temperature prijelaza, temperaturu staklastog prijelaza i temperaturu kristalizacije. Također omogućava i neka kvantitativna mjerenja kao što su određivanje specifičnog toplinskog kapaciteta, topline vaporizacije, polimerizacije ili kristalizacije (Lukas i LeMaire, 2009 ; Stark i Jaunich, 2011). Nakon provedenih tretmana UV pulsirajućim svjetlom, provedena je DSC analiza ambalažnih materijala te su dobiveni rezultati prikazani u Tablici 6 i Tablici 7.

Tablica 6. Prikaz rezultata DSC analize za pikove (signal) taljenja i hlađenja i entalpije taljenja i hlađenja za netretirani uzorak te uzorke čiji parametri tretmana su navedeni u tablici za ambalažu PP/Ac/PVDC.

| <b>Uzorak</b>      | <b><math>T_t</math> [°C]</b> | <b><math>T_h</math> [°C]</b> | <b><math>\Delta H_t</math> [Jg<sup>-1</sup>]</b> | <b><math>\Delta H_h</math> [Jg<sup>-1</sup>]</b> |
|--------------------|------------------------------|------------------------------|--|--|
| <b>Netretirani</b> | 167,6                        | 108,4                        | 85,5   | -77,66   |
| <b>PPAc1-5</b>     | 168,1                        | 108                          | 61,86  | -52,86   |
| <b>PPAc3-60</b>    | 167,3                        | 108,3                        | 75,39  | -63,17   |
| <b>PPAc5-5</b>     | 168,2                        | 108,4                        | 67,09  | -60,98   |
| <b>PPAc5-30</b>    | 167,5                        | 108,6                        | 77,52  | -70,19   |



Tablica 7. Prikaz rezultata DSC analize za pikove (signal) taljenja i hlađenja i entalpije taljenja i hlađenja za netretirani uzorak te uzorke čiji parametri tretmana su navedeni u tablici za ambalažu PPmet/PE.

