

**Fattori estrinseci che influenzano lo  
sviluppo microbico negli alimenti  
e le misure di controllo**

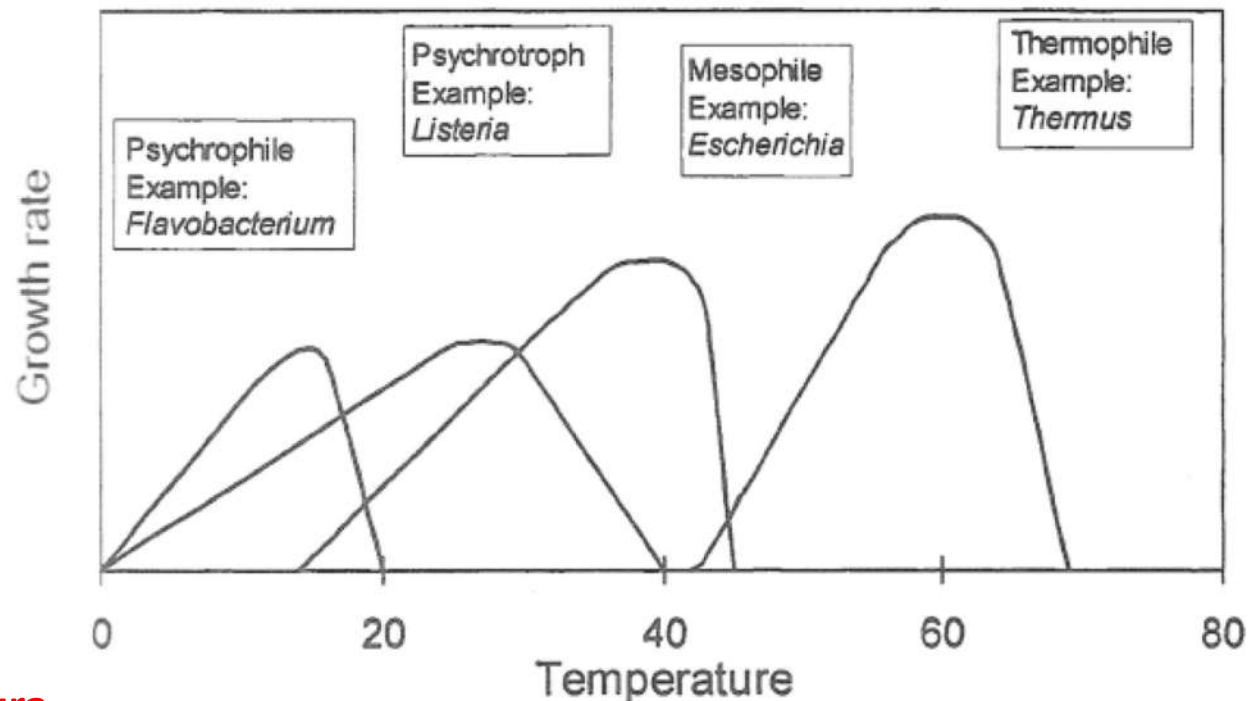
AMBIENTALI

|                            |   |
|----------------------------|---|
| <b>Fattori intrinseci</b>  | pH<br>Attività dell'acqua ( $a_w$ )<br>Potenziale redox<br>Composizione chimica e struttura dell'alimento<br>Ossigeno<br>Antimicrobici naturali |
| <b>Fattori estrinseci</b>  | Temperatura<br>Umidità relativa   |
| <b>Fattori di processo</b> | Trattamenti termici<br>Trattamenti innovativi non termici<br>Packaging tradizionali e innovativi  |
| <b>Fattori impliciti</b>   | Mutualismo<br>Competizione<br>Commensalismo<br>Amensalismo  |

# Temperatura di conservazione e crescita microbica

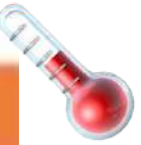


La **temperatura di conservazione** è il fattore estrinseco più influente sulla crescita, il metabolismo e la fisiologia dei microrganismi negli alimenti. L'uso di basse temperature è una strategia di controllo primaria.





| Categoria          | Range (°C) | T <sub>opt</sub> (°C) | Rilevanza per Alimenti  |
|--------------------|------------|-----------------------|---|
| <b>Psicrofili</b>  | -15 +20    | 15                    | Specie che crescono in ambienti freddi (es. mari artici).   |
| <b>Psicrotrofi</b> | -5 +30     | 25                    | Principali agenti di deterioramento negli alimenti refrigerati.   |
| <b>Mesofili</b>    | +5 +40     | 35                    | Molti patogeni e alteranti  |
| <b>Termofili</b>   | +35 +50    | 45                    | Microrganismi che sopravvivono e crescono dopo trattamenti termici (es. <i>Geobacillus stearothermophilus</i> - flat-sour). |

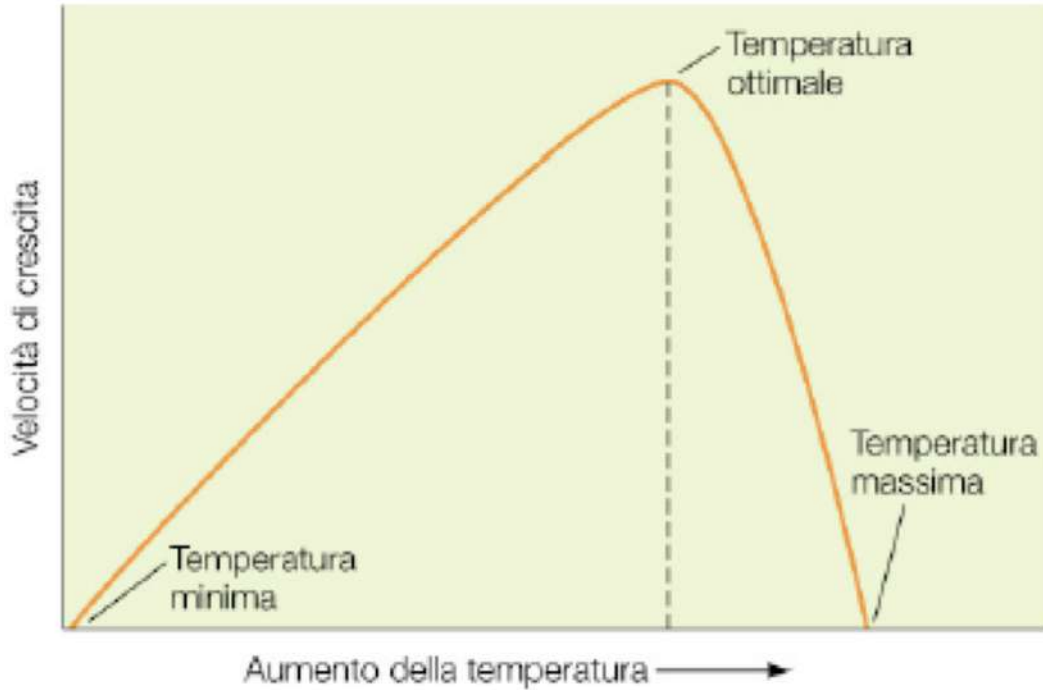


| Gruppo      | Esempi*  |
|-------------|--|
| Psicrofili  | <i>B. Clostridium gasigenes</i> , <i>Psychrobacter alimentarius</i> , <i>Vibrio marinus</i><br><i>L. Cryptococcus cerealis</i><br><i>F. Thamnidium elegans</i>   |
| Psicrotrofi | <i>B. Aeromonas hydrophila</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i> , <i>Clostridium botulinum</i> (tipo E),<br><i>Pseudomonas fragi</i> , <i>P. putida</i> , <i>Leuconostoc gelidum</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Latilactobacillus sakei</i>               |
| Mesofili    | <i>B. Bacillus cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Clostridium botulinum</i> (tipo A e B), <i>C. sporogenes</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella enterica</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i><br><i>L. Saccharomyces cerevisiae</i><br><i>F. Aspergillus flavus</i> |
| Termofili   | <i>B. Bacillus coagulans</i> , <i>Geobacillus stearothermophilus</i> , <i>Clostridium thermosaccharolyticum</i> ,<br><i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i>   |

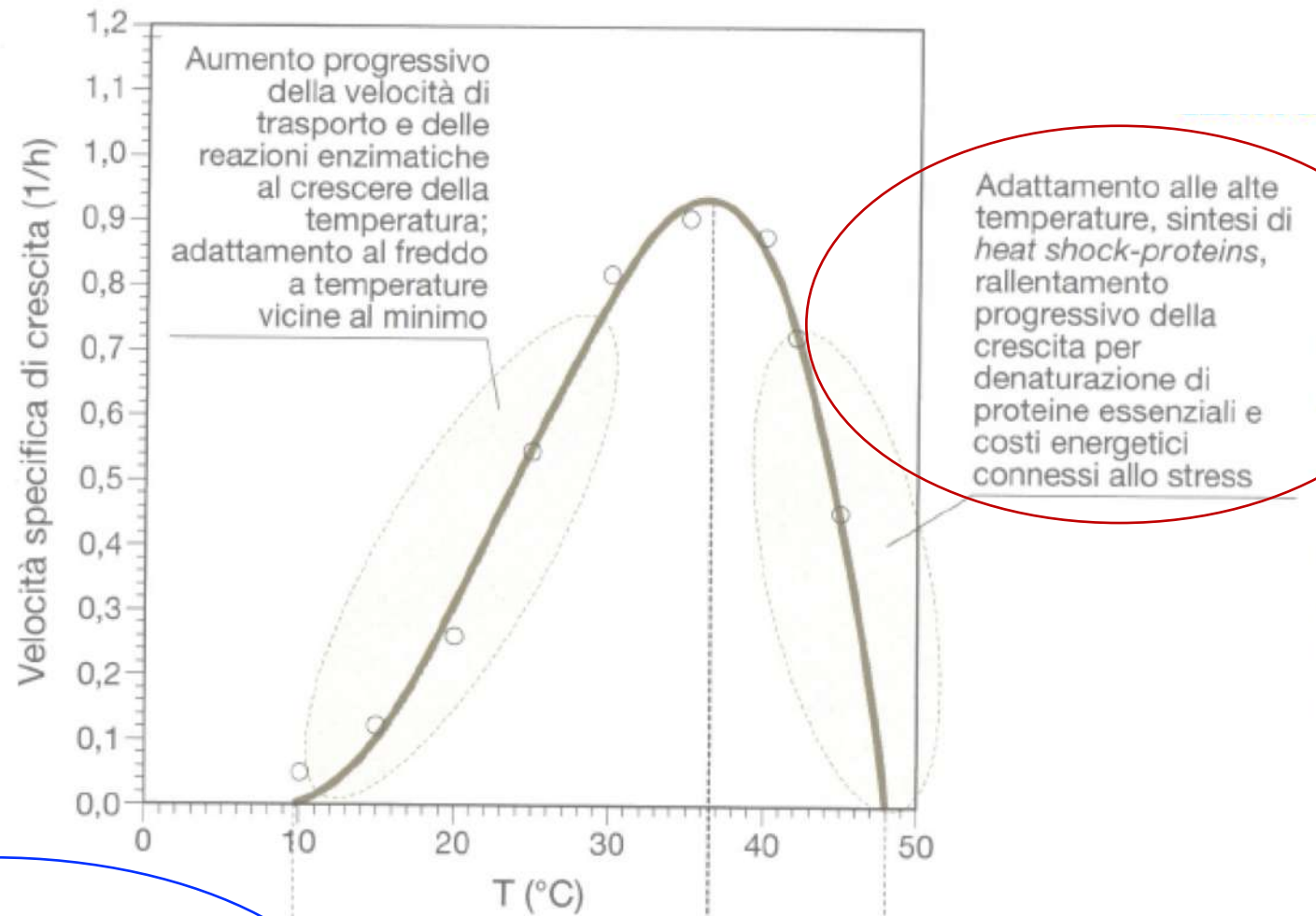


## Velocità di Crescita Massima ( $\mu_{max}$ )

La velocità di crescita massima ( $\mu_{max}$ ) dei microrganismi è direttamente correlata alla temperatura.



In particolare, nella "zona di pericolo" (tra i 20 e i 40 °C), la crescita batterica è estremamente rapida. Un esempio notevole è il *Clostridium perfringens*, che può avere un tempo di duplicazione di circa 10 minuti a temperature ottimali.



Aumento progressivo della velocità di trasporto e delle reazioni enzimatiche al crescere della temperatura; adattamento al freddo a temperature vicine al minimo

Adattamento alle alte temperature, sintesi di *heat shock-proteins*, rallentamento progressivo della crescita per denaturazione di proteine essenziali e costi energetici connessi allo stress

Arresto della crescita per riduzione attività permeasi, gelificazione delle membrane, stabilizzazione strutture secondarie di acidi nucleici e proteine, malfunzionamento di sistemi di regolazione; possibile entrata in stato VNC o morte

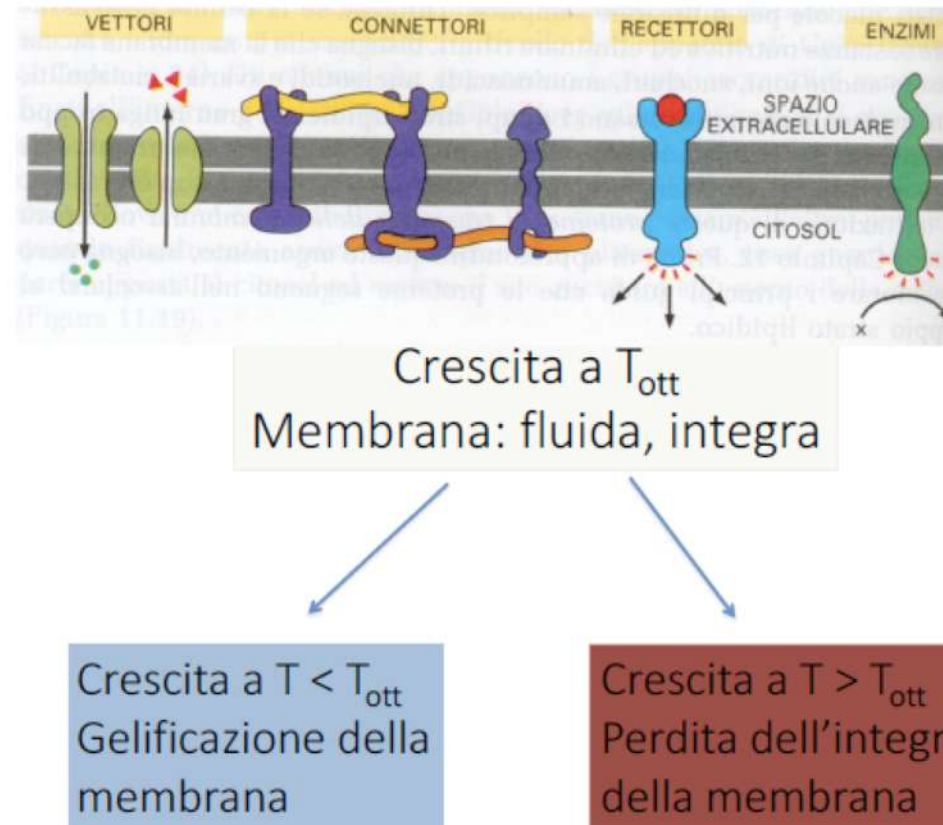
Range per la crescita:  
9,6 °C (min) - 48 °C (max);  
opt. 36,5 °C

Morte a velocità crescente per denaturazione proteine, collasso membrana, lisi termica

**Fattori estrinseci: temperatura**



Le temperature agiscono sulla fluidità della membrana cellulare agendo sui fosfolipi che gelificano o cristallizzano a basse temperature o fondono ad alte temperature





# Adattamenti al Freddo e al Caldo



- Basse Temperature: La membrana cellulare aumenta la proporzione di acidi grassi insaturi o a corta catena per mantenerne la fluidità.
- Alte Temperature: La membrana è ricca di lipidi saturi o ramificati (rigidità).

