

Attività dell'Acqua Elettro-Ossidata contro il *Penicillium expansum* in Sospensione su Mele Lesionate

D.O. OKULL AND L.F. LABORDE

RIASSUNTO: le spore di *Penicillium expansum*, l'organismo principale responsabile della presenza di patulina nel succo di mela, sono state esposte all'acqua elettro-ossidata (EO) in una sospensione acquosa e sulle mele ferite. Acqua EO pura e diluita al 50% hanno ridotto la popolazione di spore vitali di più di 4 e 2 log, rispettivamente. Sebbene l'acqua EO non abbia impedito la formazione di lesioni sui frutti precedentemente inoculati con *P. expansum*, la contaminazione incrociata delle mele lesionate da parte di frutta marcita o per aggiunta diretta di spore che ha simulato la situazione di un serbatoio di scarico è stata sostanzialmente ridotta. L'acqua EO, quindi, è potenzialmente alternativa ai disinfettanti al cloro per il controllo delle infezioni da *P. expansum* nelle mele durante le operazioni di maneggiamento e lavorazione.

Keywords: *Penicillium expansum*, acqua elettro-ossidata, mele, patulina.

Introduzione

Il *Penicillium expansum* è la causa primaria di marcescenza post raccolta nelle mele (Paster et al., 1995). Oltre a causare perdite economiche, la frutta contaminata con *P. expansum* può accumulare alti livelli della micotossina patulina (Taniwaki et al. 1992). Recentemente, la U.S. Food and Drug Administration (USFDA) ha emesso un regolamento finale che richiede ai preparatori di succhi di migliorare il piano del Punto di Controllo delle Criticità del Pericolo Analizzato per il controllo dei pericoli per la sicurezza degli alimenti nelle loro lavorazioni (Federal Register 2001). L'USFDA ha tracciato delle linee guida per minimizzare la patulina del succo di mele, che include l'acquisto di solo frutti freschi, raccolti dall'albero, e vaglio e rimozione dopo l'immagazzinamento per eliminare mele marce, ammuffite o danneggiate (USFDA 2002b). Di particolare interesse sono le piccole operazioni di trasformazione nelle quali mele di bassa qualità possono essere destinate alla produzione di sidro (Brackett e Marth 1979). Secondo stime attuali dell'USFDA (USFDA 2002a), se 1 mela marcia contenente 10000 parti per miliardo (ppb) di patulina è impiegata insieme a 200 mele fresche per produrre il succo, il livello di patulina risultante nel succo può superare il livello d'intervento previsto dall'USDA, del valore di 50 microgrammi/kg. Comunque, la selezione potrebbe non avere completo successo nell'eliminazione della patulina dalle mele, in quanto potrebbero esserci lesioni all'interno del frutto che non si evidenziano nell'ispezione visiva (Paterson et al. 2000). Minimizzare il livello di noculo e prevenire la contaminazione incrociata che si verifica durante la movimentazione e lo stoccaggio è, quindi, una strategia importante per prevenire il verificarsi di decadimento della mela e la conseguente presenza di patulina nei succhi prodotti (Rosenberger, 1999).

2000). Ridurre al minimo i livelli di inoculo ed evitare la MS 20030435 Presentato 8/4/03, Revisionato 9/23/03, Accettato 11/3/03. Gli autori sono con Dept. of Food Science, The Pennsylvania State Univ., University Park, PA 16802. Domande dirette all'autore LaBorde (E-mail: lf15@psu.edu.)

Attualmente, per il controllo di spore patogene post raccolta in vasconi di scarico ed altri sistemi di ricircolo dell'acqua, è consigliato il cloro, a livelli di 100-200 ppm (Willet et al., 1989). Tuttavia, l'uso del cloro comporta degli svantaggi, come la corrosione di apparecchiature metalliche, affidabilità del controllo manuale della concentrazione di cloro, sensibilità ai carichi organici, efficacia entro una stretta banda di pH, e la formazione di pericolosi sottoprodotti del cloro (Roberts e Reymond, 1994). Misure alternative per il controllo della marcescenza conseguente la raccolta delle mele includono il trattamento delle mele con diossido di cloro (Roberts and Reymond 1994), perossido di idrogeno (Baldry 1983), vapore di acido acetico (Sholberg 2000), ozono (Spotts and Cervantes 1992) e sali di calcio (Conway e altri 1999).