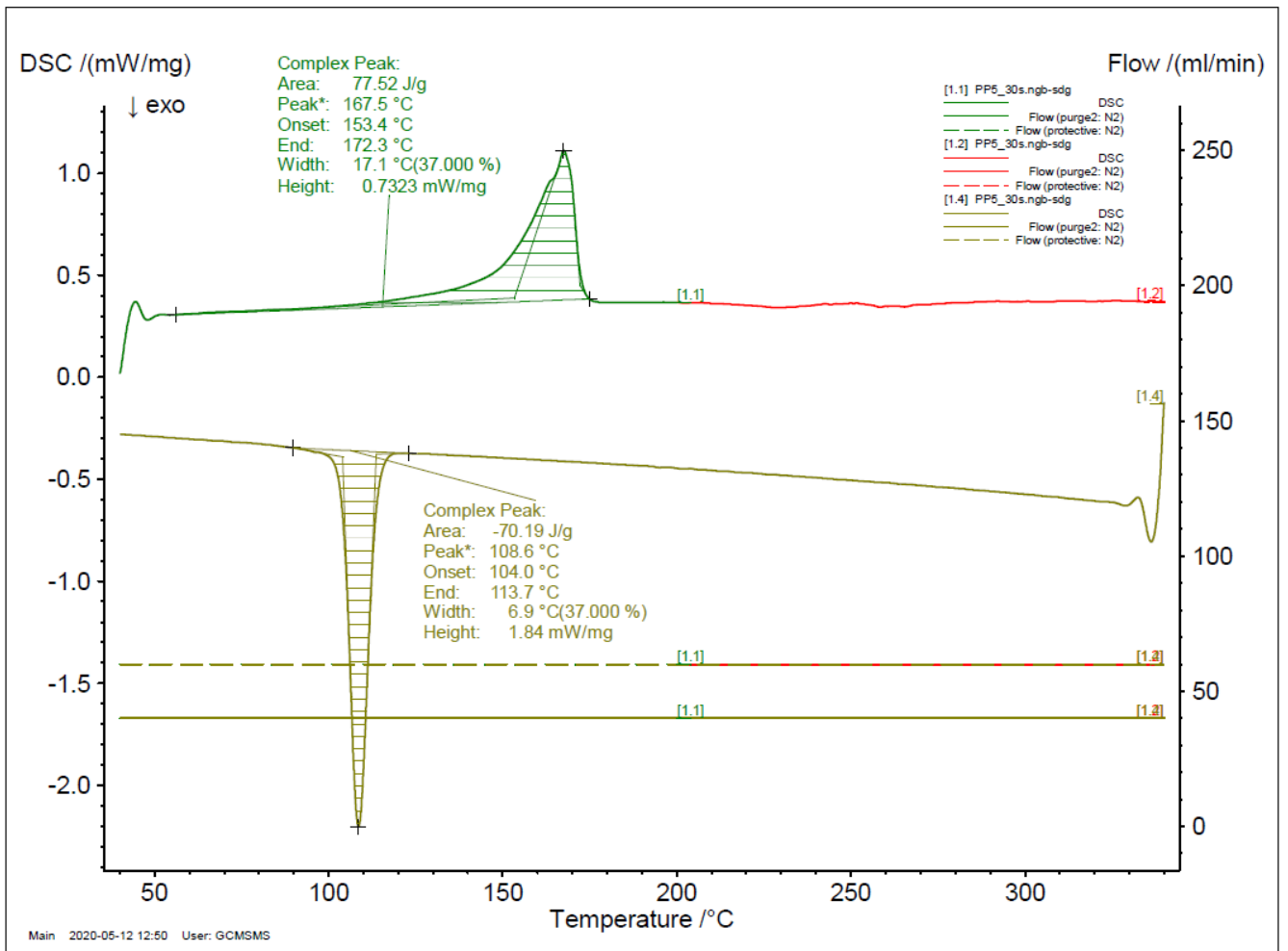
| Uzorak             | $T_t$ [°C] | $T_h$ [°C] | $\Delta H_t$ [Jg <sup>-1</sup> ] | $\Delta H_h$ [Jg <sup>-1</sup> ] |
|--------------------|------------|------------|----------------------------------|----------------------------------|
| <b>Netretirani</b> | 130,8      | 114,7      | 108,9                            | -108,8                           |
| <b>PPmet1-5</b>    | 129,9      | 114,4      | 108,7                            | -112,5                           |
| <b>PPmet3-15</b>   | 130,9      | 114,1      | 97,4                             | -97,19                           |
| <b>PPmet5-30</b>   | 130,1      | 113,7      | 100,6                            | -101                             |
| <b>PPmet5-60</b>   | 130,8      | 114,0      | 113,2                            | -113,2                           |

DSC metoda je izrazito osjetljiva metoda kojom se mogu odrediti vrlo male strukturne promjene u različitim vrstama materijala (Lorenzo i sur., 2011). Također zbog izrazito visoke osjetljivosti metode moguće je identificirati i kvantificirati nepoznate komponente u uzorku. To nam omogućuju karakteristične krivulje uzoraka odnosno karakteristične točke taljenja i kristalizacije uzoraka u fazi taljenja i hlađenja (Majewsky i sur., 2016) Uspoređujući sve tretirane uzorke u odnosu na referentni netretirani uzorak može se uočiti kako su površine ispod pika, izražene vrijednostima entalpije, manje od vrijednosti entalpije netretiranog uzorka. Najveća razlika u vrijednostima entalpija taljenja i hlađenja netretiranog uzorka može se primijetiti kod uzorka PPAc1-5 te ona iznosi 23,64 Jg<sup>-1</sup> kod entalpije taljenja i 24,8 Jg<sup>-1</sup> kod entalpije hlađenja za ambalažni materijal PP/Ac/PVDC. Za drugi ambalažni materijal uočavamo najveće odstupanje od netretiranog uzorka PPmet3-15 te ona iznose 11,5 Jg<sup>-1</sup> kod entalpije taljenja i -11,61 Jg<sup>-1</sup> kod entalpije hlađenja. Vrijednosti entalpije iz rezultata nam opisuju potrebnu energiju koju je potrebno prenijeti sustavu kako bi uzorak prešao iz jedne fazu u drugu, odnosno iz krutine u tekućinu i obratno. Vrijednosti temperatura taljenja i kristalizacije nakon tretmana su približne vrijednostima netretiranog uzorka. Različiti polimeri pri povišenim temperaturama mogu promijeniti svoju strukturu i podvrgnuti se izotermalnoj kristalizaciji. Na promjenu pikova temperatura tijekom taljenja i hlađenja može doći do blagih odstupanja od referentnih vrijednosti zbog prisutnosti sitnih čestica različitih veličina i oblika. Također na pikove i temperature taljenja i hlađenja mogu utjecati udjeli ostalih komponenti i aditiva (Majewsky i sur., 2016)