# Proteine e Risposta agli Stress Termici



Le **proteine** (in particolare gli enzimi) sono estremamente sensibili alle variazioni di temperatura, le quali influenzano direttamente la loro **attività biologica**.

## Alte Temperature (Stress da Calore)

Effetto sulle Proteine:

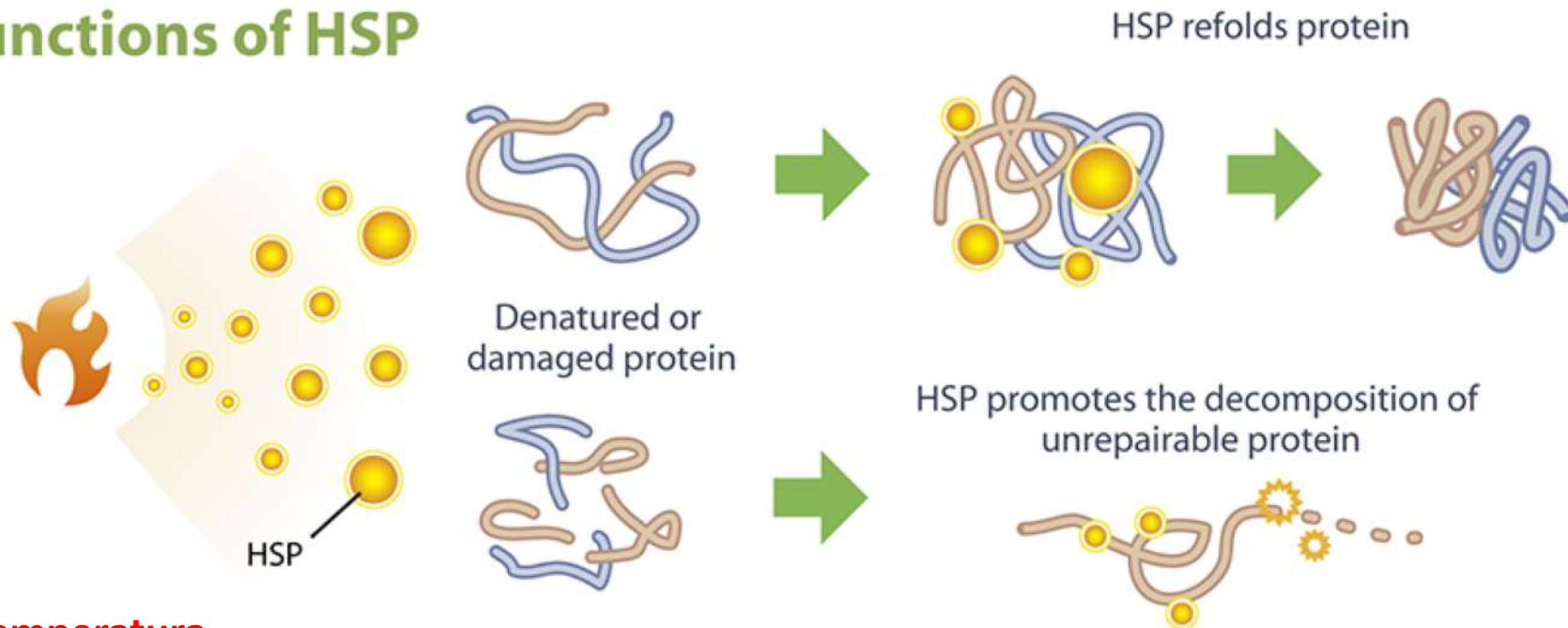
- Le alte temperature causano la denaturazione termica delle proteine: la perdita della loro conformazione spaziale (struttura tridimensionale) ne provoca l'inattivazione biologica.

## Risposta Cellulare (Protezione):

- Espressione di *Heat Shock Proteins* (HSP): La cellula sintetizza rapidamente le HSP, in particolare le chaperoni.
- Funzione: I chaperoni sono responsabili del ripiegamento corretto delle strutture proteiche appena sintetizzate o della riattivazione di quelle danneggiate, prevenendo l'aggregazione.



### Functions of HSP





Un fattore critico è la capacità di un microrganismo di acquisire resistenza.

- **Pretrattamenti Sub-Letali:** L'esposizione a temperature leggermente elevate (**pre-riscaldamento** o *mild stress*) può indurre la sintesi delle **Heat Shock Proteins (HSP)**.

# Basse Temperature (Stress da Freddo)



Effetto sulle Proteine:

Le basse temperature causano un rallentamento o un blocco totale dell'attività enzimatica, poiché riducono l'energia cinetica e la flessibilità strutturale necessarie per le reazioni.

Risposta Cellulare (Adattamento):

Espressione di *Cold Shock Proteins* (CSP): La cellula attiva la sintesi di CSP in due fasi principali:

Quando una cellula subisce uno **shock da freddo**, il processo di **traduzione** delle proteine rallenta.

In particolare:

- la fase di **allungamento** (quando il ribosoma aggiunge amminoacidi alla catena proteica) diventa più lenta;

- la fase di **inizio** della traduzione è inibita, probabilmente perché negli **mRNA** si formano **strutture secondarie** (come forcine e doppi filamenti) dovute al freddo.

I **ribosomi** che stavano già traducendo (in verde) riescono comunque a completare la loro corsa fino alla fine dell'mRNA.

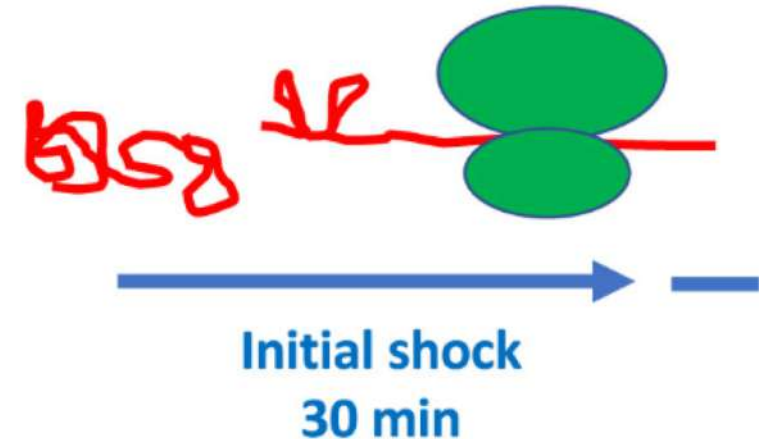
Fattori estrinseci: temperatura

**37°C**  
**Protein elongation: 13 aa/sec**  
**Protein initiation limits synthesis**



Shift to  
**10°C**

**Protein elongation rate decreases**  
**RNA becomes more structured**  
**Protein initiation is blocked**



Durante la fase di acclimatazione, la cellula comincia ad adattarsi al freddo:

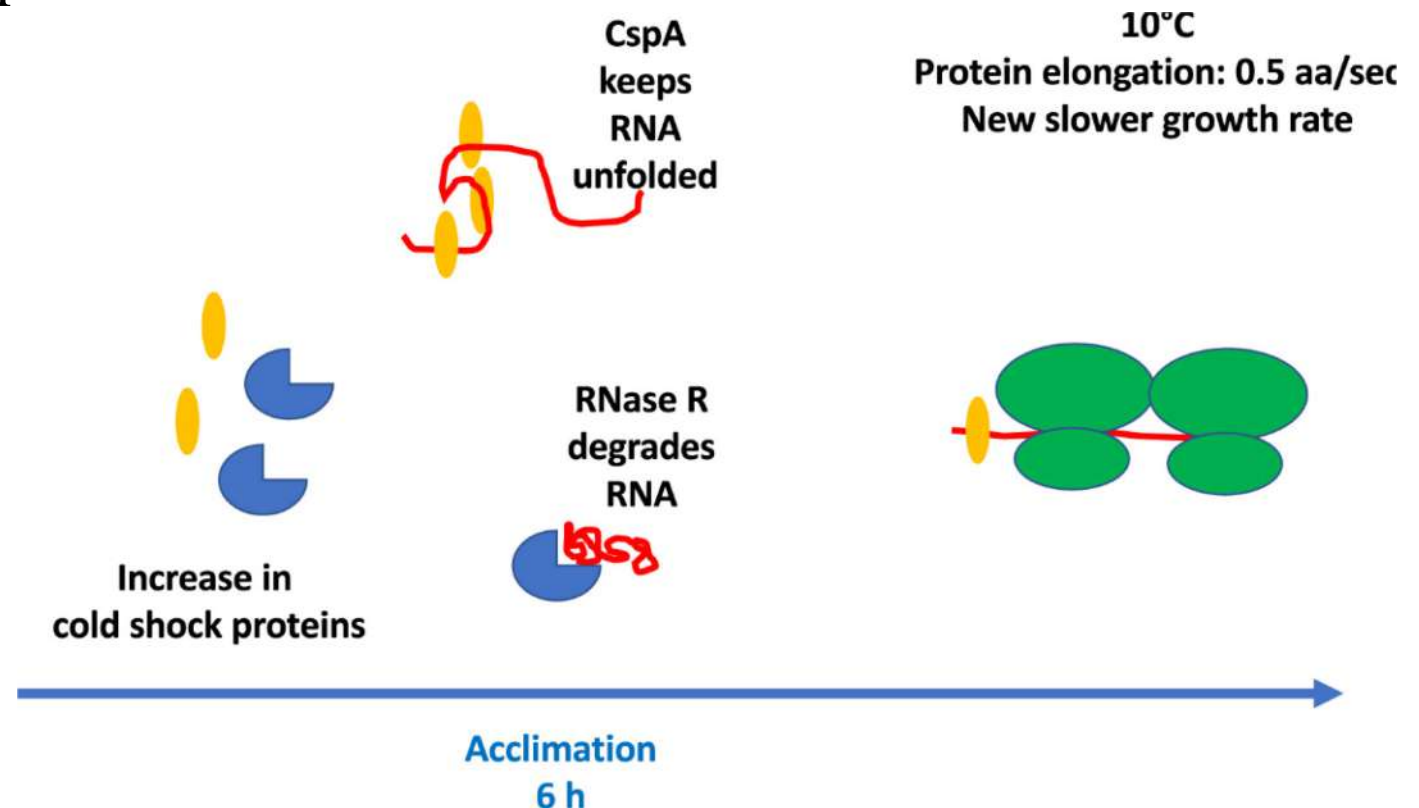
- si accumulano specifiche proteine da shock da freddo (resistenti al freddo, in particolare **CspA** e **RNasi R**);



Le cold shock:

1. potrebbe aiutare a svolgere gli RNA ripiegati per renderli di nuovo traducibili;
2. oppure, più probabilmente, proteggono gli RNA appena trascritti dal formare strutture rigide, così che i ribosomi possano attaccarsi e riprendere la traduzione.

Grazie a questi meccanismi, la cellula riesce pian piano a ristabilire un nuovo equilibrio stabile a bassa temperatura, adattandosi al freddo e riprendendo la sintesi proteica in modo efficiente.



Fattori estrinseci: temperatura



# Controllo della Temperatura



## Refrigerazione e Superchilling

Rallentare o inibire la crescita dei mesofili e rallentare significativamente gli psicrotrofi.

**Refrigerazione:** 0 -2°C fino a <6 °C dipende dalle caratteristiche del prodotto).

(tecnologie: ad aria, immersione in acqua e ghiaccio etc..)

**Superchilling:** Raffreddamento rapido dell'alimento a temperature appena sotto il punto di congelamento (es. -1 a -4 °C). Prolunga significativamente la *shelf-life* agendo sulla crescita superficiale dei psicrotrofi. (es. carcasse appena macellate)

## Congelamento e Surgelazione (-18 °C a -40 °C)



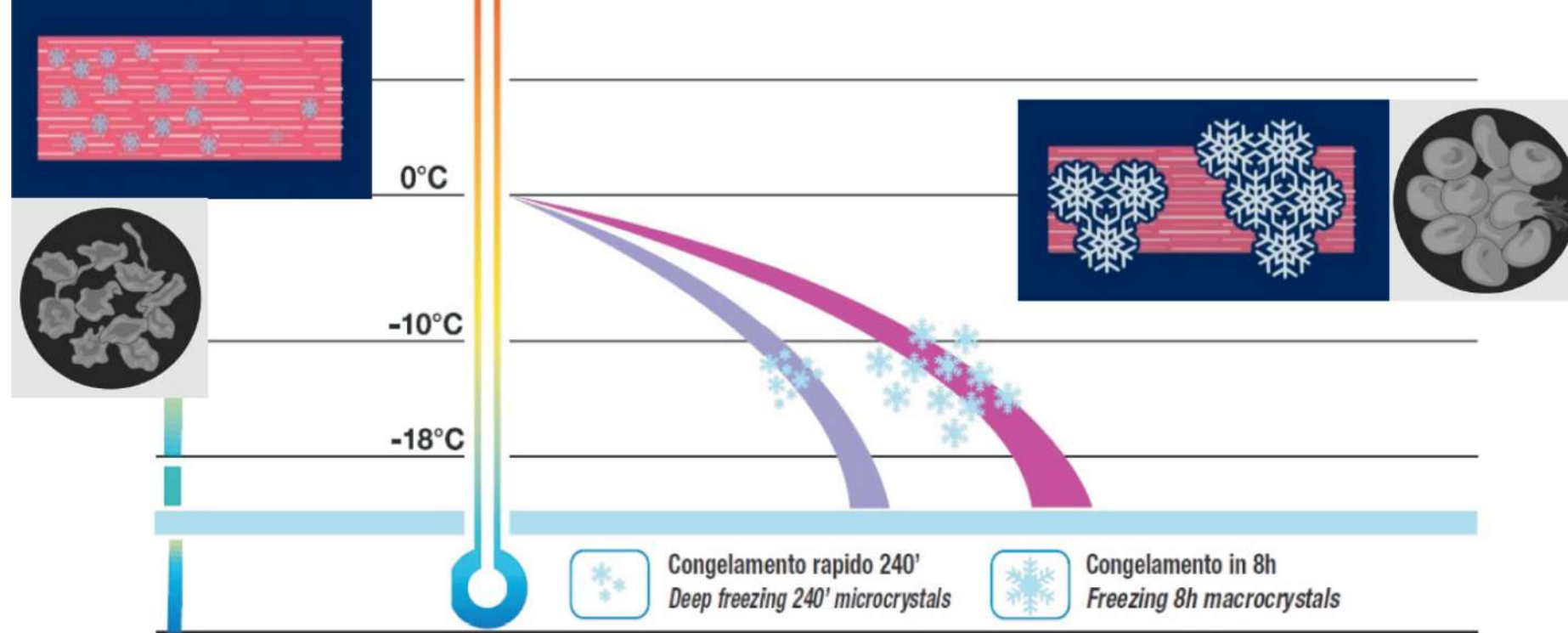
La crescita microbica è **totalmente arrestata** (si ferma a  $< -10^{\circ}\text{C}$ )

Non inattivano i microrganismi, le spore o gli enzimi (es. proteasi di *Pseudomonas*), che possono riattivarsi o continuare l'azione dopo lo scongelamento.