L'acqua elettro-ossidata è un nuovo disinfettante che è stato provato ridurre efficacemente i batteri patogeni in sospensione cellulare (Venkitanarayanan e altri 1999a) su taglieri di plastica (Venkitanarayanan e altri 1999b) e sulla superficie delle verdure (Izumi 1999; Bari e altri 2003). Suzuki e altri (2002) hanno dimostrato l'attività inibitoria dell'acqua EO nella crescita dell'*Aspergillus parasiticus* e nella produzione di aflatossine. L'acqua EO viene prodotta mediante elettrolisi di sodiocloruri acquosi in modo da produrre una soluzione basica acquosa elettrolizzata contenente idrossido di sodio diluito al catodo e soluzione acida elettrolizzata all'anodo (Kim et al. 2000a).

L'attività di acqua EO contro il *P. expansum* non è stata precedentemente dimostrata. Di conseguenza, gli obiettivi di questo studio includono la determinazione (1) dell'attività dell'acqua EO contro le spore di *P. expansum* in sospensione acquosa, (2) dell'efficacia dell'acqua EO nella prevenzione della marcescenza quando inoculata nelle mele lesionate e (3) dell'efficacia dell'acqua EO nella prevenzione della contaminazione incrociata del *P. expansum* introdotto nelle soluzioni di processo.

Materiali e metodi

Preparazione dell'inoculo

Il *Penicillium expansum* (PP497A), isolato da pere infettate, è stato procurato dal Centro di Ricerca Fusarium della Penn State University (Univ. Park, Pa., U.S.A.) e adattato alle mele come segue: una striscia di buccia larga 30mm è stata rimossa nell'area mediana circolare (equatore) di tre mele fresche con uno sbucciatore per verdure; 500 μ L di una sospensione di spore contenente 10^6 unità formanti colonie (CFU)/mL isolate è stata applicata alla polpa esposta, e la mela inocolata incubata a 25°C per 6 giorni, durante i quali più del 50% della striscia sbucciata ha mostrato visibile marcescenza con formazione di spore. La procedura è stata ripetuta ancora una volta prima che gli inoculi delle mele marcescenti fossero posti su piatti con agar di destrosio di patata (PDA) per l'utilizzo in tutti gli esperimenti.

Culture dell'organismo sono state conservate in provetta di PDA (Difco, Sparks, Md., U.S.A.). L'inoculo è stato prodotto dalla crescita di organismi in provetta di PDA per circa 8 giorni a 25°C, alla fine dei quali l'intera superficie della provetta era ricoperta da spore di muffa. Sono stati poi aggiunti a ciascuna provetta cinque millilitri di Tween 80 sterile allo 0.01% (poliossietilene monooleato, VWR, Chester, Pa., U.S.A.) e i tubi sono stati delicatamente agitati per disperdere le spore. La sospensione è stata poi filtrata attraverso 8 strati di garza per rimuovere i detriti del micelio. Il numero di spore è stato determinato utilizzando un emocitometro Bright-Line™ (Hausser Scientific, Horsham, Pa., U.S.A.) e confermato dalla conta del piatto con PDA. Tutti i reagenti e le apparecchiature sono state sterilizzate mediante autoclave a 121°C per 21 minuti.

L'acqua EO

Per creare acqua EO è stato utilizzato un Elettrolizzatore di Acqua ROX (Hozishaki America, Inc., Peachtree City, Ga., U.S.A.). Una soluzione di cloruro di sodio allo 0.1% è stata elettrolizzata in una cella contenente elettrodi di platino inerti caricati positivamente e negativamente separati da una membrana bipolare composta di polifluoruro di vinilidene. Sottoponendo gli elettrodi a un voltaggio di corrente diretta a 19.0 amp, sono stati prodotti due tipi di acqua: una soluzione acquosa elettrolizzata basica contenente idrossido di sodio diluito (NaOH) prodotto dal catodo e una soluzione acida elettrolizzata. Gli esperimenti sono stati condotti utilizzando la porzione acida.