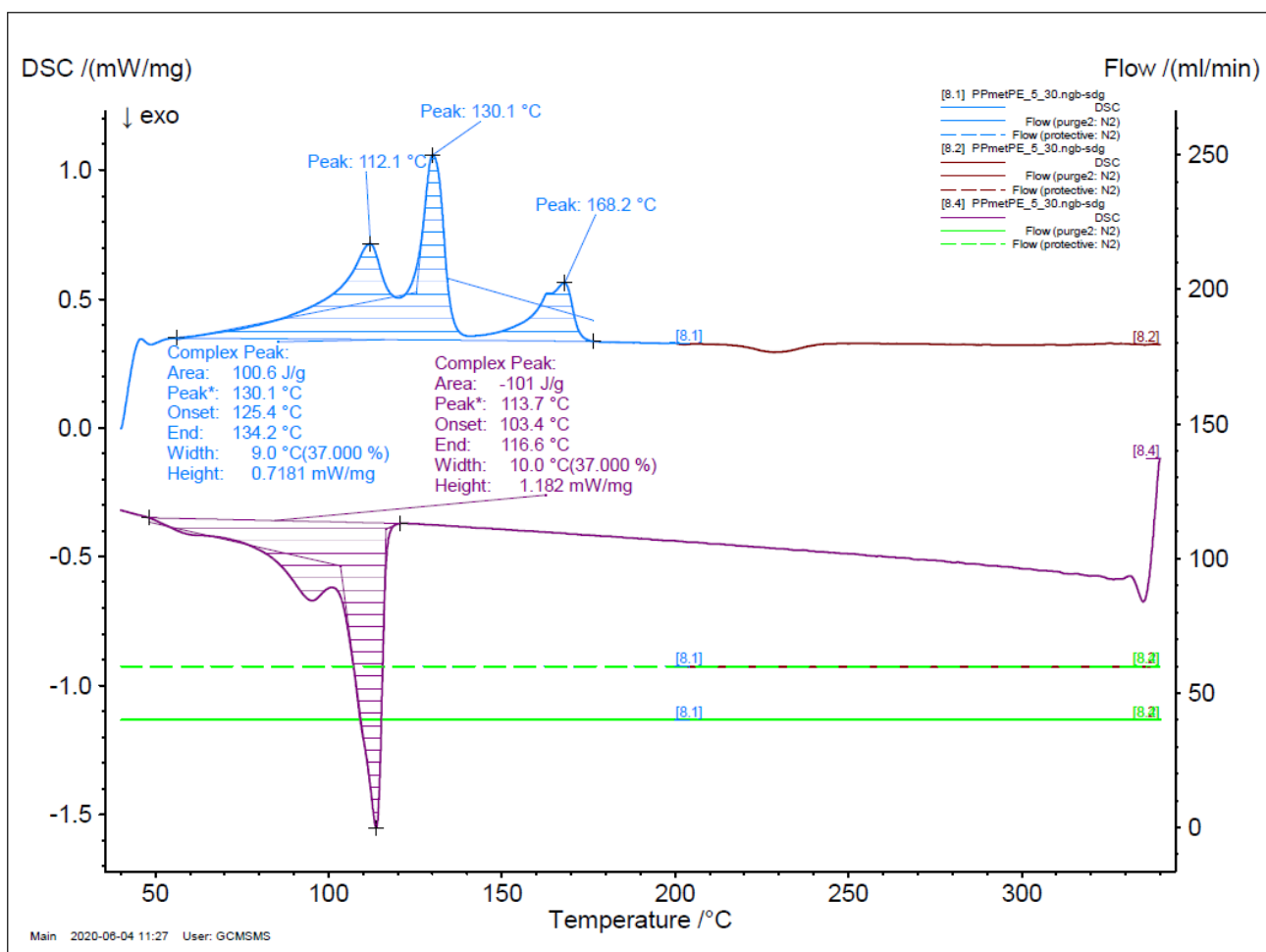
Slični rezultati dobiveni su u istraživanju koje su proveli Majewsky i suradnici (2016) međutim ambalaža koju su koristili je jednostavan monofilm PP, PVC i PE dok su naša istraživanja

