86° CONGRESSO NAZIONALE DELLA SOCIETA'ITALIANA DI BIOLOGIA SPERIMENTALE

PALERMO 24-25 OTTOBRE 2013
ORTO BOTANICO-SALA LANZA

ATTI DEL CONVEGNO

P97 - VALUTAZIONE DELLA TERMOPORAZIONE DINAMICA IRREVERSIBILE (DIT) COME STRUMENTO PER L'ABBATTIMENTO DELLA CARICA BATTERICA IN MATRICI ALIMENTARI

L. Saporito[1], F. Bonura[1], D. Geraci[1], T. Rubino[2], E. Pipitone[2], M. Cammalleri[2], G. M. Giammanco[1], C.Mammina[1]

[1] Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute e Materno-Infantile, Università di Palermo
[2] Dipartimento di Ingegneria Chimica Gestionale Informatica Meccanica, Università di Palermo

Introduzione

La Termoporazione Dinamica Irreversibile (DIT) consiste in un nuovo tipo di tecnologia di pastorizzazione ideato da Koulik et al. [1] basato su un processo termico dinamico, caratterizzato da riscaldamenti molto rapidi (shock termici) a temperature finali non superiori a 70 °C.
L'obiettivo del nostro studio è stato la valutazione dell'influenza di parametri di processo quali la temperatura di partenza (T_1) del campione da trattare, la temperatura finale in corso di trattamento (T_2), la differenza tra temperatura iniziale e temperatura finale (ΔT), la velocità di riscaldamento (θ) e la durata del trattamento sull'abbattimento della carica batterica nella matrice alimentare.

Materiali e metodi

I test sono stati effettuati su ceppi di riferimento di microrganismi di possibile interesse alimentare: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus hirae*, *Listeria innocua*. La sospensione test è stata preparata poco prima dell'esecuzione dei test con le seguenti composizioni: 10% sospensione microbica (10^8 CFU/ml) in acqua peptonata, da una coltura fresca (18-24 ore); 10% sostanza interferente (albumina bovina 0,3 g/L o saccarosio 10 g/L); 80% acqua dura (calcio e magnesio) [2]. I test DIT sono stati effettuati fissando per i parametri velocità di riscaldamento, temperatura iniziale e temperatura finale i seguenti valori:
DIT 1. θ 20°C/s ; T_1 30°C; T_2 60°C (ΔT 30°C)
DIT 2. θ 20°C/s; T_1 30°C; T_2 65°C (ΔT 35°C)
DIT 3. θ 30°C/s; T_1 30°C; T_2 60°C (ΔT 30°C)
DIT 4. θ 30°C/s; T_1 30°C; T_2 65°C (ΔT 35°C)
È stato anche saggiato l'effetto di un prolungato mantenimento della temperatura T_2. A fine trattamento, aliquote di ciascun campione sono state seminate in piastre di terreno solido. La lettura è stata effettuata dopo 24 e 48 ore di incubazione a 37°C. L'attività battericida è stata definita come la dimostrazione di una riduzione di almeno 5 log (logR>5) rispetto alla carica batterica iniziale.

Risultati

Le tabelle 1 e 2 riportano l'efficacia dei trattamenti DIT su ciascun microrganismo. I trattamenti con T_2 = 60°C e ΔT=30°C (DIT1 e DIT3) hanno dimostrato efficacia solo quando seguiti dal mantenimento della temperatura T_2. Questo risultato è stato osservato su *P. aeruginosa* e meno costantemente su *E. coli*. I trattamenti con T_2 = 65°C e ΔT=35°C (DIT2 e DIT4) sono risultati efficaci su tutti i microrganismi. Su *E. coli*, *L. innocua*, *P. aeruginosa e S. aureus* logR>5 è stata ottenuta anche senza mantenimento della temperatura T_2, e indipendentemente dalla sostanza interferente (Tab. 1). Diversamente, per *E. hirae* logR>5 è stata ottenuta solamente sui campioni trattati con DIT2 o DIT4 seguiti da un prolungato mantenimento di T_2 (Tab. 2). L'efficacia dei trattamenti è stata più marcata e costante per la sospensione contenente saccarosio.