Determinazione di cloro libero, pH e potenziale di ossidoriduzione

La quantità di cloro libero nell'acqua EO acida è stato misurato utilizzando un titolatore digitale Hach DPD-FEAS (Hach Co., Loveland, Colo., U.S.A.) calibrato per misurare fino a 25ppm di cloro in 25 mL di soluzione secondo le indicazioni del fabbricante. In breve, i campionidi 25mL diluiti dieci volte con acqua sterile deionizzata sono stati trasferiti in beaker da 50mL. Una pillola in polvere di cloro senza DPD è stato aggiunto a ciascun campione e agitato

perché si mescolassero. Queste sono state quindi titolate utilizzando solfato ferroso di etilendiammonio 0.00564 N fino al punto finale senza colore. Il cloro libero è stato calcolato dal numero ottenuto con la titolazione, includendo il fattore di diluizione. I valori di pH e potenziale di ossidoriduzione (ORP) sono stati determinati utilizzando un misuratore pH Accumet (modello AR25, Fisher Scientific, Pittsburgh, Pa., U.S.A.) con elettrodi Orion Ion e ORP (Orion Research, Beverly, Mass., U.S.A.).

Inattivazione delle spore in sospensione

Un millilitro di sospensione di brodo di spore contenente approssimativamente 10^7 CFU/mL di inoculo è stato depositato su un filtro individuale di cellulosa acetata sterile di 0.22 μ m posto su un porta filtro sottovuoto (VWR). Dieci millilitri di acqua EO acidica non diluita o acqua EO diluita con acqua distillata sterile al 75%, 50% o 25% (v/v) della concentrazione originaria sono stati posti sul filtro. Soluzioni di sodio ipoclorito (cloro) contenenti 100 o 200 ppm di cloro con o senza assestamento al pH 7 sono state incluse per comparazione. L'acqua distillata sterile serviva da controllo. Il portafiltro è stato agitato delicatamente per sospendere le spore nella soluzione del trattamento. Dopo tempi di trattamento tra 15 e 300 secondi, la soluzione è stata filtrata sottovuoto attraverso il disco, e le spore rimanenti sono state lavate una volta con 10 mL di acqua distillata sterile. Il filtro è stato trasferito su un matraccio Erlenmeyer da 250 mL contenente 50 mL di soluzione Tween 80 allo 0.01% e le spore sono state rimosse per un trattamento ad ultrasuoni in un ultrasonificatore Aquasonic™ (VWR) operante ad una frequenza di 60Hz. Diluizioni seriali dal matraccio sono state quindi disposte su piastre pre-inzuppate di PDA e incubate a 25°C per 48 ore per determinare la quantità di spore vitali. Ogni esperimento consisteva di trattamenti duplicati che sono stati ripetuti 3 volte.

Studio delle mele inoculate

Le mele Macintosh ottenute da un fruttivendolo del posto sono state tenute a 4°C finché non sono state pronte per l'uso. Prima di ogni esperimento, 19 mele sono state lavate con un detergente delicato, sciacquate in acqua distillata, asciugate con tovaglioli di carta puliti, ed è stato dato loro il tempo di stabilizzarsi a temperatura ambiente. E' stato operato poi un taglio circolare di 8 mm a una profondità di 3 mm in cinque posti equidistanti su ogni mela utilizzando un piralide del sughero e uno scalpello. Ogni mela tagliata è stata inocolata mediante l'immersione in 500 mL di acqua distillata contenente 10^6 CFU/mL di spore di *P. expansum* per 10 secondi e poi lasciata asciugare all'aria per 1 ora. Le mele inoculate sono state poi messe in una vasca d'acqua da 30 L riempita con 20 L di acqua EO a piena potenza (100% EO), acqua EO diluita con una quantità uguale di acqua del rubinetto (50% EO), o 200 ppm di cloro a pH 9.3 o 6.9. Mele inoculate sono anche state tenute in acqua distillata per controllo.

Le condizioni di un vascone commerciale di scarico sono state simulate continuando ad agitare le mele utilizzando un mescolatore meccanico e una pompa per il ricircolo. Dopo a

un trattamento di 5 minuti le mele sono state tirate fuori e lasciate asciugare all'aria a 25°C per un'ora. Le mele sono state immagazzinate in sacchetti di plastica ventilati a 25°C per 6 giorni. Questi esperimenti sono stati ripetuti una volta e l'attività della soluzione del trattamento è stata espressa come numero percentuale delle lesioni che mostravano marcescenza dopo il periodo di immagazzinamento.