provedena na složenim kopolimernim materijalima. Rezultati dobiveni u njihovom istraživanju pokazali su da PP i PE ambalaža kao monomeri imaju niže točke taljenja nego od PVC ili PU materijali koji su također monomeri. U našem istraživanju možemo uočiti veliku razliku u temperaturama tališta i hlađenja između ambalažnih materijala gdje složenija i slojevita ambalaža PP/Ac/PVDC ima za otprilike 37°C veću točku taljenja nego ambalaža PPmet/PE. Kao što je i prije navedeno, slojevitost i složenost polimera i kopolimera značajno utječe na temperaturne točke taljenja i hlađenja te potrebnu energiju za prelazak iz jednog stanja u drugo. Također u istraživanju Paukkeri i Lehtinen (1993) pokazalo se da povećanjem udjela molekulske mase u PP-kopolimerima utječemo na povećanje temperaturne točke taljenja i hlađenja. Na izgled krivulja u DSC analizi najveći utjecaj ima udio polipropilena u kopolimerima te ako je iznad 80% dobivamo krivulje s jednim pikom. U PP/Ac/PVDC DSC analizi uočavamo da krivulja sadrži samo jedan pik, dok za PPmet/PE imamo 3 različita pika. Možemo zaključiti da u ambalaži PP/Ac/PVDC najviše je zastupljen polipropilen u iznosu većem od 80%, dok za drugu ambalažu to ne vrijedi (Paukkeri i Lehtinen, 1993).

Na Slikama 5. i 6. možemo uočiti razliku u broju pikova za ambalažu PP/Ac/PVDC i PPmet/PE.



Slika 5. Termogram DSC analize ambalažnog materijala PP/Ac/PVDC za uzorak PPAc5-30



Slika 6. Termogram DSC analize ambalažnog materijala PPmet/PE za uzorak PPmet5-30

## 5. ZAKLJUČAK

- 1) Tretmanom pulsirajućim UV svjetlom na mikroorganizam *Saccaromyces cerevisiae*, provedena je uspješna inaktivacija kvasca u ambalaži PP/Ac/PVDC, dok u ambalaži PPmet/PE nije došlo do inaktivacije kvasca. Potvrđena su svojstva ambalažnih materijala na propusnost elektromagnetskog zračenja
- 2) Uvjeti pri kojima dolazi do potpune inaktivacije kvasca pulsirajućim UV svjetlom kod ambalaže PP/Ac/PVDC su pri definiranom vremenskom periodu od 5-30 sekundi i svim udaljenostima od izvora zračenja. Ograničavajući faktor je izgled ambalaže koji sadrži oštećenja kod tretmana duljih od 30 sekundi. Kod ambalaže PPmet/PE nije došlo do inaktivacije mikroorganizma zbog nepropusnosti materijala na elektromagnetsko zračenje stoga bi takva ambalaža bila pogodna za pakiranje fermentirane hrane.
- 3) Iako je tijekom tretmana pulsirajućim UV svjetlom primijećeno kako pri manjoj udaljenosti od izvora zračenja i duljim tretmanima dolazi do najvećih zagrijavanja i oštećenja na ambalaži, DSC analizom ambalažnog materijala prije i nakon tretmana vidljivo je kako je došlo do minimalnih promjena u strukturi ambalaže nakon tretmana.
- 4) Na osnovu provedenih istraživanja i dobivenih rezultata iz različitih tretmana pulsirajućim UV svjetlom na kvasac *Saccaromyces cerevisiae* moguće je zaključiti kako je pulsirajuće UV svjetlo tehnika pogodna za široku primjenu u prehrambenoj industriji.

