

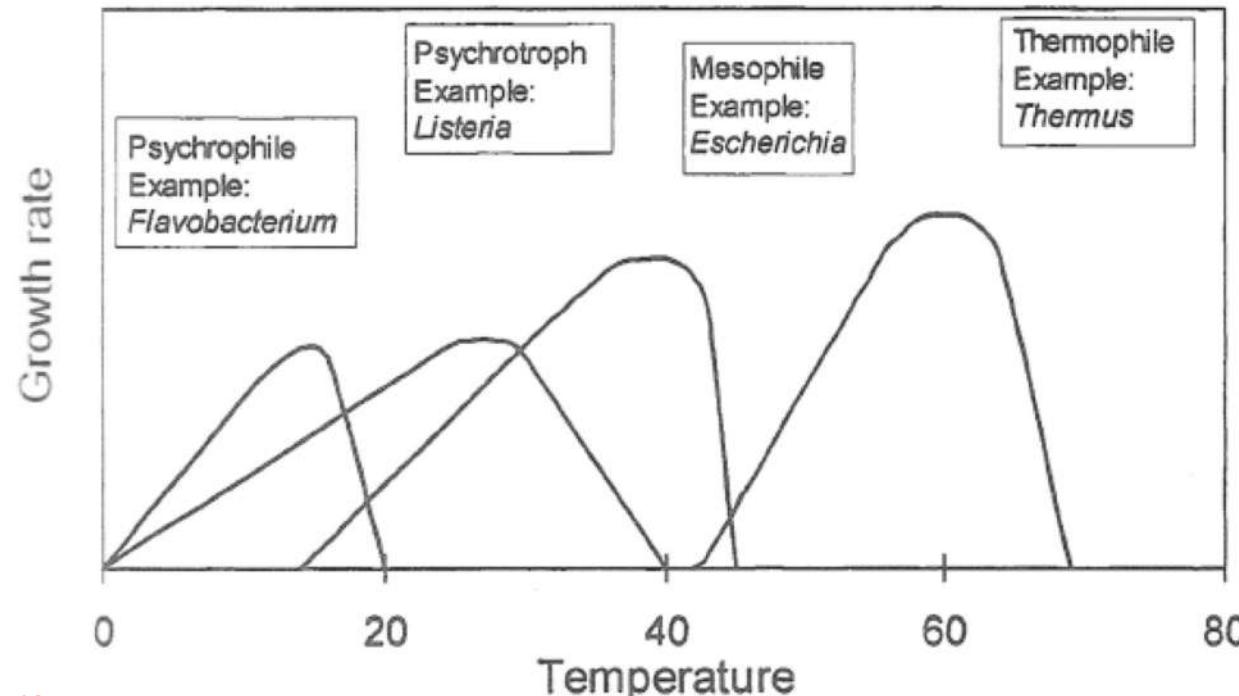
Fattori estrinseci che influenzano lo sviluppo micробico negli alimenti e le misure di controllo

AMBIENTALI	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

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.





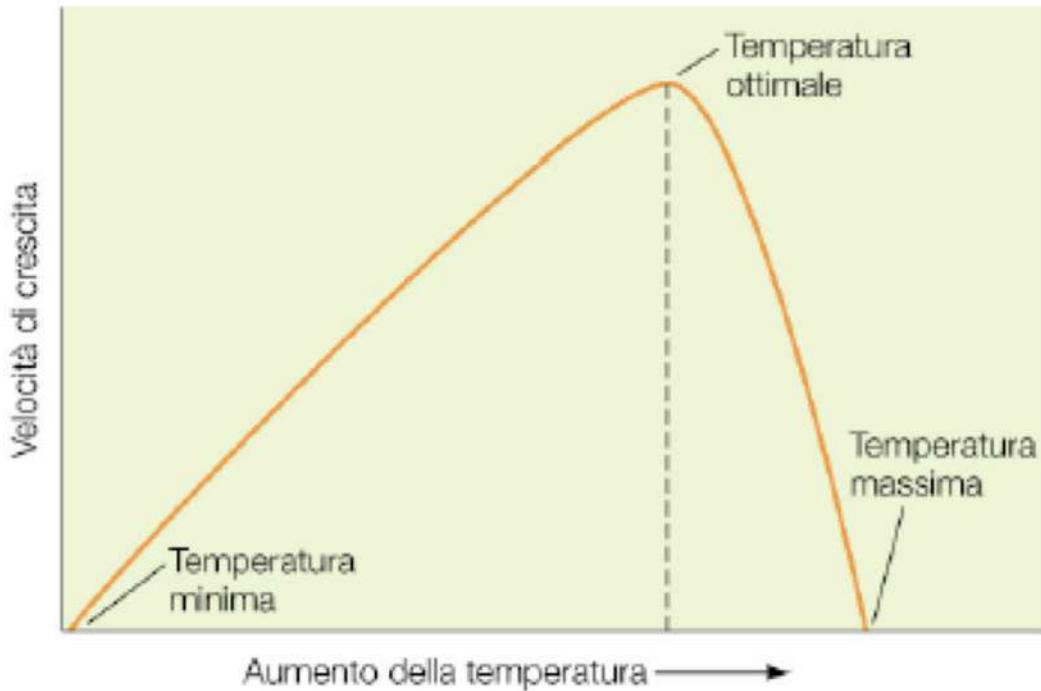
Categoria	Range (°C)	T_opt (°C)	Rilevanza per Alimenti
Psicrofili	-15 +20	15	Specie che crescono in ambienti freddi (es. mari artici).
Psicrotrofi	-5 +30	25	Principali agenti di deterioramento negli alimenti refrigerati.
Mesofili	+5 +40	35	Molti patogeni e alteranti
Termofili	+35 +50	45	Microrganismi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