Studio della contaminazione incrociata

Diciannove mele non inoculate e lesionate sono state aggiunte alla vasca d'acqua contenente EO o soluzioni di cloro e sono state esposte a una singola mela marcia o una concentrazione di spore conosciuta. Le mele marce sono state preparate come descritto prima dell'adattamento del *P. expansum* PP497A su mele fresche. Per gli esperimenti in cui le spore erano aggiunte direttamente nella vasca, la concentrazione della soluzione del brodo è stata calcolata per raggiungere approssimativamente lo stesso livello di spore rilasciate da una mela marcia tenuta per 5 minuti nella vasca d'acqua contenente acqua distillata. Dopo il trattamento di 5 minuti in acqua EO o cloro come precedentemente descritto, le mele sono state immagazzinate a 25°C per sei giorni ed è stato determinato il numero percentuale delle lesioni che mostravano marcescenza. Tutti gli esperimenti sono stati ripetuti 2 volte.

Analisi statistica

La media di CFU per i trattamenti in vitro e il numero medio di lesioni infette negli esperimenti con le mele sono stati confrontati con le procedure 1-way ANOVA. Il test HSD di Tukey è stato utilizzato per determinare significative differenze tra i trattamenti e tutte le analisi sono state eseguite con il software statistico Minitab (Minitab Inc., State College, Pa., U.S.A.).

Risultati e Discussione

Inattivazione delle spore in sospensione acquosa

Le proprietà fisico-chimiche dell'acqua EO o delle soluzioni di cloro e la riduzione di spore vive di *P. expansum* dopo il trattamento fino a 300 secondi sono mostrati nella Tabella 1. Il pH dell'acqua EO acidica non diluita è aumentato da 3.1 a 6.5 dopo essere stato diluito con 3 volumi uguali di acqua distillata. I valori di ORP e cloro libero all'interno della stessa gamma di diluizioni è diminuito da 1133 a 851 mV e da 59.6 a 10.1 ppm rispettivamente. Gli operatori beneficerebbero dell'utilizzo di acqua EO perché ridurrebbe il volume che deve essere generato mentre allo stesso tempo ridurrebbe al minimo il potenziale di corrosione delle attrezzature che si verificherebbe a livelli di pH eccessivamente bassi.

Il valore ORP per 100 ppm di cloro non acidificato era più basso che in tutte le soluzioni di acqua EO. Quando il pH di ogni soluzione di cloro è stato abbassato con HCl, il cloro libero è rimasto invariato mentre i valori di ORP sono aumentati in ogni caso. Ciò può essere attribuito alla conversione acida indotta di ioni ipoclorito (OCI-) nella forma più reattiva di acido ipocloroso (HOCl) (Kim e altri 2000b, Eifert e Sangley 2002). I valori di ORP misurati ad ogni intervallo del trattamento non sono significativamente ($P \leq 0.05$) cambiati nel tempo (dati non mostrati).

L'inattivazione di spore di *P. expansum* da parte dell'acqua EO o dal cloro è significativamente influenzata ($P \leq 0.05$) dal livello di diluizione o dalla concentrazione o dal tempo di esposizione (Tabella 1). Le diminuzioni delle spore vive sono state inizialmente rapide con più di 4.6 log di riduzione osservato dopo 300 secondi di esposizione in acqua EO non diluita. Il cloro non acidificato è stato inizialmente meno efficace dell'acqua EO, nonostante una riduzione più grande di 4 log sia stata raggiunta con una soluzione di 200-ppm dopo 300 secondi. Coerentemente con l'effetto positivo dell'assestamento del pH sui valori di ORP, la neutralizzazione di soluzioni di cloro ha fatto sì che il tasso