## 6. LITERATURA

- Almeida J. R. M., Runquist D., Sánchez Nogué V., Lidén G., Gorwa-Grauslund M. F. (2011) Stress-related challenges in pentose fermentation to ethanol by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology Journal*, **6**(3): 286–299.
- Anderson J. G., Rowan N. J., MacGregor S. J., Fouracre R. A., Parish O. (2000) Inactivation of food-borne enteropathogenic bacteria and spoilage fungi using pulsed-light. *IEEE Transactions on Plasma Science*, **28**(1): 83–88.
- Becker M. M., Wang Z. (1989) Origin of ultraviolet damage in DNA. *Journal of Molecular Biology*, **210**(3): 429–438.
- Boudenne A., Ibos L., Fois M., Majesté J. C., Géhin E. (2005) Electrical and thermal behavior of polypropylene filled with copper particles. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, **36**(11): 1545–1554.
- Chen B. Y., Lung H. M., Yang B. B., Wang C. Y. (2015) Pulsed light sterilization of packaging materials. *Food Packaging and Shelf Life*, **5**(31): 1–9.
- Doğan Atik I., Özen B., TIhmInIoğlu F. (2008) Water vapour barrier performance of corn-zein coated polypropylene (PP) packaging films. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **94**(3): 687–693.
- Duina A. A., Miller M. E., Keeney J. B. (2014) Budding yeast for budding geneticists: A primer on the *Saccharomyces cerevisiae* model system. *Genetics*, **197**(1): 33–48.
- Ecker M., Deutzmann R., Lehle L., Mrsa V., Tanner W. (2006) Pir proteins of *Saccharomyces cerevisiae* are attached to  $\beta$ -1,3-glucan by a new protein-carbohydrate linkage. *Journal of Biological Chemistry*, **281**(17): 11523–11529.
- Fine F., Gervais P. (2004) Efficiency of pulsed UV light for microbial decontamination of food powders. *Journal of Food Protection*, **67**(4): 787–792.
- Gayán E., Condón S., Álvarez I. (2014) Biological Aspects in Food Preservation by Ultraviolet Light: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, **7**(1): 1–20.
- Grba S. (2010) Kvasci u biotehnoškoj proizvodnji, 1. izd., Plejada, str. 25-26, 41-48., 155-157., 159-160., 192-194., 278-280.
- Ha J. W., Back K. H., Kim Y. H., Kang D. H. (2016) Efficacy of UV-C irradiation for inactivation of food-borne pathogens on sliced cheese packaged with different types and thicknesses of plastic films. *Food Microbiology*, **57**: 172–177.
- Haughton P. N., Lyng J. G., Cronin D. A., Morgan D. J., Fanning S., Whyte P. (2011) Efficacy of UV light treatment for the microbiological decontamination of chicken, associated packaging, and contact surfaces. *Journal of Food Protection*, **74**(4): 565–572.
- Herskowitz I. (1988) Life cycle of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiological Reviews*, **52**(4): 536–553.
- Hierro E., Manzano S., Ordóñez J. A., de la Hoz L., Fernández M. (2009) Inactivation of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis on shell eggs by pulsed light technology. *International Journal of Food Microbiology*, **135**(2): 125–130.
- Keklik N. M., Demirci A., Puri V. M. (2010) Decontamination of unpackaged and vacuum-packaged boneless chicken breast with pulsed ultraviolet light. *Poultry Science*, **89**(3):

570–581.