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

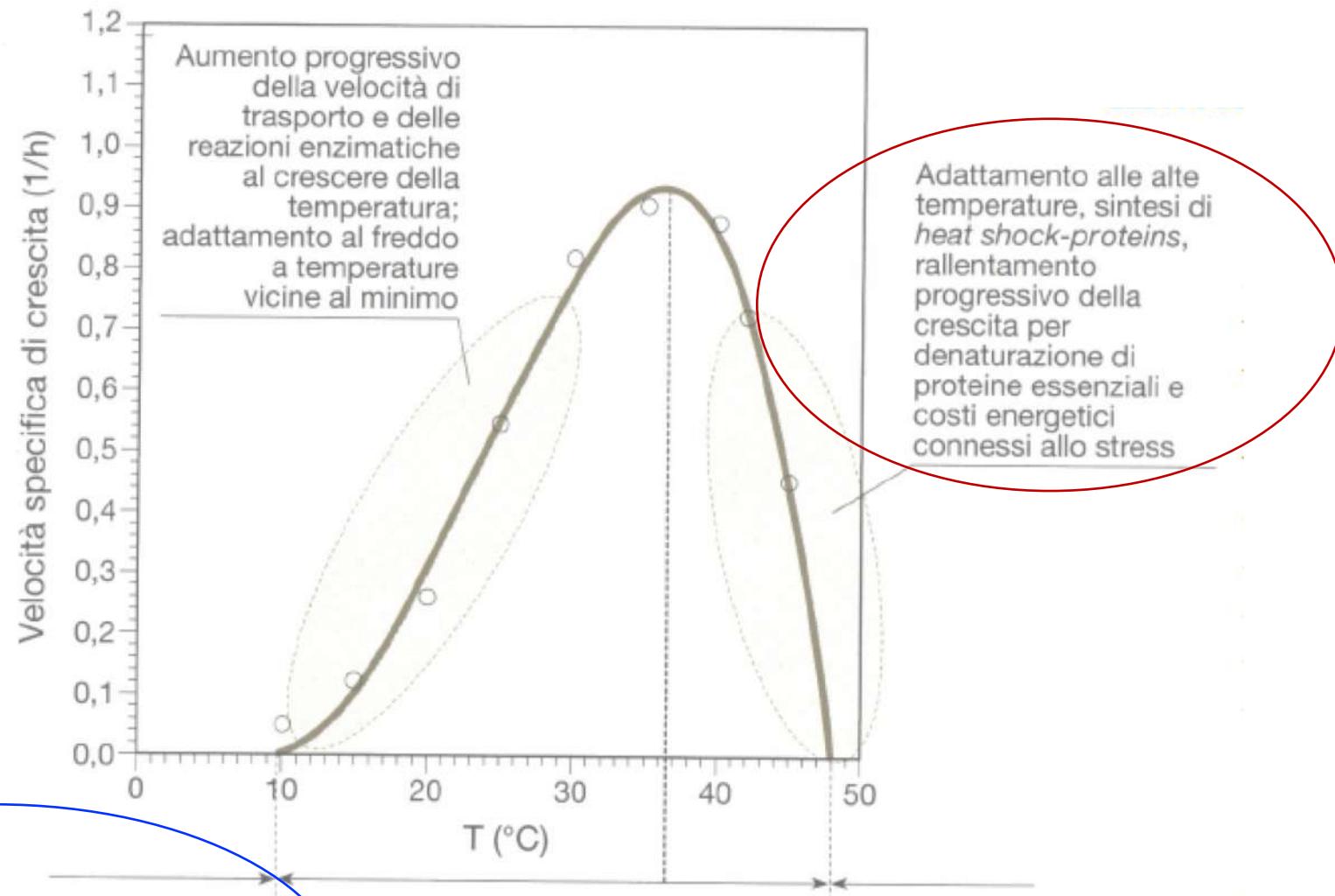


Velocità di Crescita Massima (μ_{\max})