Tabella 1 - Inattivazione delle spore di *Penicillium expansum* mediante acqua elettro-ossidata (EO) e soluzioni di sodio ipocloroso

	pH	ORP (mV)	Cloro Libero ppm	Inattivazione delle spore (\log_{10} CFU/mL) ^a			
				Tempo (s)			
				15	30	60	300
Controllo	7,5	272	2,2	0,13a	0,28a	0,42a	0,13a
25% Acqua EO	6,5	851	10,1	1,61c	1,70c	2,65d	2,73c
50% Acqua EO	6	895	33,5	2,91d	3,20d	3,42e	3,37d
75% Acqua EO	3,1	968	50	3,83e	3,84e	4,26f	4,82f
100% Acqua EO	8,2	1133	59,6	4,37f	4,85f	4,82g	4,62f
100ppm cloro	8,2	698	100	0,38a	0,74b	1,72b	1,82b
100ppm cloro ^b	7,1	900	100	3,39d	3,59e	3,79e	4,41e
200ppm cloro	9,8	742	201	0,85b	0,87b	2,00c	4,65f
200ppm cloro ^b	6,9	919	200	3,41d	3,88e	4,19f	5,60g

^a Il numero all'interno di ogni colonna con lettere diverse indica significative ($P \leq 0,05$) differenze tra i trattamenti. ORP = potenziale di ossido-riduzione.

^b pH corretto usando 5 N HCl.

di inattivazione delle spore aumentasse.

La Figura 1 conferma la relazione tra ORP e acqua EO o soluzioni di cloro e l'inattivazione di spore di *P. expansum*. E' stata osservata una forte correlazione ($R^2 = 0.89$) tra ORP e l'inattivazione di spore conseguente l'esposizione a ogni sanitizzante per 60 secondi a prescindere dal trattamento utilizzato. Kim e altri (2006) hanno dimostrato la relazione tra efficacia del sanitizzante e ORP e hanno proposto che l'ORP sia un indicatore adatto dell'attività antibatterica. Le nostre scoperte supportano una conclusione simile per l'inattivazione delle spore di *P. expansum*.

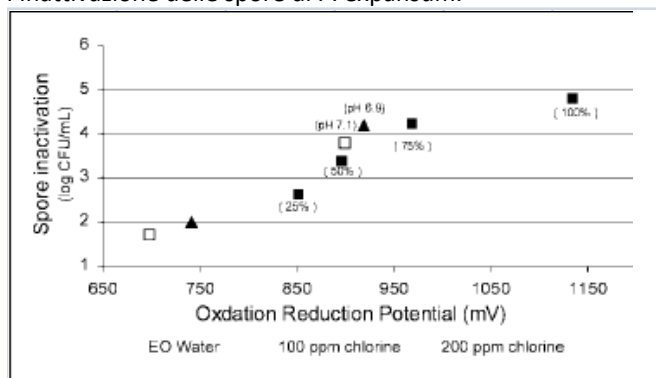


Figura 1—Relazione tra il potenziale di ossido-riduzione (ORP) di acqua EO al 25%,50%,75% e 100% e cloro con o senza regolazione del pH e la riduzione in \log_{10} di spore di *Penicillium expansum* trattate

Un effetto di coda osservato dopo 15 secondi di trattamento indica che l'esposizione prolungata ai sanitizzanti può non necessariamente aumentare l'inattivazione delle spore. Altri trattamenti delle spore con filtraggio sottovuoto della soluzione seguito dall'aggiunta di acqua fresca, o con il successivo trattamento con frazioni di EO alcaline e acide non hanno aumentato l'inattivazione (dati non mostrati). Questo effetto è coerente con uno studio di Kirsten and Nielsen (1995), che ha portato alla scoperta di vari tipi di resistenza agli agenti disinfettanti tra specie imparentate di fungo. Gli scienziati hanno supposto che la resistenza agli agenti disinfettanti possa essere connessa alla natura idrofoba della superficie delle loro spore. Le sospensioni di spore in questo esperimento sono state preparate in una soluzione di Tween 80 per aumentare la loro dispersione nella soluzione del trattamento. Inouye e altri (2001) hanno scoperto che la presenza di Tween 80 in mezzi liquidi riduce l'efficacia dei composti antimicrobici a causa della formazione di micelle, che possono ostacolare l'interazione dei composti con le spore.