- Klis F. M., Boorsma A., De Groot P. W. J. (2006) Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, **23**(3): 185–202.
- Kljusurić J. G. (2003) Changes in polymer foils used in food packaging tested by using differential scanning calorimetry. *Sadhana - Academy Proceedings in Engineering Sciences*, **28**(6): 991–998.
- Kowalski W. (2009) Ultraviolet germicidal irradiation handbook, 1. izd., New York: Springer, UVGI for air and surface disinfection, str. 22-23.
- Krishnamurthy K., Demirci A., Irudayaraj J. (2004) Inactivation of *Staphylococcus aureus* by pulsed UV-light sterilization. *Journal of Food Protection*, **67**(5): 1027–1030.
- Lagaron J. M., Catalá R., Gavara R. (2004) Structural characteristics defining high barrier properties in polymeric materials. *Materials Science and Technology*, **20**(1): 1–7.
- Lelas V. (2006). *Nove tehnike procesiranja hrane*. **56**(4): 311–330.
- Lorenzo A. T., Arnal M. L., Müller A. J., Lin M. C., Chen H. L. (2011) SAXS/DSC analysis of the lamellar thickness distribution on a SSA thermally fractionated model polyethylene. *Macromolecular Chemistry and Physics*, **212**(18): 2009–2016.
- Lukas K., LeMaire P. K. (2009) Differential Scanning Calorimetry: Fundamental overview. *Resonance*, **14**(8): 807–817.
- Majewsky M., Bitter H., Eiche E., Horn H. (2016) Determination of microplastic polyethylene (PE) and polypropylene (PP) in environmental samples using thermal analysis (TGA-DSC). *Science of the Total Environment*, **568**: 507–511.
- Pagano R. E. (1990) Lipid traffic in eukaryotic cells: mechanisms for intracellular transport and organelle-specific enrichment of lipids. *Current Opinion in Cell Biology*, **2**(4): 652–663.
- Paukkeri R., Lehtinen A. (1993) Thermal behaviour of polypropylene fractions: 2. The multiple melting peaks. *Polymer*, **34**(19): 4083–4088.
- Pedrós-Garrido S., Condón-Abanto S., Clemente I., Beltrán J. A., Lyng J. G., Bolton D., Brunton N., Whyte P. (2018) Efficacy of ultraviolet light (UV-C) and pulsed light (PL) for the microbiological decontamination of raw salmon (*Salmo salar*) and food contact surface materials. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **50**: 124–131.
- Rowan N. J., Gregor S. J. M. A. C., Anderson J. G., Fouracre R. A., Ilvaney L. M. C. (1999) *Pulsed-Light Inactivation of Food-Related Microorganisms*. **65**(3): 1312–1315.
- Sharifi-Yazdi M. K., Darghazi H. (2006) Inactivation of pathogenic bacteria using pulsed UV-light and its application in water disinfection and quality control. *Acta Medica Iranica*, **44**(5): 305–308.
- Slavutsky A. M., Bertuzzi M. A. (2014) Water barrier properties of starch films reinforced with cellulose nanocrystals obtained from sugarcane bagasse. *Carbohydrate Polymers*, **110**: 53–61.
- Stark W., Jaunich M. (2011) Investigation of Ethylene/Vinyl Acetate Copolymer (EVA) by thermal analysis DSC and DMA. *Polymer Testing*, **30**(2): 236–242.
- Takeshita K., Shibato J., Sameshima T., Fukunaga S., Isobe S., Arihara K., Itoh M. (2003) Damage of yeast cells induced by pulsed light irradiation. *International Journal of Food*

- Microbiology*, **85**(1–2): 151–158.
- Teparić R., Stuparević I., Mrša V. (2010) Incorporation of homologous and heterologous proteins in the *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Food Technology and Biotechnology*, **48**(3): 317–328.
- Turtoi M., Nicolau A. (2007) Intense light pulse treatment as alternative method for mould spores destruction on paper-polyethylene packaging material. *Journal of Food Engineering*, **83**(1): 47–53.
- Vujković I., Galić K., Vereš M. (2007) Ambalaža za pakiranje namirnica, 1. izd., Tectus, str. 2-5., 54., 156-171., 174., 179-180., 184., 186-188., 193-195., 375-376.
- Wambura P., Verghese M. (2011) Effect of pulsed ultraviolet light on quality of sliced ham. *LWT - Food Science and Technology*, **44**(10): 2173–2179.
- Waters L. S., Minesinger B. K., Wiltrout M. E., D'Souza S., Woodruff R. V., Walker G. C. (2009) Eukaryotic Translesion Polymerases and Their Roles and Regulation in DNA Damage Tolerance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **73**(1): 134–154.
- Wekhof A. (2000) Disinfection with flash lamps. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology / PDA*, **54**(3): 264–276.
- Wekhof A., Trompeter F.-J., Franken O. (2001) Pulsed UV Disintegration ( PUVD ): a new sterilisation mechanism for packaging and broad medical-hospital applications . *The First International Conference on Ultraviolet Technologies, Table 1*: 1–15.



## Izjava o izvornosti

*Izjavljuem 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.*

Luka Ivanešić

---

Luka Ivanešić