**Danni Cellulari:** Il congelamento provoca danni meccanici (cristalli di ghiaccio) e osmotici (concentrazione dei soluti).

Una **velocità di congelamento rapida** (surgelazione) minimizza la dimensione dei cristalli e il danno.

**Sensibilità:** Più sensibili: Parassiti (*Trichinella*, *Anisakis*), protozoi, cellule vegetative Gram-negativi. Più resistenti: Spore, Gram-positivi.



### Confronto tra metodi di congelamento

#### Congelamento rapido

- Formazione di cristalli di ghiaccio di piccole dimensioni
- Blocco o soppressione del metabolismo
- Breve esposizione a fattori avversi
- Nessun adattamento microbico alle basse temperature
- Shock termico (transizione troppo brusca)
- Nessun effetto protettivo
- Congelamento di microrganismi nei cristalli (?)
- Si evita lo squilibrio metabolico

#### Congelamento lento

- Formazione di cristalli di ghiaccio di grandi dimensioni
- Squilibrio metabolico
- Lunga esposizione a fattori avversi
- Adattamento microbico graduale alle basse temperature
- Nessuno shock
- Accumulo di soluti concentrati con effetti benefici

Minimi di temperatura di crescita di alcuni microrganismi  
di interesse alimentare.

---

|                                 | °C           |
|---------------------------------|--------------|
| Alcuni lieviti                  | da -34 a -18 |
| Alcune muffe                    | -12          |
| <i>Vibrio</i> spp.              | -5           |
| <i>Y. enterocolitica</i>        | -2           |
| Alcuni coliformi                | -2           |
| <i>Enterococcus</i> spp.        | 0            |
| <i>Brochothrix termosphaeta</i> | -1           |
| <i>Aeromonas hydrophila</i>     | -1           |
| <i>Leuc. carnosus</i>           | +1           |
| <i>Listeria monocytogenes</i>   | 0            |
| <i>Lb. sake</i>                 | +2           |
| <i>Salmonella panama</i>        | +4           |
| <i>Salmonella heidelberg</i>    | +5,3         |
| <i>Salmonella typhimurium</i>   | +6,2         |
| <i>Cl. botulinum</i> E          | +3,3         |
| <i>Serratia liquefaciens</i>    | +4           |
| <i>Pediococcus</i> spp.         | +6           |
| <i>Bacillus</i> spp.            | +7           |

# Raffreddamento Post-Cottura e Scongelamento



**Cibi Cotti:** Il raffreddamento deve essere **il più rapido possibile** (es. con abbattitori) per minimizzare la moltiplicazione dei termofili sopravvissuti (es. *C. perfringens*).

**Scongelamento:** Deve essere **lento e controllato** (es. in frigo) per prevenire la crescita superficiale, che può verificarsi a causa di **gradienti di temperatura** (esterno caldo, interno ancora congelato). Lo scongelamento rende i nutrienti più disponibili, favorendo una rapida ripresa di crescita.



# Monitoraggio e Indicatori

## Tempo-Temperatura (TTI)



**Modelli Predittivi:** Consentono di prevedere la *shelf-life* residua in condizioni di temperatura variabile, ottimizzando la logistica.

**TTI:** Piccoli dispositivi posti sulle confezioni. Sfruttano reazioni (enzimatiche, chimiche) influenzate dalla temperatura per segnalare, con un **cambiamento di colore irreversibile**, il superamento dell'equivalente della *shelf-life* prevista. Smascherano le rotture della **catena del freddo**.



**Fattori estrinseci: temperatura**

## Fattori di Processo: Alte Temperature 🔥



Il **calore** è il più importante fattore di processo utilizzato per l'abbattimento delle popolazioni microbiche patogene e/o alteranti negli alimenti, combinando l'efficacia microbicide con la preservazione delle caratteristiche organolettiche.

I trattamenti termici mirano a **ridurre le popolazioni microbiche a livelli accettabili** (sicurezza e *shelf-life*). A seconda dell'intensità, si distinguono:

- **Pastorizzazione:** Trattamento blando che riduce significativamente le forme vegetative (principalmente patogeni e alteranti sensibili), ma non necessariamente le spore.
- **Sterilizzazione:** Trattamento severo che elimina tutti i microrganismi vitali e le loro spore.



# Fattori che Influenzano la Termoresistenza



**Fattori Intrinseci dell'Alimento:** Attività dell'acqua ( $a_w$ ), pH, composizione della matrice (es. grassi, zuccheri), presenza di antimicrobici.

(es. alimenti secchi o molto zuccherati/salati):

meno acqua → denaturazione più difficile → maggiore sopravvivenza al calore.

*Salmonella* è più resistente al calore nel latte in polvere rispetto al latte liquido.

**pH acido** (inferiore a 4,5) riduce fortemente la termoresistenza, poiché l'ambiente acido indebolisce le membrane e facilita la denaturazione delle proteine.

In ambienti **neutri o leggermente alcalini**, la termoresistenza aumenta.

Grassi, zuccheri, proteine e antimicrobici proteggono i microrganismi

Fattori estrinseci: temperatura



## 1. Fase di crescita

Le cellule in **fase stazionaria** (cioè quando la crescita si è arrestata per mancanza di nutrienti) sono **più resistenti** al calore.

Le cellule in **fase esponenziale** (quando si moltiplicano attivamente) sono **più sensibili**, poiché il loro metabolismo è intenso e le strutture cellulari sono più vulnerabili.

## 2. Adattamento e pre-esposizione a stress

Se un microrganismo è stato esposto in precedenza a **stress moderati** (come salinità, acidità o calore subletale), può attivare **meccanismi di difesa** che lo rendono più resistente al calore successivo (fenomeno di **cross-protezione**).

## 3. Tipo di microrganismo

Esistono differenze naturali tra specie: ad esempio, le **spore batteriche** (come *Bacillus* o *Clostridium*) sono molto più termoresistenti delle **cellule vegetative** (come *E. coli* o *Salmonella*).



| Termoresistenza | Esempi di Microrganismi Sporigeni  | Rilevanza per gli Alimenti  |
|-----------------|--|---|
| Bassa           | <i>Clostridium botulinum</i> tipo E, <i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoides</i> .             | Spore relativamente facili da distruggere con una pastorizzazione efficace.                     |
| Media           | <i>Clostridium botulinum</i> tipi A e B, la maggior parte delle specie di <i>Bacillus</i> .    | Patogeni pericolosi (soprattutto <i>C. botulinum</i> ), richiedono trattamenti termici intensi. |
| Alta            | <i>Geobacillus stearothermophilus</i> (agente del flat-sour), <i>Clostridium nigrificans</i> . | Richiedono sterilizzazione commerciale, usate come microrganismi test.                          |
| Altissima       | <i>Clostridium thermosaccharolyticum</i> .   | Le più difficili da eliminare, richiedono trattamenti termici estremamente severi.              |



## Il Calore: Un'Arma a Doppio Taglio

Il trattamento termico deve trovare un equilibrio preciso. Se troppo blando, non garantisce la sicurezza; se troppo severo, distrugge vitamine, proteine e peggiora le caratteristiche organolettiche. I trattamenti sono calibrati per ottenere il massimo abbattimento microbico (*target* su patogeni, es. *C. botulinum*) con il minimo impatto sulla qualità.

## L'Induzione delle *Heat Shock Proteins* (HSP) 💪

Le HSP sono la risposta di emergenza della cellula allo stress termico. Se un microrganismo contaminante (es. *E. coli* o *L. monocytogenes*) è sottoposto a uno stress termico moderato (es. preriscaldamento accidentale) prima del trattamento termico principale, la produzione di HSP può rendere la popolazione **4 volte più resistente** al calore.

## Le Spore: Il Nemico della Sterilizzazione 💣

Le spore batteriche sono la forma di vita più termoresistente conosciuta negli alimenti. Hanno bassissimi livelli di acqua nel nucleo e contengono sostanze che stabilizzano il DNA. Per garantire la sicurezza (soprattutto contro il botulismo), i trattamenti di sterilizzazione devono essere dimensionati in base alla **spora più resistente** presente, come quelle di *Clostridium botulinum* tipi A e B o *Geobacillus stearothermophilus*.

# Umidità Relativa (UR) e Stoccaggio degli Alimenti

L'Umidità Relativa (UR) dell'ambiente di stoccaggio è un fattore estrinseco che influenza l'equilibrio di acqua tra l'alimento e l'ambiente circostante, con un impatto cruciale sulla crescita microbica superficiale e sulla qualità.

L'UR è la misura dell'umidità dell'aria.

In un sistema chiuso, l'UR e la temperatura sono inversamente correlate:

**all'aumentare della temperatura, l'UR generalmente diminuisce**, e viceversa (a causa dell'aumento della capacità dell'aria di trattenere vapore acqueo).

| Condizione di Stoccaggio | Effetto sull'Alimento   | Impatto sulla Contaminazione Microbica  |
|--------------------------|---|---|
| UR Esterna Alta          | Assorbimento di umidità (soprattutto in superficie), ammorbidimento, condensazione. | Aumenta la potenziale crescita di <b>lieviti, muffe e batteri aerobi</b> sulla superficie.  |
| UR Esterna Bassa         | Perdita di umidità dall'alimento (disidratazione superficiale).                     | <b>Inibisce</b> la crescita superficiale, ma può ridurre eccessivamente la <b>qualità organolettica</b> (aspetto, <i>texture</i> ). |
| UR Ottimale              | Mantenimento dell'equilibrio igroscopico (equilibrio di umidità).                   | <b>Massimizza</b> la durata di conservazione, bilanciando inibizione microbica e qualità.   |

La scelta dell'UR di stoccaggio è un bilanciamento critico. L'obiettivo è mantenere l'UR a un livello che **ritardi lo sviluppo microbico** (soprattutto in superficie) **senza compromettere la qualità organolettica** dell'alimento (es. prevenire l'essiccamento o l'assorbimento eccessivo).

### **Ruolo nel Confezionamento (Packaging)**

L'efficacia dell'UR ambientale deve essere considerata in sinergia con altri fattori di controllo (es. aw interna, temperatura) e con il **materiale di confezionamento**. Un packaging appropriato (es. con barriere all'umidità o *packaging attivo*) è fondamentale per isolare l'alimento e controllarne il microclima.



**Fattori di processo che influenzano lo  
sviluppo microbico negli alimenti  
e le misure di controllo**



|                            |   |
|----------------------------|---|
| <b>Fattori intrinseci</b>  | pH<br>Attività dell'acqua ( $a_w$ )<br>Potenziale redox<br>Composizione chimica e struttura dell'alimento<br>Ossigeno<br>Antimicrobici naturali |
| <b>Fattori estrinseci</b>  | Temperatura<br>Umidità relativa   |
| <b>Fattori di processo</b> | Trattamenti termici<br>Trattamenti innovativi non termici<br>Packaging tradizionali e innovativi  |
| <b>Fattori impliciti</b>   | Mutualismo<br>Competizione<br>Commensalismo<br>Amensalismo  |

# Ruolo nel Confezionamento (Packaging)

settore del packaging in continua evoluzione:

- Necessità di adeguarsi alle esigenze di un'economia circolare ed ecosostenibile
- Abbandono dei tradizionali sistemi (confezioni in vetro e in banda stagnata)
- Ampia varietà di confezioni in carta, cartone, plastica
- Confezioni in grado di influenzare in maniera selettiva gli scambi di gas

## Funzioni Primarie del Confezionamento

La funzione principale del packaging è creare una **barriera protettiva** e regolare lo scambio di gas (principalmente  $O_2$  e  $CO_2$ ) tra l'alimento e l'esterno. Questo modifica il potenziale redox e riduce i fenomeni ossidativi, il deterioramento microbiologico e lo sviluppo di patogeni.

## Confezionamento Sottovuoto

Eliminazione completa dell'aria e sigillatura ermetica (variazione della pressione totale).

**Effetto:** Inibisce i microrganismi **aerobi stretti** (*Pseudomonaceae*, funghi, lieviti).

**Limiti:** Non inibisce microrganismi anaerobi (es. *Clostridium botulinum*) e anaerobi tolleranti (es. Batteri Lattici). Spesso combinato con la refrigerazione.

## Atmosfera Modificata (MAP) e Controllata (CAP)

Queste tecniche sfruttano miscele gassose per prolungare la *shelf-life* di prodotti deperibili.

**CAP (Controllata):** L'atmosfera è **modificata e mantenuta costante** attivamente in grandi spazi (es. celle frigorifere), utilizzata per stoccaggi prolungati (es. frutta e verdura).

**MAP (Modificata):** L'atmosfera è **modificata all'inizio** (variazione delle pressioni parziali di  $O_2$ ,  $CO_2$  e  $N_2$  ma **non è controllata attivamente** in seguito. L'atmosfera cambia dinamicamente per effetto della diffusione e dell'attività microbica/tissutale.

| <b>Gas</b>                | <b>Funzione Principale</b>  | <b>Effetto Antimicrobico</b>  | <b>Uso Tipico</b>   |
|---------------------------|---|---|---|
| <b>Ossigeno</b>           | Mantenere il colore (es. rosso della carne),<br>Prevenire irrancidimenti. | <b>Basse concentrazioni inibiscono gli aerobi stretti</b> (effetto selettivo).                              | Alto (approx 60-80%) per carni rosse; Basso per pesce, frutta, verdura.   |
| <b>Anidride Carbonica</b> | Agente antimicrobico primario.  | <b>Inibisce Batteri Aerobi, Lieviti, Funghi filamentosi.</b><br>Si scioglie, abbassando il pH superficiale. | Spesso 10-30% (effetto fungistatico/batteriostatico).                     |
| <b>Azoto</b>              | Gas di riempimento inerte.  | Nessun effetto antimicrobico diretto.   | Usato per sostituire l'ossigeno e prevenire il collasso della confezione. |

**Fattori di processo: packaging**

## MAP: Effetto Selettivo ⚠

La MAP prolunga la *shelf-life* (fino a 2-3 volte) inibendo gli psicrotrofi aerobi, ma questo **effetto selettivo** è critico. L'ambiente a basso O<sub>2</sub> e alto CO<sub>2</sub> può **favorire** la crescita di microrganismi anaerobi e facoltativi tolleranti alla CO<sub>2</sub> (es. batteri lattici) e, più pericolosamente, di patogeni psicrotrofi e anaerobi come *Clostridium botulinum* (tipi B, E, F) e *Listeria monocytogenes*. Per questo, la **refrigerazione rigorosa** è obbligatoria.