Inattivazione di spore in lesioni di mele inoculate

La tabella 2 mostra le proprietà delle soluzioni di trattamento utilizzate in esperimenti in vasca d'acqua con mele lesionate e inoculate. Poiché 200 ppm di cloro sono più efficaci di 100 ppm nell'inattivazione delle spore di *P. expansum*, per il trattamento delle mele è stata usata questa concentrazione. Le proprietà di ciascuna soluzione riflettono quelle ottenute nel precedente esperimento in cui l'ORP, per esempio, aveva il valore maggiore per 100% di acqua EO e il minore per il controllo. Nessuno dei trattamenti ha impedito la formazione di marcescenza nelle

lesioni sulle mele. Similmente, Mari e altri (1999) sono stati similmente incapaci di prevenire la marcescenza di nettarine e prugne dalla *Monilinia laxa* utilizzando trattamenti post-raccolta di diossido di cloro e acido peracetico. Inoltre, Koffmann and Penrose (1987) non sono stati in grado di impedire la marcescenza dovuta a *P. expansum* di mele e pere inoculate utilizzando vari fungicidi. E' possibile che alcune spore possano essere incorporate all'interno del tessuto della mela e che siano perciò protette dal contatto con i sanitizzanti. L'interazione tra sanitizzanti e materia organica sulla superficie della mela può anche contribuire a questa mancanza di attività.

Tabella 2—Frequenza di marcescenza (%) in lesioni di mele inoculate^a trattate con Acqua Elettro-ossidata (EO) o sodio ipoclorito in simulazione di vascone di scarico e immagazzinate a 25°C per 6 g.

Tattamento ^b	pH	ORP (mV)	Cloro libero (ppm)	Nr di lesioni mostranti marcescenza (%)
Controllo	7	264	0	100
50% Acqua EO	5,1	927	36,3	100
100% Acqua EO	3	1154	80	100
200 ppm NaOCl	9,3	772	200	100
200 ppm NaOCl ^c	7	897	200	100

^a Le lesioni delle mele sono state inoculate immergendole in una sospensione di spore con 106 unità formanti colonie/mL per 10 s. ORP= potenziale di ossido-riduzione
^b Le mele lesionate sono state esposte a soluzioni di trattamento per 5 min e immagazzinate a 25°C per 6g.
^c pH corretto con 5 N HCl.

Prevenzione della contaminazione incrociata

L'aggiunta di una singola mela marcia alla vasca d'acqua ha dato come risultato una popolazione di spore di *P. expansum* approssimativamente di 10^6 CFU/mL. E' stato precedentemente mostrato che le spore di *P. expansum* possono raggiungere i 10^3 CFU/mL o più nei vasconi di scarico delle mele (Spotts and Cervantes 1986). Il livello utilizzato in questo esperimento voleva perciò simulare una contaminazione grave.

Quando le mele sono state tenute nella vasca d'acqua contenente acqua distillata per 5 minuti (controllo), tutte le lesioni si sono infettate. In ogni caso, sia l'acqua EO che 200 ppm di cloro hanno significativamente ridotto ($p \leq 0.05$) il tasso di infezioni e marcescenza (Tabella 3). L'EO non diluita è stata più efficace di qualsiasi altro trattamento, mentre il miscuglio al 50% d'acqua EO e il cloro acidificato hanno avuto approssimativamente un effetto uguale. La diluizione di acqua EO con acqua di rubinetto ha dato come risultato approssimativo il doppio del tasso di infezioni rispetto all'acqua EO non diluita. Quando il pH delle soluzioni clorate è diminuito da 10.2 a 7.1, il numero di lesioni infette è diminuito del 50%, dal 34% al 16.7%.

Nonostante simili livelli di inoculo, l'aggiunta diretta di spore nella vasca d'acqua ha dato come risultato una quantità maggiore di infezioni rispetto all'aggiunta di una singola mela marcia. Dato che il livello a 10^6 CFU/mL è stato determinato dopo che la mela marcia è stata nella vasca d'acqua per 5 minuti, può essere stato presente

inizialmente un numero minore di spore dato che si distaccano gradualmente dai conidiofori e dalle strutture miceliali circostanti. Perciò, l'aggiunta diretta di spore alla vasca d'acqua dà come risultato un numero maggiore di spore che ha immediatamente accesso alle lesioni delle mele.