Discussione

Il trattamento DIT è risultato efficace nel ridurre la carica batterica iniziale di almeno 5 log su tutti i ceppi batterici esaminati con almeno uno dei protocolli testati. Tra i parametri di processo valutati, la temperatura T_2 sembra avere influenzato notevolmente l'efficacia del trattamento, unitamente alla differenza tra temperatura iniziale e temperatura finale (ΔT) del processo DIT. Infatti, gli obiettivi DIT con T_2 = 60°C e ΔT=30°C (DIT1 e DIT3) non si sono dimostrati efficaci su nessuna delle specie batteriche testate; al contrario, gli obiettivi DIT con T_2 = 65°C e ΔT=35°C (DIT2 e DIT4), hanno determinato un abbattimento della carica batterica > 5 log per tutte le specie, ad eccezione di *E. hirae*, la cui resistenza ai trattamenti termici è nota in letteratura [3,4]. *E. hirae* è risultato sensibile ai trattamenti DIT 2 e DIT4 solo se seguiti dal mantenimento della temperatura T_2 e in presenza di saccarosio. Per questo microrganismo, in particolare, sarebbe opportuno ottimizzare il trattamento DIT 2 e 4 (ΔT=35°C) cercando di ridurre al massimo il tempo di mantenimento della T_2. La velocità di riscaldamento (θ) e le due sostanze interferenti utilizzate nella preparazione della sospensione test non hanno generalmente influenzato la suscettibilità delle specie batteriche ai trattamenti DIT.

In conclusione, questi test preliminari suggeriscono che il processo DIT può essere efficace nell'ottenere l'abbattimento della carica batterica in un substrato liquido. I parametri che influenzano maggiormente l'efficacia del processo sembrano essere quelli puramente termici: ΔT e T_2. Ulteriori sperimentazioni tenderanno ad adattare i parametri di processo alle esigenze della produzione a livello industriale.

Bibliografia

1. Sterilisation of liquids in hermetically closed vessels; PCT Patent No. 2008/114136; China Patent No. 200880014495; United States Patent Application No. 20110123690
2. UNI EN 1276:2009 Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chimica disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic and institutional areas.
3. Spinks AT, Dunstan RH, Harrison T, Coombes P, Kuczera G. Thermal inactivation of water-borne pathogenic and indicator bacteria at sub-boiling temperatures. Water Res. 2006;40:1326-32.
4. Aguirre JS, Pin C, Rodríguez MR, García de Fernando GD. Analysis of the variability in the number of viable bacteria after mild heat treatment of food. Appl Environ Microbiol. 2009;75:6992-7.

Tabella 1. Trattamenti DIT efficaci su 4 ceppi batterici di interesse alimentare. Numero di test efficaci/numero di test effettuati.

Microrganismo testato	**DIT1+mant.**		**DIT3+mant.**		**DIT2**		**DIT4**	
	A	**S**	**A**	**S**	**A**	**S**	**A**	**S**
E.coli	**1/4**	**1/4**	**1/4**	**0/4**	**4/4**	**4/4**	**4/4**	**4/4**
L.innocua	**-**	**-**	**-**	**-**	**4/4**	**4/4**	**4/4**	**4/4**
P.aeruginosa	**2/4**	**4/4**	**4/4**	**3/3**	**4/4**	**4/4**	**3/4**	**4/4**
S.aureus	**0/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**	**5/5**	**5/5**	**5/5**	**5/5**

A= albumina; S=saccarosio

Tabella 2. Trattamenti DIT efficaci su *E. hirae*. Numero di test efficaci/numero di test effettuati.

Microrganismo testato	**DIT2 + mant.**		**DIT4+ mant**	
	A	**S**	**A**	**S**
E.hirae	**0/4**	**3/4**	**1/4**	**4/4**

A= albumina; S=saccarosio