**Tabella 3.12** Conservazione degli alimenti per modifica dell'atmosfera di confezionamento.

| Tipologia  |                                    | Modalità  | Esempi  | Effetto  |
|--|------------------------------------|---|---|--|
| Confezionamento sotto vuoto                          |                                    | Applicazione di un vuoto più o meno spinto (0,01-0,03 MPa) attorno all'alimento, mantenuto da chiusure stagne o da film impermeabili  | Carni crude e trasformate, formaggi, pasta, caffè                   | Inibizione di microrganismi aerobi stretti, prevenzione delle reazioni di ossidazione, controllo del calo peso |
| Conservazione in atmosfera ipobarica                 |                                    | Mantenimento di un vuoto (1-8 kPa) e di una UR controllate (85-95%) in ambienti di conservazione  | Frutta, verdura, carni, pesce                                       | vedi sopra   |
| Atmosfera controllata                                |                                    | La composizione dell'atmosfera intorno al prodotto viene intenzionalmente alterata e mantenuta nelle condizioni specificate. Applicata in celle e durante la distribuzione a lungo raggio | Frutta, carne   | vedi sopra, e rallentamento e controllo della maturazione di frutta  |
| Atmosfera modificata (MAP)/Atmosfera protettiva (PA) | Atmosfera modificata di equilibrio | Il prodotto viene confezionato in materiale con permeabilità selettiva a diversi gas e l'atmosfera si altera dinamicamente in funzione di un gran numero di fattori                       | Frutta, verdura, ortaggi, carne, pasta, formaggi                    | Controllo parziale dei microrganismi aerobi, controllo delle reazioni di ossidazione e del calo peso           |
|  | Atmosfera modificata               | L'atmosfera intorno al prodotto viene modificata inizialmente, ma può variare in seguito  | Frutta, verdura, ortaggi, carne, pasta, formaggi                    | come sopra   |
| Confezionamento attivo                               |                                    | Oltre alla modificazione dell'atmosfera, si utilizzano reattivi che consumano o producono uno o più componenti contribuendo al mantenimento della composizione desiderata                 | Frutta, verdura, ortaggi, carne, pasta, formaggi, prodotti da forno | come sopra, ma con controllo migliorato  |

## Packaging Innovativo: Attivo e Intelligente

Questi nuovi approcci rispondono all'esigenza di prolungare la *shelf-life* e ridurre lo spreco (*Zero Waste*).

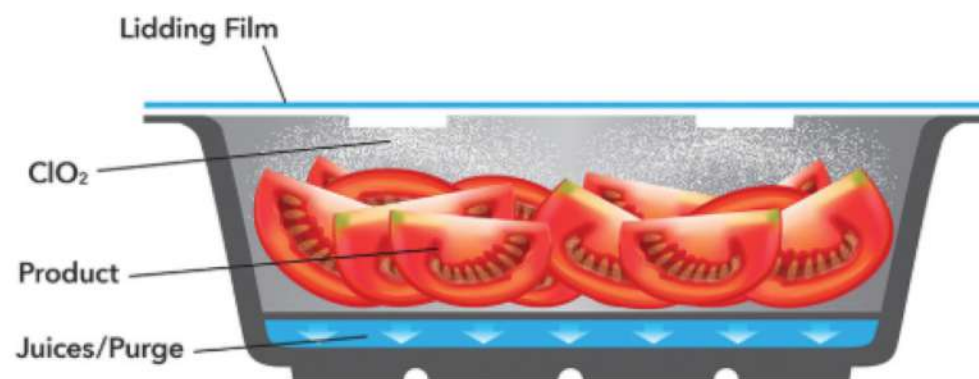
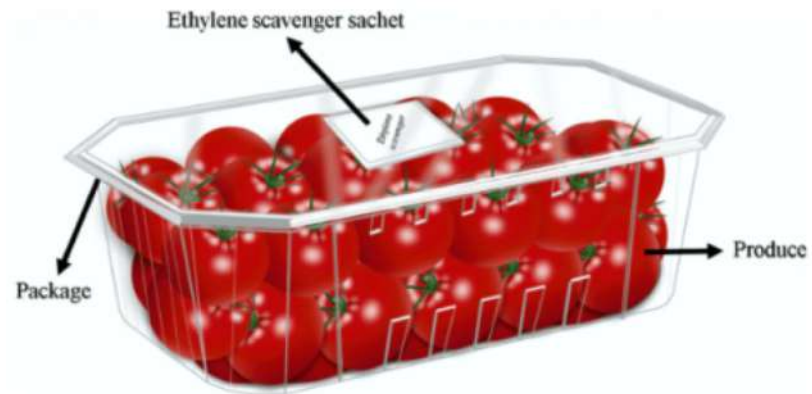
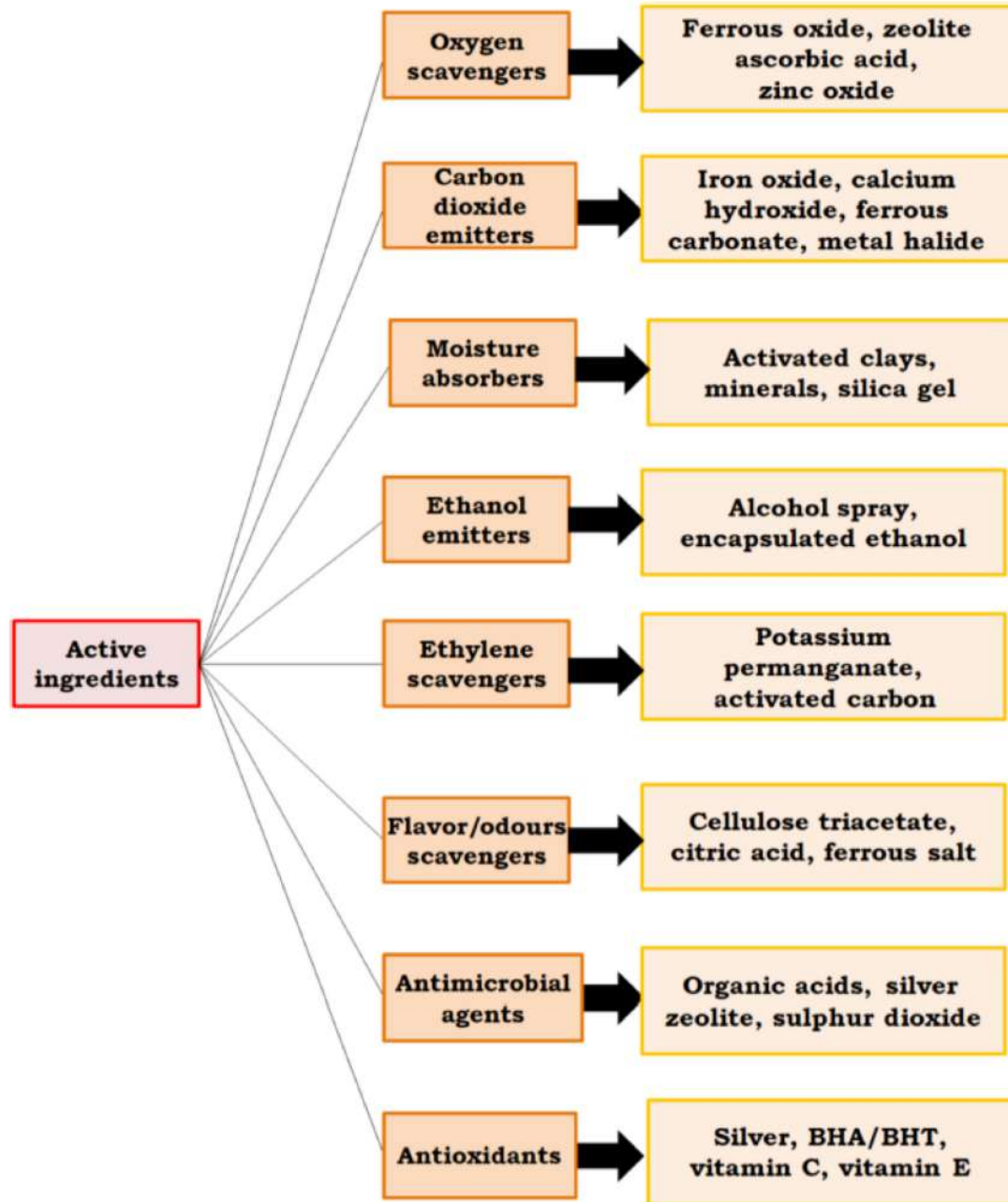
**Attivo:** Rilascia o assorbe composti per **interagire direttamente** con l'alimento o lo spazio di testa, ritardando i processi degradativi (es. rilascio di antimicrobici, assorbimento di O<sub>2</sub>).

**Intelligente:** **Non interagisce** chimicamente con l'alimento. Il packaging **rileva, registra e comunica** informazioni sulla qualità e le condizioni di conservazione (es. Indicatori Tempo-Temperatura).

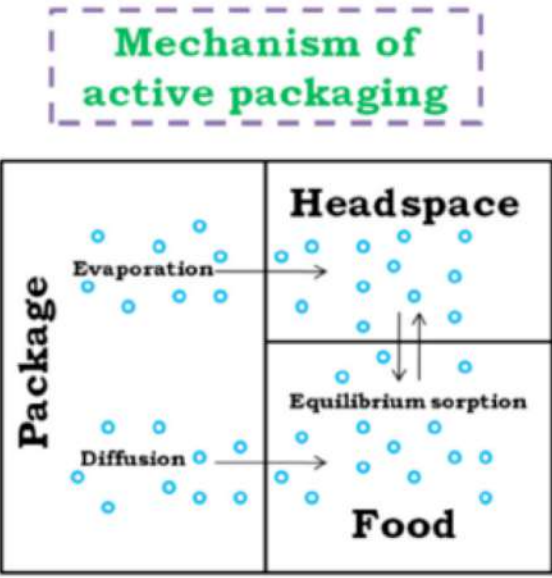
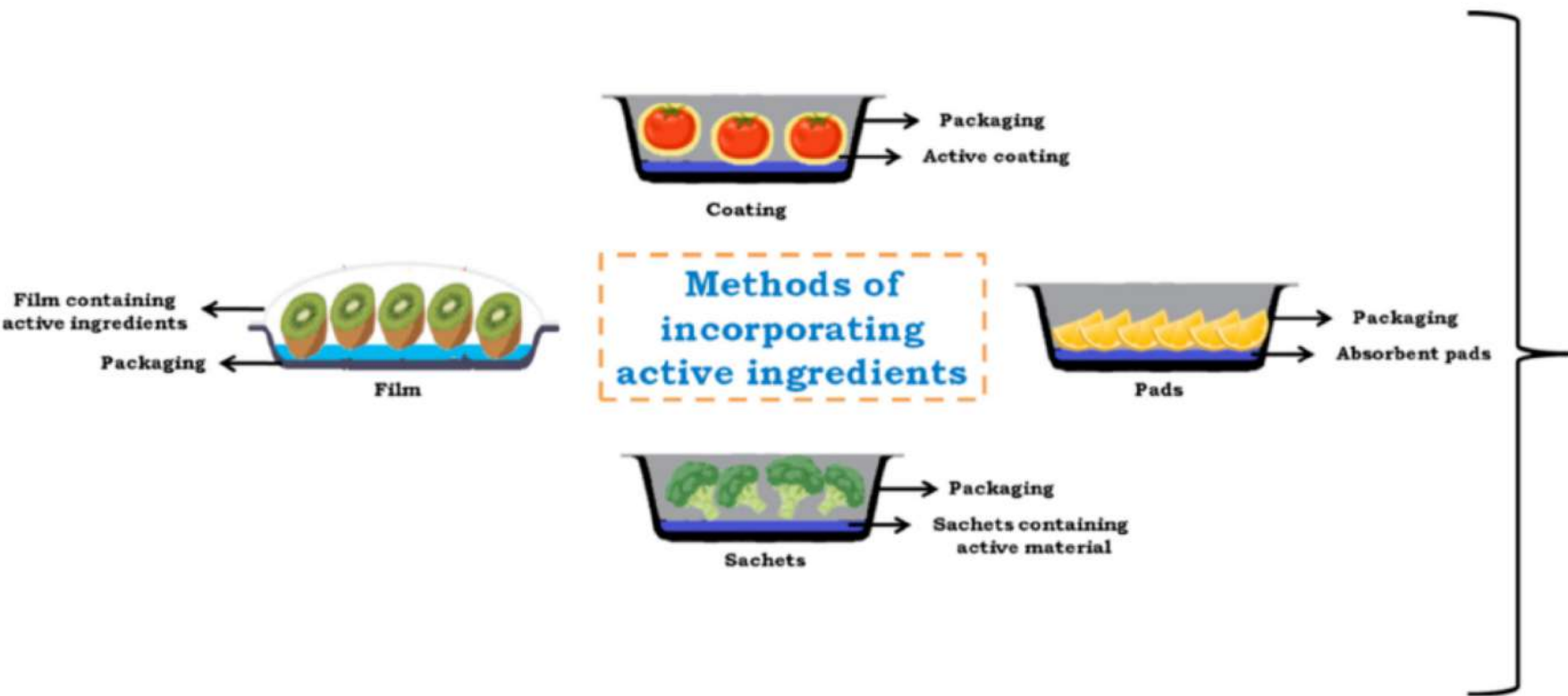
| Tipologia              | Meccanismo d'Azione   | Esempi di Applicazione   | Obiettivo  |
|------------------------|---|--|--|
| Packaging Attivo       | <b>Rilascio/Assorbimento di composti</b> (antimicrobici, antiossidanti, umidità).   | Oli Essenziali in cartone (frutta), Nisina in film plastici (carne), Assorbitori di O <sub>2</sub> | <b>Estendere la <i>shelf-life</i> e ridurre il deterioramento</b> (qualità e sicurezza). |
| Packaging Intelligente | <b>Rilevazione e comunicazione</b> di informazioni senza interagire con l'alimento. | Indicatori Tempo-Temperatura (TTI), sensori di pH, sensori di gas.                                 | <b>Monitoraggio della Catena del Freddo e Tracciabilità</b> (sicurezza e logistica).     |

# Composizione Antimicrobica e Sostenibilità

I packaging attivi più studiati veicolano antimicrobici (es. **oli essenziali, nisina, lisozima**) o antiossidanti tramite **biopolimeri** riciclabili, spesso derivati da scarti agroindustriali. La nisina, in particolare, è efficace contro batteri **Gram-positivi** patogeni come *L. monocytogenes* e *S. aureus*.