Tabella 3—Contaminazione incrociata di *Penicillium expansum* in mele lesionate non inoculate in un simulatore di vascone di scarico contenente acqua elettro-ossidata (acqua EO) o sodio ipoclorito

Trattamento ^c	pH	ORP (mV)	Cloro libero (ppm)	Nr di lesioni mostranti	
				marcescenti ^e di spore ^d	Aggiunta diretta
Controllo	7,4	308	0,8	100a	95,5a
50% EO water	4,7	925	41,9	18,4c	53,3c
100% EO water	2,9	1165	79,1	10,2d	42,3b
200 ppm NaOCl	10,2	755	198	34,0b	51,1c
200 ppm NaOCl ^e	7,1	923	200	16,7c	43,4b

^a Il numero in ogni colonna con lettere diverse indica significative (P < 0.05) differenze tra i trattamenti ORP= potenziale di ossido-riduzione

^b Le mele sono state esposte alle soluzioni di trattamento per 5 min e immagazzinate a 25°C per 6g.

^c Una singola mela marcita da' come risultato una popolazione di spore di *P. expansum* di circa 10⁶ Unità formanti colonie (UFC)/mL nel vascone di scarico

^d La concentrazione di spore in sospensione è stata calcolata per ottenere 10⁶ UFC/mL nel vascone di scarico

^e pH corretto con 5 N HCl.

Conclusioni

L'acqua EO si presenta come un'alternativa promettente ai sanitizzanti al cloro per la riduzione al minimo delle infezioni post-raccolta delle mele in vasconi di scarico o altri sistemi di ricircolo dell'acqua. In ogni caso, i risultati di questo studio dimostrano la difficoltà nell'inattivazione delle spore su mele lesionate una volta che queste sono state contaminate. Nondimeno, l'uso di acqua EO o altri sanitizzanti in soluzioni di lavorazione è garantito, perché riduce il potenziale di contaminazione incrociata nei sistemi di movimentazione delle mele. Una possibile limitazione all'utilizzo dell'acqua EO su larga scala è il costo associato all'attrezzatura e il consumo elettrico. Usi più economici che non richiedono grandi quantità di acqua, come applicazioni spray, possono offrire un risparmio dei costi.

Dato che i trattamenti per prevenire la contaminazione incrociata sono solo parzialmente efficaci, è essenziale minimizzare i livelli di inoculo e di conseguenza l'incidenza di patulina nel succo mediante la sola raccolta di mele prese dall'albero, maneggiandole attentamente per evitare lesioni ed eseguendo una pulitura regolare e un programma di sanitizzazione nelle strutture di movimentazione e stoccaggio.

Riconoscimenti

Questa ricerca è stata supportata dalla stazione Pennsylvania State Agricultural Experiment e dai fondi del Pennsylvania Dept. of Agriculture. L'autore ringrazia il Dr. Ali Demirci del Penn State Dept. of Agricultural and Biological Engineering per la fornitura di acqua elettro-ossidata.