## Esempio: atmosfera modificata e film antimicrobico con Nisina



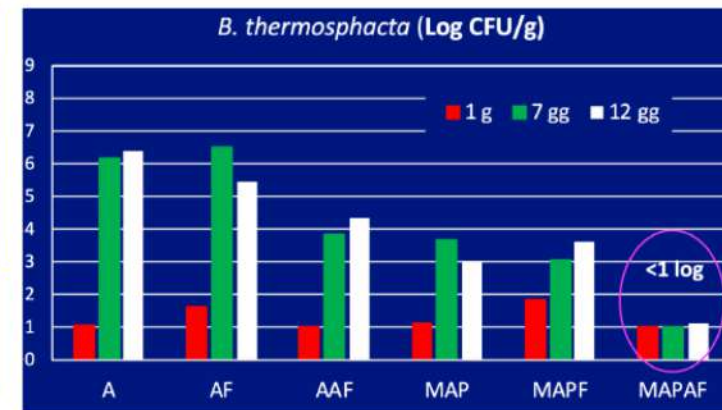
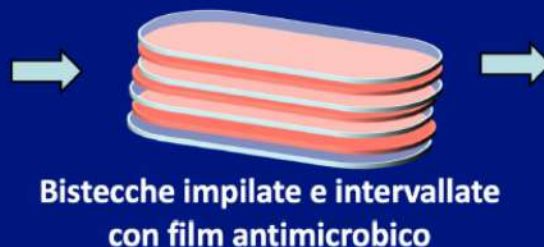
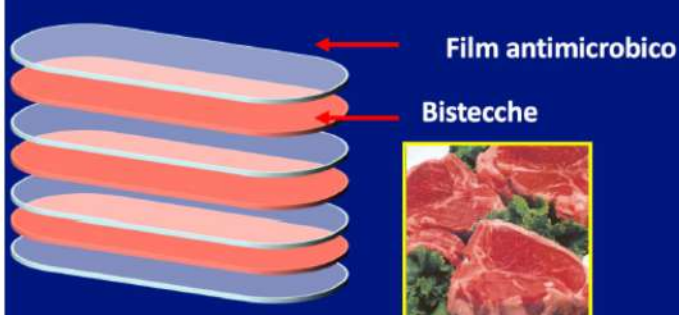
A combination of modified atmosphere and antimicrobial packaging to extend the shelf-life of beefsteaks stored at chill temperature

Antonietta La Storia, Ilario Ferrocino<sup>1</sup>, Elena Torrieri, Rossella Di Monaco, Gianluigi Mauriello, Francesco Villani, Danilo Ercolini\*

Dipartimento di Scienza degli Alimenti, Università degli Studi di Napoli Federico II, Via Università 100, 80055 Portici, Italy



### Preparazione del packaging



| Campioni | Condizioni di conservazione              |                               |
|----------|--|-------------------------------|
|          | atmosfera Iniziale                       | film inter-fetta <sup>1</sup> |
| A        | Aria                                     | -                             |
| AF       | Aria                                     | film polietilene non attivo   |
| AAF      | Aria                                     | film Antimicrobico HDPE       |
| MAP      | 60% O <sub>2</sub> – 40% CO <sub>2</sub> | -                             |
| MAPF     | 60% O <sub>2</sub> – 40% CO <sub>2</sub> | film polietilene non attivo   |
| MAPAF    | 60% O <sub>2</sub> – 40% CO <sub>2</sub> | film Antimicrobico HDPE       |

- Azione battericida verso *Brochothrix thermosphacta* (Gram positivo, anaerobio, alterante)
- Maggiore azione in ambiente più ossidante (60 % O<sub>2</sub>; 40 % CO<sub>2</sub>)

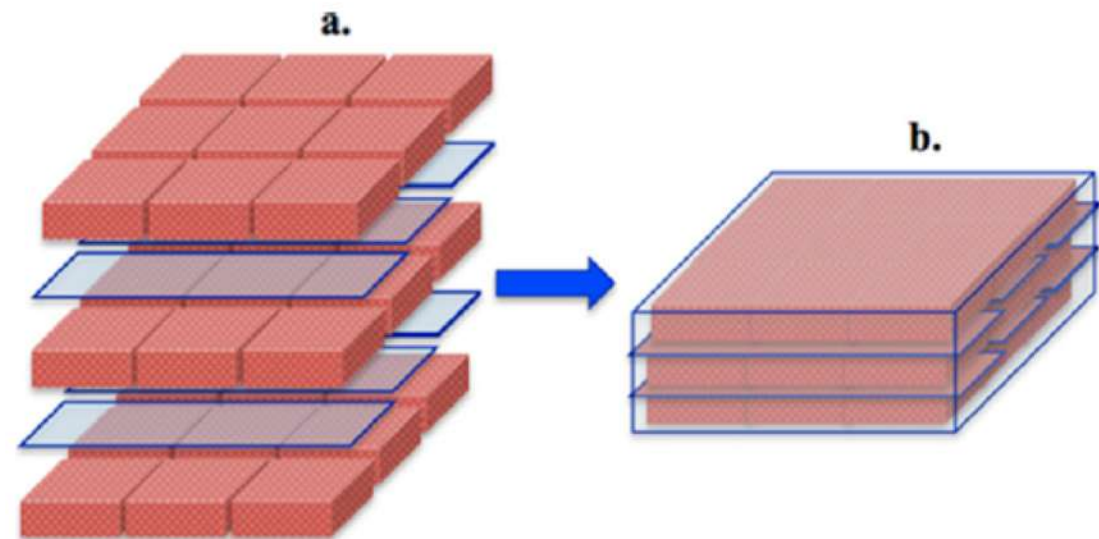




## Impact of Nisin-Activated Packaging on Microbiota of Beef Burgers during Storage

Ilario Ferrocino,<sup>a</sup> Anna Greppi,<sup>a</sup> Antonietta La Storia,<sup>b</sup> Kalliopi Rantsiou,<sup>a</sup> Danilo Ercolini,<sup>b</sup> Luca Cocolin<sup>a</sup>

Department of Agricultural, Forest and Food Science, University of Turin, Grugliasco, Italy<sup>a</sup>; Department of Agricultural Sciences, Division of Microbiology, University of Naples Federico II, Portici, Italy<sup>b</sup>



Il confezionamento attivo a base di nisina ha ritardato la crescita della carica batterica totale vitale e dei batteri lattici.

Prolungamento della Shelf Life: Lo studio conferma l'efficacia di questa strategia nel prolungare la shelf life dei beef burger.

Impatto sui Processi di Deterioramento: L'uso del nisina ha determinato una riduzione nell'abbondanza di specifici pathway metabolici correlati al deterioramento (spoiling).

**Fattori di processo: trattamenti fisici,  
termici e non termici**

# Trattamenti Fisici per la Sicurezza Alimentare

I **trattamenti fisici** sono stati e rimangono uno dei pilastri fondamentali per garantire la sicurezza e la conservabilità degli alimenti, in particolare per i prodotti altamente deperibili.

I metodi fisici sono impiegati per l'abbattimento delle popolazioni microbiche (patogene e/o degradative) in alimenti come carne, pesce, latte, uova e ortaggi.

## Lavaggio

- con acqua potabile in condizioni di turbolenza o spray ad alta pressione, può rimuovere microrganismi che non aderiscono fortemente alle superfici.
- formazione di biofilm e la penetrazione di microrganismi all'interno dei tessuti (es: fessure e pori dell'epidermide di pollo) possono ridurre sostanzialmente l'efficacia del lavaggi
- migliori performance con l'utilizzo di:
  - additivi (es: sodio lattato unico ammesso per carcasce)
  - quando consentito di agenti sanificanti (**acqua elettrolizzata in USA**) →
  - vapore o acqua a temperature  $> 60-62\text{ }^{\circ}\text{C}$  possono migliorare l'efficacia

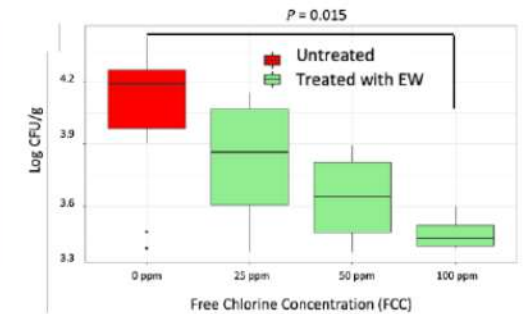
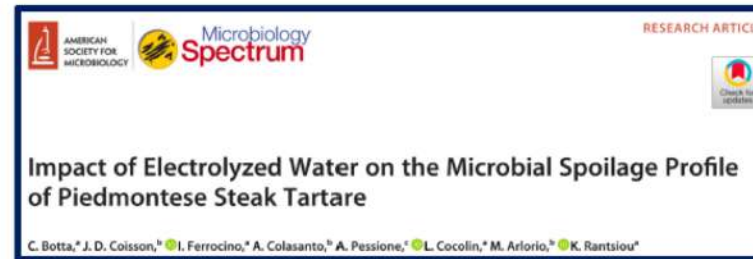
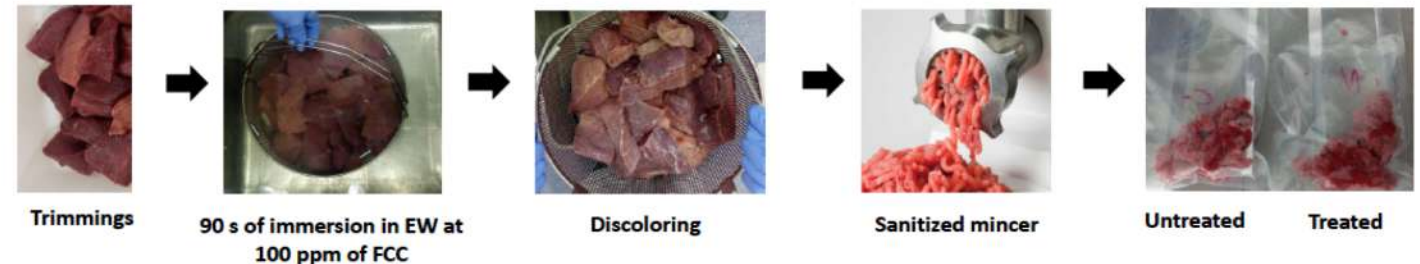
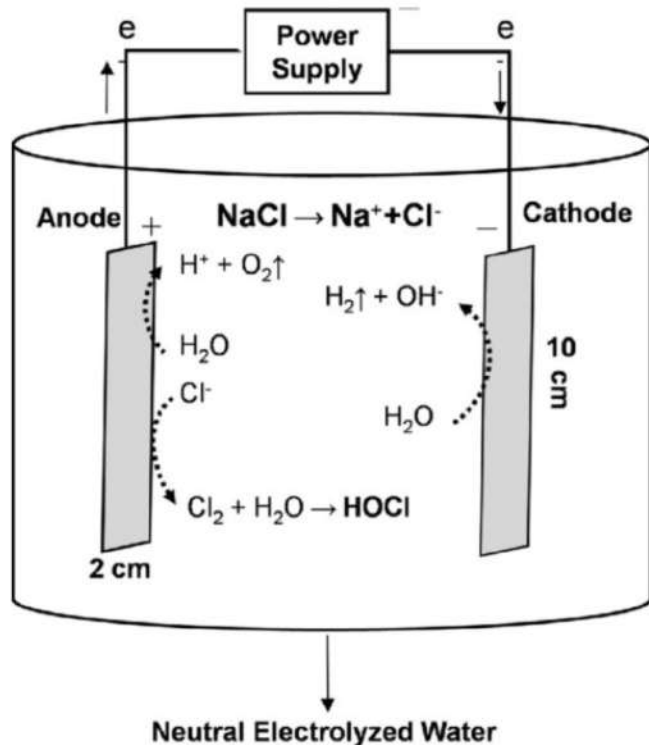


**Raramente rimuove più del 99-99,9% dei microrganismi**



# Esempio: utilizzo sperimentale di acqua elettrolizzata

- Applicazione sperimentale: immersione di carni in acqua elettrolizzata neutra (NEW) per la riduzione della carica batterica superficiale

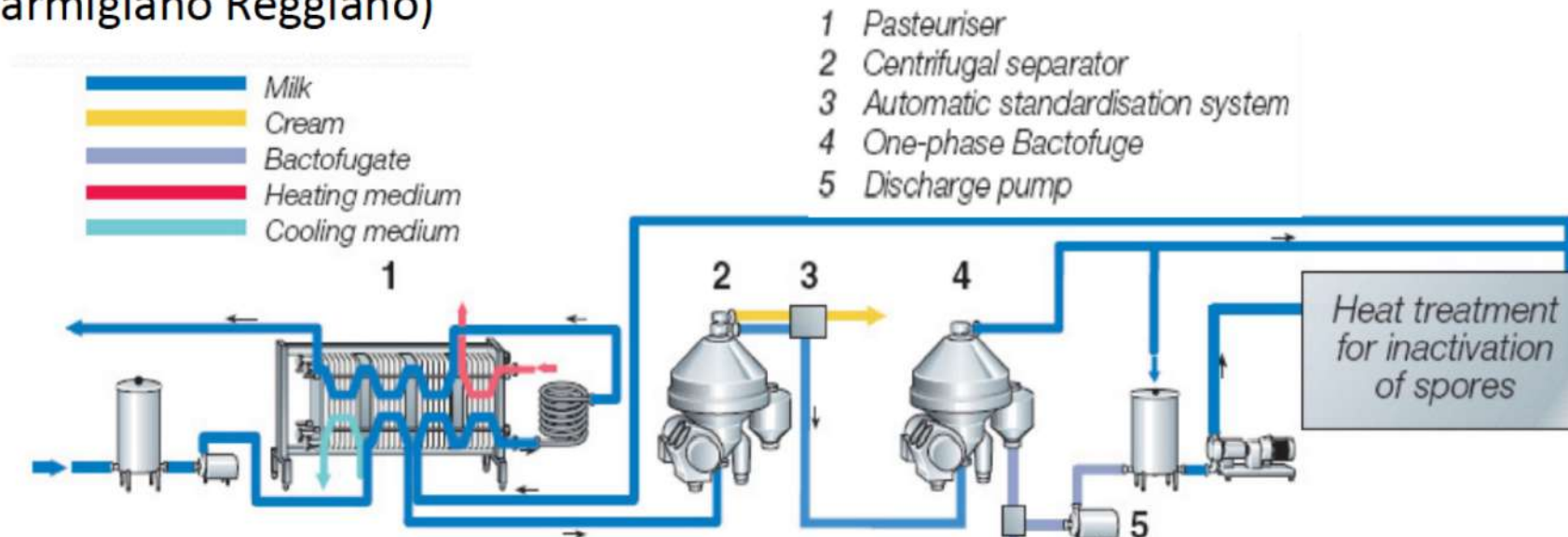


- Metodo spray-doccetta con NEW utilizzato in USA per carcasse di pollo (attività antimicrobica da cloro libero, ipoclorito): non autorizzato in UE (attualmente nessuna opinione EFSA su sicurezza)
- L'applicazione su carni bovine o mezzene non ha portato a riduzioni significative della carica superficiale ma modifiche del colore evidenti a concentrazione e tempi elevati → effetto protettivo di proteine ed umidità (essudati della carne) sulla superficie della carne

# Rimozione fisica della contaminazione

## Bactofugazione

- trattamento in centrifughe continue ad alta velocità ( $\sim 9\,000$  g/min, spesso usate in serie) rimuove fino all'80-90% dei batteri e circa il 99% delle spore dal latte.
- la crema del latte, più densa e contenente spore e batteri, può essere diluita, trattata ad alte temperature e aggiunta nuovamente al latte (non bactofugata)
- rimozione delle spore di clostridi butirrici → riduzione del rischio del gonfiore tardivo nei formaggi a lunga stagionatura
- Alternativa all'uso di lisozima (Grana Padano) o all'eliminazione degli insilati nell'alimentazione dei bovini (Parmigiano Reggiano)



## Il Calore: Il Metodo Tradizionale 🔥

L'uso del **calore** ( $> 55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) è il metodo di risanamento igienico più antico e diffuso.