Referenze

- Baldry MGC. 1983. The bacterial, fungicidal and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. *J Appl Bact* 54:417-23.
- Bari ML, Sabina Y, Isobe S, Uemura T, Isshiki K. 2003. Effectiveness of electrolyzed oxidized water in killing *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, and *Listeria monocytogenes* on the surfaces of tomatoes. *J Food Prot* 66:542-8.
- Brackett RE, Marth EH. 1979. Patulin in apple juice from roadside stands in Wisconsin. *J Food Prot* 42:862-3.
- Conway WS, Janisiewicz WJ, Klein JD, Sams CE. 1999. Strategy for combining heat treatment, calcium infiltration, and biological control to reduce postharvest decay of 'Gala' apples. *Hortscience* 34:700-4.
- Eifert JD, Sanglay GC. 2002. Chemistry of chlorine sanitizers. *Dairy Food Environ Sanit* 22:534-8.
- [USFDA] U.S. Food and Drug Administration. 2002a. Guidance for industry. Juice HACCP hazards and controls guidance. 1st ed. (Draft Guidance). Washington, D.C.: USFDA Center for Food Safety and Applied Nutrition. Released for comment on 12 Sept 2002. Available at: <http://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/02d-0333-gd10001.doc>. Accessed 12 Feb 2003.
- [USFDA] U.S. Food and Drug Administration. 2002b. Juice HACCP regulator training. Washington, D.C.: USFDA Center for Food Safety and Applied Nutrition. Office of Field Programs. Sept 2002. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/juiceman.html>. Accessed 13 Feb 2003.
- Federal Register. 2001. Hazard analysis and critical control point (HACCP); procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice; final rule. *Federal Register* 66(13):6137-202.
- Inouye S, Tsuruoka T, Uchida K, Yamaguchi H. 2001. Effect of sealing and Tween 80 on the antifungal susceptibility testing of essential oils. *Microbiol Immunol* 45:201-8.
- Izumi H. 1999. Electrolyzed water as a disinfectant for fresh-cut vegetables. *J Food Sci* 64:536-9.
- Kim C, Hung YC, Brackett RE. 2000a. Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) water and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. *Int J Food Microbiol* 61:199-207.
- Kim C, Hung YC, Brackett RE. 2000b. Roles of oxidation-reduction-potential in electrolyzed oxidizing and chemically modified water for the inactivation of food-related pathogens. *J Food Prot* 63:19-24.
- Kirsten BN, Nielsen PV. 1995. Fungicidal effect of 15 disinfectants against 25 fungal contaminants commonly found in bread and cheese manufacturing. *J Food Prot* 59:268-75.
- Koffmann W, Penrose LJ. 1987. Fungicides for the control of blue mold (*Penicillium* spp.) in pome fruits. *Sci Hortic* 31:225-32. Mari M, Cembali T, Beraldi E, Casalini L. 1999. Peracetic acid and chlorine dioxide for postharvest control of *Monilinia laxa* in stone fruits. *Plant Dis* 83:773-6.
- Paster N, Huppert D, Barkai-Golan R. 1995. Production of patulin by different strains of *Penicillium expansum* in pear and apple cultivars stored at different temperatures and modified atmospheres. *Food Addit Contam* 12:51-8.
- Paterson RRM, Archer S, Kozakiewicz Z, Lea A, Locke T, O'Grady E. 2000. A gene probe for the patulin metabolic pathway with potential for use in patulin and novel disease control. *Biocontrol Sci Tech* 10:509-12.
- Roberts RG, Reymond ST. 1994. Chlorine dioxide for reduction of postharvest pathogen inoculum during handling of tree fruits. *Appl Environ Microbiol* 60:2864-8.
- Rosenberger DA. 1999. Postharvest decays: research results and future directions. In: CA storage: meeting the market requirements. Proc. from the CA Storage Workshop; Ithaca, N.Y.; 18 Aug 1999. NRAES Publ. 136. Ithaca, N.Y.: Natural Resource Agric. Eng. Serv., Cornell Univ. p 49-62.
- Sholberg P, Haag P, Hocking R, Bedford K. 2000. The use of vinegar vapor to reduce postharvest decay of harvested fruit. *Hortscience* 35:898-903.
- Spotts RA, Cervantes LA. 1986. Populations, pathogenicity, and benomyl resistance of *Botrytis* spp., *Penicillium* spp., and *Mucor Piriformis* in packinghouses. *Plant Dis* 70:106-8.
- Spotts RA, Cervantes LA. 1992. Effect of ozonated water on postharvest pathogens of pear in laboratory and packinghouse tests. *Plant Dis* 76:256-9.
- Suzuki T, Noro T, Kawamura Y, Fukunaga K, Watanabe M, Ohta M, Sugie H, Sato Y, Kohno M, Hotta K. 2002. Decontamination of aflatoxin-forming fungus and elimination of aflatoxin mutagenicity with electrolyzed NaCl anode solution. *J Agric Food Chem* 50:633-41.
- Taniwaki HM, Hoenderboom CJM, Vitali AA, Eiroa MNU. 1992. Migration of patulin in apples. *J Food Prot* 55:902-4.
- Venkitanarayanan K, Ezeike GOI, Hung Y-C, Doyle MP. 1999a. Efficacy of electrolyzed oxidizing water for inactivating *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enteritidis*, and *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol* 65:4276-9.
- Venkitanarayanan K, Ezeike GOI, Hung Y-C, Doyle MP. 1999b. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* on plastic kitchen cutting boards by electrolyzed oxidizing water. *J Food Prot* 62:857-60.
- Willet M, Kupferman G, Roberts R, Spotts R, Sugar D, Apel G, Ewart H, Bryant B. 1989. Integrated management of postharvest diseases and disorders of apples, pears, and cherries. *Post-Harvest Pomol Newsl* 7:1-4.