**Svantaggio:** I trattamenti termici **intensi e prolungati** (necessari per la stabilità a lungo termine) causano **perdite nutrizionali** e **alterazioni significative** delle caratteristiche sensoriali (es. aspetto "cotto").



|                             | Descrizione e Obiettivo  | Target Microbico Tipico   |
|-----------------------------|--|---|
| Pastorizzazione             | Trattamento termico blando (< 100 °C spesso < 80°C per <b>inattivare patogeni non sporigeni</b> più rilevanti e ridurre i degradanti.                      | <i>Coxiella burnetii</i> (nel latte),<br><i>Listeria monocytogenes</i> ,<br><i>Salmonella</i> .               |
| Sterilizzazione Commerciale | Trattamento intenso per alimenti stabili a temperatura ambiente. Inattiva tutti i microrganismi che potrebbero crescere nelle condizioni di conservazione. | <b>Spore di <i>Clostridium botulinum</i></b> (proteolitici) + microrganismi deterioranti più termoresistenti. |
| Termizzazione               | Trattamento molto blando (effetti minori della pastorizzazione).   | Microrganismi più termosensibili e psicrotrofi.   |

Fattori di processo: trattamenti termici

## Trattamenti Termici Tradizionali: Cinetica di Morte Microbica

Quando un alimento viene sottoposto a un trattamento termico (come pastorizzazione, sterilizzazione o UHT), l'obiettivo è inattivare i microrganismi patogeni o alterativi.

Per progettare e controllare questi trattamenti, si usa un modello matematico che descrive come muoiono i microrganismi nel tempo a una data temperatura.

### Il Modello Cinetico di Bigelow e Esty

Si basa su un'osservazione sperimentale:

Durante il riscaldamento, la velocità di distruzione dei microrganismi è **proporzionale al numero di cellule vitali ancora presenti**.

In altre parole, più cellule ci sono, più ne muoiono per unità di tempo.

# Relazione tra D e Temperatura: il valore z (Costante di Resistenza Termica)

La **termoresistenza** di un microrganismo cambia con la temperatura: se la temperatura aumenta, il tempo necessario per ucciderlo diminuisce.

## Valore D (Tempo di Riduzione Decimale)

Il tempo, espresso in minuti, necessario per ridurre del 90% (o di 1 Logaritmo) la popolazione microbica a una temperatura specifica.

per *C. botulinum*:

$$D_{121^{\circ}\text{C}} = 0,2 \text{ min}$$

Questo significa che, se si mantiene una temperatura di 121 °C (la temperatura di riferimento per la sterilizzazione), occorrono 0,2 min per distruggere il 90% delle spore presenti.

## Valore Z (Costante di Resistenza Termica)

L'aumento di temperatura, espresso in °C , necessario per ridurre il valore D (o il tempo di inattivazione) di un fattore 10.

Per le spore di *C. botulinum*:

$$z = 10^{\circ}\text{C}$$

Ciò è essenziale per calcolare l'efficacia (o letalità) di trattamenti eseguiti a temperature diverse da 121 °C e ricondurli a un valore comparabile.

- **z piccolo** = il microrganismo è **molto sensibile** alla temperatura
- **z grande** = il microrganismo è **poco influenzato** dalla temperatura (più “robusto” ai cambiamenti termici)

## Confronto tra Trattamenti a Diverse Temperature

Il valore  $Z$  ci permette di stabilire l'equivalenza termica tra processi diversi. La relazione che lega la variazione del tempo di riduzione decimale ( $D$ ) al variare della temperatura ( $T$ ) è logaritmica:

$$\log \left( \frac{D}{D_{ref}} \right) = \left( \frac{T_{ref} - T}{Z} \right)$$

**$D$**  è il tempo di riduzione decimale alla temperature  $T$

**$D_{ref}$**  il tempo di riduzione decimale alla tempretatura di riferimento ( $121^{\circ}\text{C}$ )

**$z$**  l'incremento (decremento) di temperatura che causa un cambiamento di 10 volte in  $D$

conoscendo  $z$  e  $D_{ref}$  è possibile calcolare  $D$  a qualsisi temperatura

| Gruppo  | Specie/ceppo                                       | Substrato               | D     | T     | z     |
|---------|--|-------------------------|-------|-------|-------|
| Funghi  | <i>Byssochlamys nivea</i>                          | Succo d'uva             | 32    | 80    | 3,9   |
| Funghi  | <i>Talaromyces macrosporus</i>                     | Succo d'uva             | 29,6  | 85    | 4,8   |
| Funghi  | <i>Zygosaccharomyces rouxii</i>                    | Tampone citrato         | 0,039 | 60    | 3,3   |
| Batteri | <i>Salmonella</i> Typhimurium                      | Acqua                   | 3,4   | 55    | 6,99  |
| Batteri | <i>Salmonella</i> Reading                          | Acqua                   | 3,98  | 55    | 6,89  |
| Batteri | <i>Salmonella</i> Dublin                           | Acqua                   | 3,92  | 55    | 6,45  |
| Batteri | <i>Salmonella</i> Typhimurium                      | Albume                  | 0,73  | 55    | 4,7   |
| Batteri | <i>Salmonella</i> Senftenberg 775W                 | Latte al cioccolato     | 678   | 70    | 32,4  |
| Batteri | <i>Escherichia coli</i> O104:H7                    | Latte concentrato       | 23,5  | 55    | 7,9   |
| Batteri | <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>               | Latte magro             | 42,2  | 50    | 6,7   |
| Batteri | <i>Listeria monocytogenes</i>                      | Panna                   | 71,72 | 52    | 5,73  |
| Batteri | <i>Salmonella</i> Typhimurium                      | Sciroppo al cioccolato  | 1,2   | 65,6  | 6,2   |
| Batteri | <i>Escherichia coli</i> O157:H7                    | Tsb                     | 13,6  | 52    | 6,7   |
| Batteri | <i>Listeria innocua</i>                            | Tsb                     | 26,6  | 52,5  | 6,3   |
| Batteri | <i>Listeria monocytogenes</i>                      | Tsb                     | 20,1  | 52    | 7,05  |
| Batteri | <i>Salmonella</i> Typhimurium DT104                | Tuorlo                  | 9,04  | 55    | 3,7   |
| Batteri | <i>Salmonella</i> Typhimurium DT104                | Uovo intero             | 6,5   | 55    | 3,8   |
| Batteri | <i>Campylobacter jejuni</i>                        | Sol. Peptone            | 4,9   | 51    | 4,62  |
| Batteri | <i>Bacillus cereus</i> ATCC 7004                   | Acqua dist.             | 0,37  | 100   | 8     |
| Batteri | <i>Bacillus cereus</i> D17                         | Latte                   | 33,48 | 72    | 9,5   |
| Batteri | <i>Clostridium botulinum</i> 62A                   | Tampone                 | 21,69 | 100,5 | 11,21 |
| Batteri | <i>Clostridium sporogenes</i> PA 3679              | Tampone                 | 11,49 | 110,5 | 10,69 |
| Batteri | <i>Clostridium botulinum</i> tipo E                | Tampone                 | 42,8  | 85    | 7     |
| Batteri | <i>Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum</i> | Acqua                   | 11,8  | 105   | 10    |
| Batteri | <i>Geobacillus stearothermophilus</i>              | Acqua dist.             | 3,7   | 121,1 | 7,6   |
| Batteri | <i>Bacillus coagulans</i>                          | Concentrato di pomodoro | 126,2 | 75    | 9,5   |
| Batteri | <i>Bacillus coagulans</i>                          | Latte magro             | 5,8   | 90    | 9,4   |
| Batteri | <i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>            | Succo d'arancia         | 5,3   | 95    | 9,5   |



Un microrganismo ha:

$$D_{121} = 1,5 \text{ min}$$

$$z = 10^{\circ}\text{C}$$

Calcolare  $D_{111}$

$$D_{111} = 1,5 * 10^{((121-111)/10)}$$

$$1,5 * 10^1 = 15 \text{ minuti}$$

## Il richiamo dei friarielli per rischio botulino

Il Ministero ha pubblicato il richiamo precauzionale da parte del produttore di un lotto di friarielli 'broccoli alla napoletana' in olio di semi di girasole a marchio [REDACTED]. Il motivo indicato, sull'avviso di richiamo, come già accennato è la sospetta presenza di *Clostridium botulinum*. Il prodotto in questione è venduto in vasetti da 940 grammi (pari a 1.062 mL), con il numero di lotto SAP/BR/85R e il termine minimo di conservazione (TMC) 30/03/2028.



| <b>Fattore</b>                          | <b>Effetto sulla Termoresistenza (D)</b> | <b>Spiegazione</b>   |
|---|--|--|
| <b>Tipo di microrganismo</b>            | Spore > cellule vegetative               | Le spore hanno strutture protettive e metabolismo minimo         |
| <b>Gram + vs Gram -</b>                 | Gram + > Gram -                          | La parete più spessa dei Gram + offre protezione                 |
| <b>Temperatura ottimale di crescita</b> | Termofili > Mesofili                     | Adattamento strutturale delle proteine                           |
| <b>pH basso</b>                         | ↓ D                                      | Gli acidi danneggiano le membrane e aumentano la sensibilità     |
| <b>Grassi e proteine</b>                | ↑ D                                      | Effetto protettivo: rallentano la trasmissione del calore        |
| <b>basso <i>aw</i></b>                  | spesso ↑ D                               | Minor acqua disponibile → denaturazione proteica più difficile   |
| <b>Stress o adattamento (HSP)</b>       | ↑ D                                      | Le <b>Heat Shock Proteins</b> stabilizzano le proteine cellulari |

# Trattamenti Termici Innovativi (MO, RF, Ohmico)

Queste tecnologie utilizzano l'energia elettromagnetica o elettrica per un riscaldamento **rapido e volumetrico**, riducendo il tempo di processo e migliorando la qualità.

| Trattamento                                      | Meccanismo di Riscaldamento  | Vantaggi Principali   | Svantaggi  |
|--|--|---|--|
| <b>Microonde (MO) /<br/>Radio Frequenza (RF)</b> | Ri-orientamento dei dipoli (acqua) e movimento ionico (conversione in calore).     | Riscaldamento <b>rapido</b> , applicabile a <b>prodotti confezionati</b> .                      | <b>Disuniformità</b> dei profili di temperatura (zone fredde) e <b>alti costi</b> di investimento. |
| <b>Riscaldamento Ohmico (RO)</b>                 | Effetto Joule (passaggio di corrente elettrica alternata) che riscalda la matrice. | Riscaldamento <b>molto rapido e uniforme</b> (buono per matrici eterogenee: solidi in liquidi). | <b>Disomogeneità</b> in matrici complesse. Possibile meccanismo non-termico (elettroporazione).    |

Mentre il calore garantisce l'eliminazione dei pericoli microbici, la sua intensità può **diminuire significativamente la percezione di "freschezza"** e ridurre il contenuto di vitamine e composti bioattivi. Questo ha reso necessari gli approcci innovativi.

## **Trattamenti Non Termici (NTP)**

I trattamenti NTP permettono di raggiungere livelli di sicurezza equivalenti alla pastorizzazione **mantenendo la maggior parte delle proprietà organolettiche e nutrizionali** intatte. Questo è particolarmente apprezzato per succhi di frutta e prodotti *Ready-to-Eat*.

## **Trattamento Innovativo**

Alta Pressione Idrostatica (HHP)

Radiazioni (Luce Pulsata, UV-C)

Campi Elettrici Pulsati (PEF)

Plasma Freddo (PF)

Ultrasuoni (US)

CO<sub>2</sub> ad Alta Pressione (HPCD)



# Trattamenti ad Alte Pressioni (HHP / UHP)

L'**Alta Pressione Idrostatica** (in inglese *High Hydrostatic Pressure* o *High Pressure Processing*) è una **tecnologia di conservazione non termica** che utilizza **pressioni molto elevate** — tipicamente tra **100 e 600 MPa** (fino a 6000 volte la pressione atmosferica)

È considerata una **tecnologia “minimamente invasiva”**, perché mantiene pressoché **inalterate le caratteristiche sensoriali, nutritive e fresche** dell'alimento (per questo si parla di “*fresh-like products*”).

# Principio di Funzionamento: Principio di Pascal

Secondo il **Principio di Pascal**, quando si applica una pressione a un fluido **incomprimibile** (come l'acqua), questa **si trasmette in modo uniforme e istantaneo** in tutte le direzioni e in ogni punto del sistema.

## Conseguenza pratica:

- Tutte le parti dell'alimento ricevono **la stessa pressione nello stesso istante**, indipendentemente da forma o dimensioni.
- Il trattamento è quindi **uniforme e isotropo**: non ci sono zone “più trattate” o “meno trattate”.

L'alimento (solitamente confezionato sottovuoto o in contenitori flessibili) viene posto in una **camera di pressione** piena d'acqua.

Si applica una **pressione molto alta** (da 300 a 600 MPa, o oltre).

Il trattamento dura pochi **secondi o minuti**.

Quando la pressione è rilasciata, il prodotto torna alla sua forma e volume iniziali.

Durante la compressione, la temperatura aumenta leggermente (circa **3–5°C ogni 100 MPa**), ma non abbastanza da causare effetti termici significativi.

**Fattori di processo: trattamenti non termici**

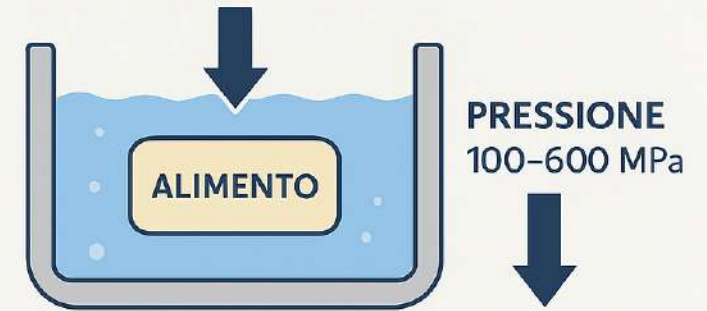
## TRATTAMENTI AD ALTE PRESSIONI (HHP/UHP)



### PRINCIPIO

Basato sul Principio di Pascal  
La pressione si trasmette istantaneamente e uniformemente

### CAMERA DI PRESSIONE



### MECCANISMO DI INATTIVAZIONE

- Danno a macromolecole essenziali (proteine, ribosomi, membrane)
- Abbassamento del pH intracellulare



### SENSIBILITÀ

- Funghi e lieviti > Batteri Gram-negativi
- Batteri Gram-positivi



## **Meccanismo di Inattivazione Microbica**

L'alta pressione non rompe legami covalenti (quindi non altera le molecole piccole come vitamine, aromi, zuccheri), ma disgrega le strutture deboli (come legami idrogeno o interazioni idrofobiche) nelle macromolecole biologiche.

### **1.Membrane cellulari**

La pressione altera la permeabilità e fluidità delle membrane, causando perdita di ioni, nutrienti e disorganizzazione strutturale.

Le cellule perdono la capacità di controllare il proprio equilibrio interno → morte cellulare.

### **2.Proteine e enzimi**

La pressione può denaturare le proteine e inattivare enzimi essenziali per il metabolismo microbico.

### **3.Ribosomi e sintesi proteica**

I ribosomi vengono destabilizzati, interrompendo la sintesi di nuove proteine.

### **4.pH intracellulare**

Si osserva un abbassamento del pH interno dovuto a spostamenti di ioni e alterazione delle membrane. Risultato finale: inattivazione delle cellule vegetative (batteri, lieviti, muffe) con minimo impatto sulla qualità dell'alimento.

**Fattori di processo: trattamenti non termici**

## Sensibilità dei Microrganismi alla Pressione

Non tutti i microrganismi rispondono allo stesso modo.

L'ordine di **sensibilità decrescente** è:

- Funghi e lieviti > Batteri Gram-negativi > Batteri Gram-positivi > Endospore
- **Gram-negativi** (es. *E. coli*, *Salmonella*) → più sensibili per la membrana esterna fragile.
- **Gram-positivi** (es. *Listeria*, *Staphylococcus*) → più resistenti grazie alla parete spessa.
- **Endospore batteriche** (es. *Bacillus*, *Clostridium*) → **estremamente resistenti**, quasi inattaccabili a pressioni < 700 MPa.

## **Vantaggio**

**Trattamento uniforme**

**Processo istantaneo**

**Nessuna cottura**

**Conservazione “fresh-like”**

**Applicabile a prodotti confezionati**

**Assenza di residui chimici**

## **Spiegazione**

Grazie al principio di Pascal, ogni punto del prodotto riceve la stessa pressione

Non richiede tempo di trasmissione del calore

Le proprietà sensoriali (colore, sapore, vitamine) restano intatte

Aspetto e gusto simili al prodotto fresco

Si può trattare il prodotto già nel suo imballaggio finale

Metodo puramente fisico

## **Limite**

Inefficace sulle **endospore**

**Costo elevato** delle apparecchiature

Non adatto a **prodotti porosi o molto rigidi**

Possibili **modifiche enzimatiche o proteiche** indesiderate

## **Conseguenza**

Richiede combinazione con calore o conservanti

Limita l'uso su larga scala

La pressione può deformarli

In alcuni casi alterazioni di consistenza o colore



# High Pressure Processing under Mild Conditions for Bacterial Mitigation and Shelf Life Extension of European Sea Bass Fillets

Maria Tsevdou <sup>1,\*</sup> , George Dimopoulos <sup>1</sup> , Athanasios Limnaios <sup>1</sup>, Ioanna Semenoglou <sup>1</sup> ,  
Theofania Tsironi <sup>2</sup>  and Petros Taoukis <sup>1</sup> 



## **Prolungamento della Shelf Life (Conservabilità):**

Pressioni Lievi (100 MPa): Hanno prolungato la shelf life dei filetti conservati a 0 °C da 1 a 5 giorni.

Pressioni Più Alte (200-400 MPa): Hanno portato a un aumento della shelf life fino a 5 volte rispetto al controllo, con l'effetto dipendente dalla pressione e dalla temperatura di trattamento.

L'HHP è risultato efficace nell'inattivazione della microflora di deterioramento

Il trattamento ad alta pressione ha prevenuto l'ossidazione lipidica (irrancidimento)

## **Inattivazione con Radiazioni**

L'inattivazione con radiazioni è una tecnologia di conservazione fisica che sfrutta l'energia delle radiazioni ionizzanti o non ionizzanti per danneggiare il materiale genetico (DNA o RNA) dei microrganismi, impedendo loro di crescere o riprodursi.

È una tecnica chiamata anche “irradiation” o “food irradiation”, approvata e regolamentata in molti Paesi per la sicurezza alimentare.



## Tipi di radiazioni

### 1. Radiazioni non ionizzanti

Esempio: luce UV-C (lunghezza d'onda  $\approx 254$  nm)

Azione: danneggia direttamente il DNA, che bloccano la replicazione cellulare.

Limite: scarsa capacità di penetrazione → efficace solo per superfici o liquidi trasparenti (es. acqua, aria, superfici di alimenti).

### 2. Radiazioni ionizzanti

Tipi principali:

Raggi  $\gamma$  (gamma): emessi da isotopi radioattivi (es. Cobalto-60, Cesio-137)

Raggi X: prodotti artificialmente da acceleratori di elettroni

Elettroni accelerati (e-beam): fasci di elettroni ad alta energia

Tutte queste radiazioni hanno energia sufficiente per ionizzare le molecole (cioè rimuovere elettroni dagli atomi), provocando rotture chimiche nelle cellule microbiche.



## **Vantaggio**

**Efficace a basse temperature**

**Buona penetrazione**

**Trattamento uniforme**

**Assenza di residui chimici**

**Può sostituire conservanti chimici  
o fumiganti**

## **Descrizione**

Può essere usata anche su alimenti  
**congelati**, evitando danni termici

I raggi  $\gamma$  e X attraversano il prodotto,  
anche confezionato

L'energia si distribuisce  
omogeneamente

Metodo fisico, non lascia sostanze  
tossiche

Es. per disinfestazione da insetti



## **! Limite / Svantaggio**

**Scarsa efficacia sulle spore batteriche**

**Non inattiva tossine o enzimi**

**Effetti su consistenza o colore**

**Percezione negativa del consumatore**

**Dosi limitate per legge**

## **💡 Conseguenza**

Le spore richiedono dosi molto alte ( $>10$  kGy), non sempre ammesse

Se le tossine sono già presenti, non vengono neutralizzate

Alte dosi possono alterare lipidi, aromi o pigmenti

“Cibo irradiato” può essere frainteso come “radioattivo” (ma non lo è!)

Dose massima permessa in UE  $\approx 10$  kGy



## Applicazioni pratiche

- **Carni e pollame crudi** → riduzione patogeni (*Salmonella*, *Campylobacter*)
- **Spezie e erbe aromatiche** → sterilizzazione microbica
- **Frutta e verdura fresche** → ritardo della maturazione e prevenzione di muffe
- **Prodotti confezionati** → disinfezione senza aprire la confezione
- **Grani e cereali** → controllo di insetti e parassiti

## **Radiazioni Non Ionizzanti (UV-C e Luce Pulsata)**

Le radiazioni non ionizzanti sono forme di energia elettromagnetica che non possiedono energia sufficiente per ionizzare (cioè strappare elettroni agli atomi), ma possono comunque danneggiare le cellule microbiche, in particolare il DNA.

Sono utilizzate come trattamenti non termici per la disinfezione e la decontaminazione superficiale degli alimenti e dei materiali.

Fattori di processo: trattamenti non termici





## UV-C (ultravioletto germicida)

- **Lunghezza d'onda efficace:** 200–280 nm (massima a 254 nm)

lampade a mercurio o LED UV-C

Distorgono la doppia elica del DNA,  
Impediscono la **replicazione** e la **trascrizione**.  
Portano alla **morte o inattivazione** del microrganismo.



## **Ambito**

**Superfici alimentari**

**Aria e ambienti**

**Acqua**

**Frutta e verdura**

**Materiali di confezionamento**

## **Esempio di utilizzo**

Disinfezione di nastri trasportatori,  
tavoli, utensili, linee di produzione

Sterilizzazione di sale di lavorazione o  
camere bianche

Trattamento microbiologico dell'acqua  
potabile o di processo

Decontaminazione superficiale senza  
alterare il prodotto

Disinfezione di bottiglie, tappi, film  
plastici

# **Trattamenti Fisici Innovativi (NTP)**

## ⚡ Campi Elettrici Pulsati (PEF – *Pulsed Electric Fields*)

Il PEF è una tecnologia non termica utilizzata per inattivare i microrganismi presenti negli alimenti liquidi (come succhi, latte, albume, zuppe, ecc.), senza ricorrere al calore elevato.

È particolarmente utile per prodotti termosensibili, cioè che perderebbero qualità se riscaldati.

# Principio di funzionamento



Il prodotto alimentare (di solito liquido o semi-liquido) viene fatto passare tra due elettrodi metallici.

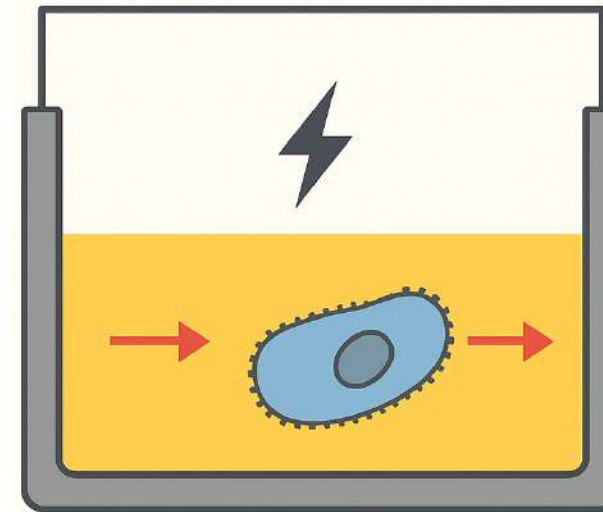
Tra gli elettrodi viene applicato un campo elettrico molto intenso, ma per tempi brevissimi:

Intensita': 15–50 kV/cm

Durata: pochi  $\mu$ s o ms

L'alimento viene quindi sottoposto a una serie di impulsi elettrici ad alta tensione, ma senza generare un riscaldamento significativo (solo un lieve aumento di temperatura).

## CAMPI ELETTRICI PULSATI (PEF)



- ✓ Trattamento non termico
- ✓ Applicabile a prodotti termosensibili
- ✓ Riscaldamento minimo
- ✓ Tempo di processo molto breve

ELETTROPORAZIONE

**Fattori di processo: trattamenti innovativi**



Il principale effetto del PEF è la **disorganizzazione della membrana cellulare** dei microrganismi.

Questo avviene tramite un fenomeno chiamato elettroporazione:

**Applicazione del campo elettrico** → il potenziale elettrico attraverso la membrana cellulare aumenta.

**Soglia critica** ( $\sim 1$  V) → si formano pori transitori o permanenti nella membrana lipidica.

Se il campo è sufficientemente intenso o prolungato → i pori diventano irreversibili → la cellula perde il contenuto interno e muore.

In sintesi: **il PEF rompe la membrana cellulare → perdita di integrità → morte cellulare.**

Questo meccanismo è particolarmente efficace sulle cellule vegetative (batteri, lieviti, muffe), ma non sulle spore, che hanno pareti molto resistenti e strutture protettive.



## **Vantaggio**

**Trattamento non termico**

**Applicabile a prodotti termosensibili**

**Riscaldamento minimo**

**Tempo di processo molto breve**

**Efficienza energetica**

## **Spiegazione**

Mantiene inalterate vitamine, aromi e colore

Es. succhi di frutta, latte, albume, smoothie

L'aumento di temperatura è solo di pochi gradi

Impulsi di microsecondi → processo continuo e veloce

Minori consumi rispetto a trattamenti termici equivalenti





## **Limite**

**Inefficace contro spore**

**Adatto solo a prodotti liquidi**

**Scarsa efficacia se usato da solo**

**Attrezzature costose e complesse**

**Eventuale formazione di bolle o schiuma**

## **Spiegazione**

Le spore richiedono combinazione con calore (50–100 °C) o altri fattori

L'alimento deve condurre elettricità e avere flusso omogeneo

Necessaria sinergia con calore, pH basso o antimicrobici

Richiede generatori di alta tensione e elettrodi resistenti

In liquidi con aria residua



## Applicazioni

- **Succhi di frutta** (arancia, mela, pomodoro): prolungamento shelf-life e mantenimento del colore naturale
- **Latte e derivati liquidi**: riduzione carica microbica senza sapore di cotto
- **Uova liquide (albume/tuorlo)**: mantenimento delle proprietà funzionali (montabilità, coagulazione)
- **Bevande vegetali** (soia, avena): stabilizzazione microbica e conservazione del gusto

# Influence of High-Frequency, Low-Voltage Alternating Electric Fields on Biofilm Development Processes of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*

Patthranit Kunlasubpreedee <sup>1</sup>, Tomohiro Tobino <sup>1,2,3,\*</sup> and Fumiyuki Nakajima <sup>1,3</sup> 

**Inibizione dell'Adesione e della Crescita:** Il trattamento ha ridotto il numero di cellule adese in entrambe le fasi studiate (adesione iniziale - stadio 1 e sviluppo precoce - stadio 2). Questa riduzione è stata attribuita a un effetto inibitorio sulla crescita batterica.

**Induzione del Distacco** (Stadio Iniziale): I campi elettrici alternati hanno attivato il distacco delle cellule dopo la fase di adesione iniziale (stadio 1).



Il plasma atmosferico freddo è una tecnologia non termica che utilizza gas ionizzati per inattivare microrganismi e ridurre contaminanti chimici sulle superfici alimentari, senza riscaldare il prodotto.

È particolarmente utile per alimenti secchi o termosensibili, che non possono essere trattati con calore o acqua (es. spezie, frutta secca, cereali).

## 2. Plasma Atmosferico Freddo (CAP)



### Meccanismo

Danni fisici e chimici alla superficie cellulare

### Applicazione

Decontaminazione superficiale di prodotti secchi

### Vantaggi

- Breve durata
- Bassa temperatura
- Riduzione aflatossine
- Tecnologia emergente



Il **plasma** è considerato il “**quarto stato della materia**”, insieme a solido, liquido e gas.

Si ottiene quando un gas (es. aria, ossigeno, azoto, elio, argon) viene sottoposto a un campo elettrico ad alta tensione, che ne provoca la ionizzazione parziale.

Questo genera una miscela complessa di particelle attive:

- Elettroni liberi e ioni
- Specie reattive dell'ossigeno (ROS)  $\rightarrow \text{O}\cdot, \text{O}_2^-, \text{O}_3, \text{OH}\cdot$
- Specie reattive dell'azoto (RNS)  $\rightarrow \text{NO}\cdot, \text{NO}_2\cdot, \text{N}_2\text{O}_5$
- Radiazioni UV
- Campi elettrici locali


Tutti questi componenti insieme creano un effetto sinergico e letale sui microrganismi.

# Il plasma agisce con diversi meccanismi contemporaneamente:



## Effetto

 **Elettrico**

 **Chimico (ROS/RNS)**

 **Fisico**

 **Fotochimico (UV)**

## Descrizione

Il campo elettrico altera la membrana cellulare (simile al PEF).

Le specie reattive ossidano lipidi, proteine e DNA → danno irreversibile.

Urti di ioni e radicali danneggiano la parete cellulare.

Le radiazioni UV generano dimeri di timina e rotture nel DNA.



## **Vantaggio**

**Trattamento rapido**

**Bassa temperatura**

**Efficace su superfici complesse**

**Riduzione aflatossine**

**Nessun residuo chimico**

## **Descrizione**

Effetto in pochi secondi o minuti

Nessuna cottura o alterazione sensoriale

Può trattare forme irregolari o porose

Le specie reattive ossidano e degradano tossine

Dopo il trattamento, il plasma si “ricompone” in aria normale





## **Limite**

**Basso potere penetrante**

**Tecnologia ancora giovane**

**Costo elevato**

**Effetti su qualità da studiare**

## **Descrizione**

Agisce solo sulla superficie, non in profondità

Manca standardizzazione industriale e regolamentazione completa

Apparecchiature e generazione di plasma ancora costose

Possibili variazioni nel colore o antiossidanti di superficie



**Settore alimentare**

**Spezie e condimenti**

**Frutta secca e semi**

**Cereali e farine**

**Frutta fresca e verdura**

**Imballaggi e superfici**

**Esempi di uso pratico**

Riduzione carica microbica e di spore senza alterare aroma

Decontaminazione superficiale da muffe e aflatossine

Riduzione micotossine e agenti patogeni superficiali

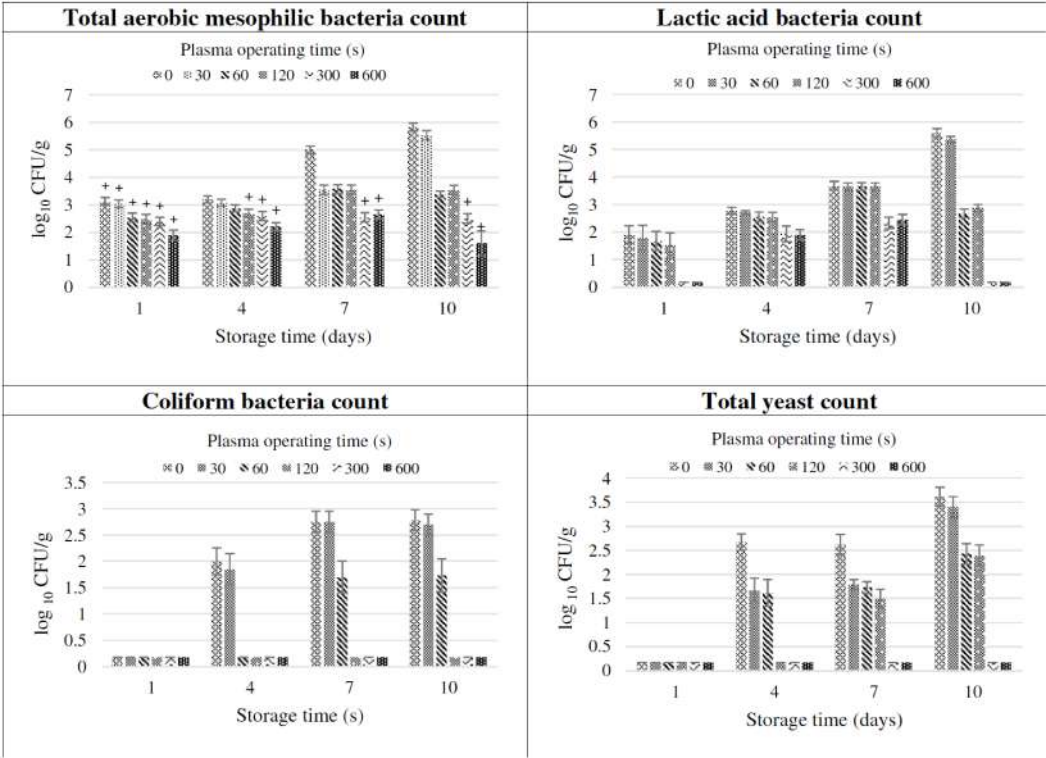
Sanitizzazione superficiale, prolungamento shelf-life

Sterilizzazione senza calore o umidità

OPEN

# Possibility to extend the shelf life of NFC tomato juice using cold atmospheric pressure plasma

Agnieszka Starek<sup>1</sup>, Agnieszka Sagan<sup>1</sup>, Dariusz Andrejko<sup>1</sup>, Barbara Chudzik<sup>2</sup>, Zbigniew Kobus<sup>3</sup>, Michał Kwiatkowski<sup>4</sup>, Piotr Terebun<sup>4</sup> & Joanna Pawłat<sup>4</sup>



**Elevato Potenziale di Decontaminazione:** Il CAP generato ha mostrato un alto potenziale per la decontaminazione microbica del succo di pomodoro.

**Minime Alterazioni Fisico-Chimiche:** Il trattamento non ha indotto cambiamenti sostanziali nelle proprietà fisico-chimiche del succo.

**Struttura Integre:** L'analisi al microscopio digitale ha rivelato che i campioni esposti al CAP mantengono una struttura per lo più intatta.



## Ultrasuoni (US – *Ultrasound*)

Gli ultrasuoni sono onde sonore ad alta frequenza (tipicamente  $> 20$  kHz, oltre la soglia dell'udito umano).

Nel settore alimentare si utilizzano ultrasuoni ad alta intensità (fino a centinaia di watt/cm<sup>2</sup>) per sfruttare gli effetti meccanici e termici localizzati che producono nell'alimento.



## Meccanismo di inattivazione

L'effetto principale è meccanico, dovuto al fenomeno della cavitazione acustica:

L'onda ultrasonica attraversa il liquido → si formano microbolle di vapore (cavitazione).

Le bolle crescono e collassano violentemente → generano:

1. onde d'urto e microcorrenti,
2. forti gradienti di pressione e temperatura (fino a migliaia di °C localizzati per microsecondi).

Questo produce:

1. danni meccanici alla membrana cellulare,
2. disorganizzazione strutturale,
3. denaturazione enzimatica locale.

Il risultato è un effetto letale moderato, ma utile come coadiuvante di altri trattamenti.

**Fattori di processo: trattamenti innovativi**



**Tipo di cellula**

**Gram-negativi**

**Gram-positivi**

**Spore**

**Sensibilità agli ultrasuoni**

- ◆ Più sensibili (parete sottile, membrana fragile)
- ◆ Più resistenti (parete spessa e rigida)
- ▲ Molto resistenti (necessario calore o pressione combinata)



## **Applicazione**

**Sanificazione superfici e strumenti**

**Inattivazione microbica combinata**

**Estrazione o miscelazione**

**Homogenizzazione e degassaggio**

## **Descrizione**

Cavitazione aumenta l'efficacia dei detergenti o disinfettanti

Ultrasuoni + calore blando → effetto sinergico

Favoriscono la rottura cellulare e il rilascio di sostanze bioattive

Migliorano la stabilità di emulsioni e liquidi





## Influence of Low-Frequency Ultrasound on the Disintegration of Coliform and Fecal Coliform Bacteria

Eliza Hawrylik<sup>1\*</sup>, Andrzej Butarewicz<sup>1</sup>

Valutare l'efficacia della disintegrazione a ultrasuoni contro i coliformi totali e i coliformi fecali nelle acque reflue trattate, al fine di migliorarne la qualità sanitaria prima dello scarico.

Nella maggior parte dei casi analizzati, la sonicazione di 25 minuti ha ridotto il numero dei microrganismi testati di oltre il 90% rispetto al campione di controllo.

# CO<sub>2</sub> ad Alta Pressione (HPCD – *High Pressure Carbon Dioxide*)



L'HPCD sfrutta le proprietà fisico-chimiche della CO<sub>2</sub> pressurizzata (in forma subcritica o supercritica) per inattivare microrganismi o estrarre composti.

- **CO<sub>2</sub> subcritica** →  $< 31^{\circ}\text{C}$  e  $< 73.8$  bar
- **CO<sub>2</sub> supercritica** →  $> 31^{\circ}\text{C}$  e  $> 73.8$  bar (stato intermedio tra gas e liquido)

In queste condizioni, la CO<sub>2</sub> penetra facilmente nelle cellule e modifica profondamente l'ambiente intracellulare.



**Diffusione nella membrana cellulare** → la  $\text{CO}_2$  si dissolve nei lipidi della membrana, aumentandone la permeabilità.

**Acidificazione del citoplasma** → formazione di acido carbonico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) che abbassa il pH intracellulare.

**Inibizione enzimatica e denaturazione proteica** → interferenza con metabolismo e funzioni vitali.

Espansione meccanica al rilascio di pressione → **rottura della cellula** (effetto “shock di decompressione”).



## **Uso**

**Estrazione di composti  
bioattivi**

**Decontaminazione microbica**

**Inattivazione enzimatica**

**Rimozione solventi o  
ossigeno**

## **Descrizione**

Applicazione più comune →  
oli essenziali, aromi,  
antiossidanti

Riduzione carica di batteri e  
lieviti in liquidi o solidi porosi

In succhi o bevande

Migliora stabilità e shelf-life



## **Limite**

**Inattivazione lenta**

**Efficacia limitata sulle spore**

**Richiede apparecchiature costose**

**Sensibile a composizione del prodotto**

## **Descrizione**

Occorrono  $> 60$  minuti per riduzioni elevate

Le spore restano vitali anche a 100 bar

Compressione e sicurezza ad alta pressione

Grassi e proteine proteggono i microrganismi

| Trattamento                                    | Meccanismo di Inattivazione   | Target Cellulari Principali  |
|--|---|--|
| <b>Alta Pressione Idrostatica (HHP)</b>        | Sfrutta i principi di <b>Pascal</b>   | <b>Danneggiamento meccanico della membrana</b> , deformazione della parete, inattivazione delle <b>proteine funzionali</b> . |
| <b>Radiazioni</b> (Luce Pulsata, UV-C)         | <b>Danno al DNA/RNA</b> (formazione di dimeri di pirimidina) che <b>impedisce la replicazione</b> .                                   | Microrganismi presenti su <b>superfici</b> e in <b>liquidi trasparenti</b> .   |
| <b>Campi Elettrici Pulsati (PEF)</b>           | Applicazione di <b>campi elettrici ad alta intensità</b> .  | Induzione di <b>elettroporazione</b> e conseguente collasso delle <b>membrane cellulari</b> .                                |
| <b>Plasma Freddo (PF)</b>                      | Generazione di <b>gas ionizzato</b> (RONS e UV).  | Esposizione a <b>Specie Reattive dell'Ossigeno e Azoto (RONS)</b> e <b>radiazioni UV</b> .                                   |
| <b>Ultrasuoni (US)</b>                         | <b>Cavitazione</b> (formazione e collasso di microbolle) che genera <b>forze meccaniche di taglio e calore localizzato</b> .          | Inattivazione di spore e cellule vegetative in liquidi (in sinergia con calore blando).                                      |
| <b>CO<sub>2</sub> ad Alta Pressione (HPCD)</b> | <b>Solubilizzazione delle membrane cellulari</b> e <b>acidificazione del citoplasma</b> dovuta alla <b>CO<sub>2</sub> disciolta</b> . | <b>Sterilizzazione di polveri</b> alimentari o semi-solidi (uso limitato).   |

**Fattori  
intrinseci**

pH  
Attività dell'acqua ( $a_w$ )  
Potenziale redox  
Composizione chimica e struttura dell'alimento  
Ossigeno  
Antimicrobici naturali

**Fattori  
estrinseci**

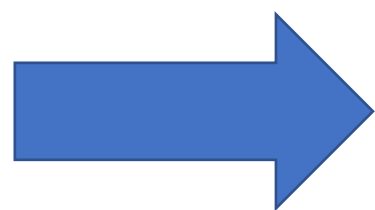
Temperatura  
Umidità relativa

**Fattori  
di processo**

Trattamenti termici  
Trattamenti innovativi non termici  
Packaging tradizionali e innovativi

**Fattori  
impliciti**

Mutualismo  
Competizione  
Commensalismo  
Amensalismo





# **Fattori Impliciti: Interazioni Microbiche negli Alimenti**

**I Fattori Impliciti** sono il risultato delle **interazioni dinamiche** (sinergiche o antagonistiche) tra le diverse popolazioni microbiche che colonizzano un alimento, definite dalla combinazione dei fattori intrinseci, estrinseci e di processo.

## Tipo di Interazione

## Meccanismo

## Esempio

### Competizione

**Competizione per Risorse:** Contesa per nutrienti (es. zuccheri) o per spazio (siti di adesione).

Microrganismi con elevato potenziale metabolico esauriscono rapidamente le fonti nutritive, inibendo altre specie.

### Amensalismo

**Produzione di Antimicrobici:** Accumulo di metaboliti che inibiscono altre popolazioni.

Batteri lattici e acetici producono acidi organici. Lieviti producono etanolo. Alcuni batteri producono batteriocine.

## **Tipo di Interazione**

## **Definizione**

## **Meccanismo Esemplare**

### **Commensalismo**

Un microrganismo trae vantaggio dai prodotti del metabolismo di un altro, senza arrecare danno o vantaggio al secondo.

Un batterio utilizza un composto proteico parzialmente degradato da un altro microrganismo, che non ne trae beneficio.

### **Mutualismo**

Un'associazione in cui entrambe le specie traggono un vantaggio reciproco dal rapporto.

**Protocooperazione:** Forma di mutualismo in cui le specie non sono in diretto contatto, ma si scambiano metaboliti essenziali.

## Proto cooperazione (Yogurt)

L'interazione sinergica tra le colture starter è essenziale per la qualità e la velocità della fermentazione:

- *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*: Libera peptidi e amminoacidi essenziali.

- *Streptococcus thermophilus*: Utilizza questi composti e, in cambio, produce **acido folico**, **acido formico** e **CO<sub>2</sub>** che stimolano la crescita e il metabolismo del bacillo.

Relazioni simili si verificano tra lieviti e batteri lattici nelle **paste acide (sourdough)**.