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

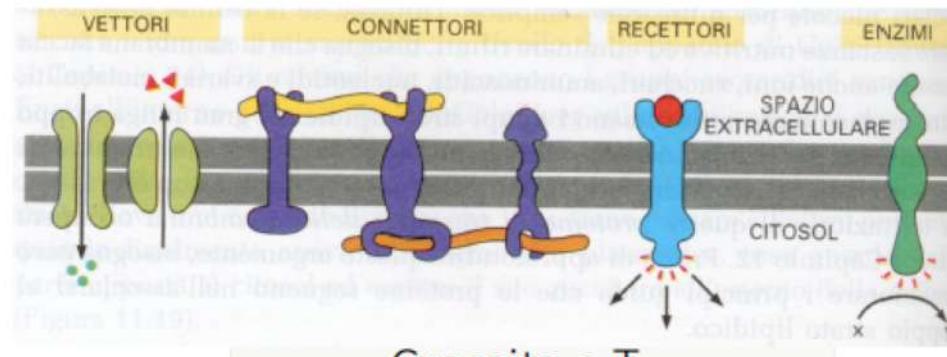
In particolare, nella "zona di pericolo" (tra i 20 e i 40 °C), la crescita batterica è estremamente rapida. Un esempio notevole è il *Clostridium perfringens*, che può avere un tempo di duplicazione di circa 10 minuti a temperature ottimali.



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

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

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



Crescita a T_{ott}
Membrana: fluida, integra



Crescita a $T < T_{ott}$
Gelificazione della
membrana

Crescita a $T > T_{ott}$
Perdita dell'integrità
della membrana

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:

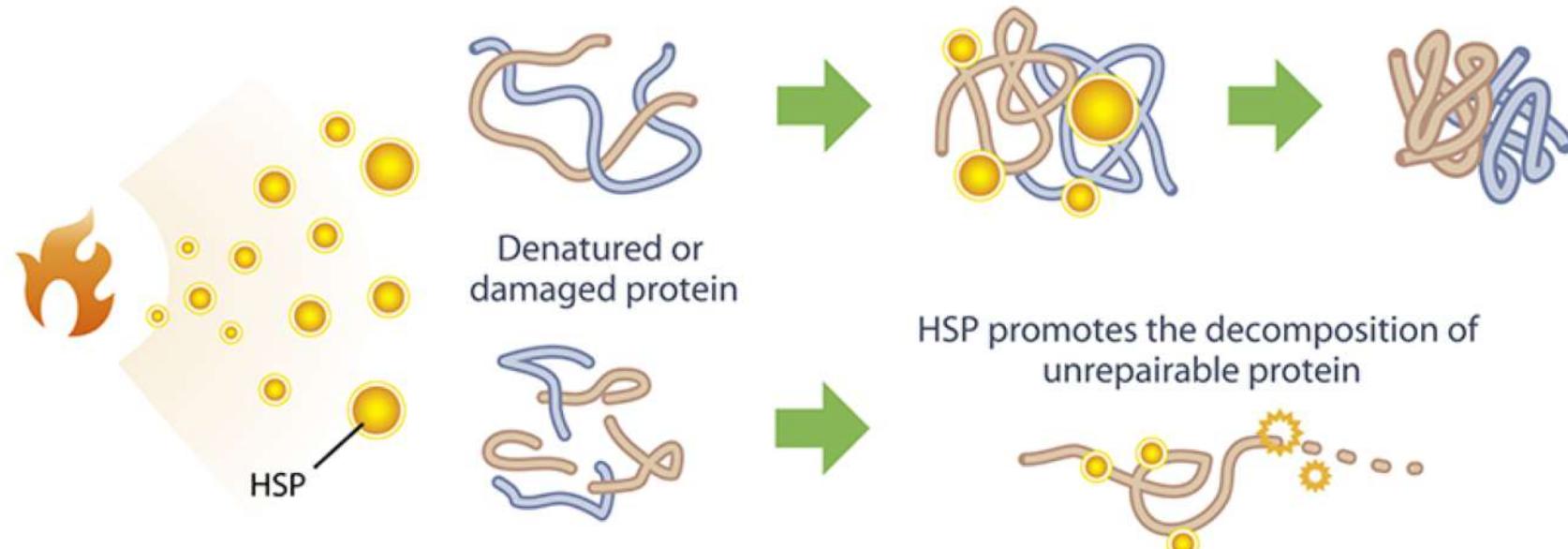
- Le alte temperature causano la denaturazione termica delle proteine: la perdita della loro conformazione spaziale (struttura tridimensionale) ne provoca l'inattivazione biologica.

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 aminoacidi 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.

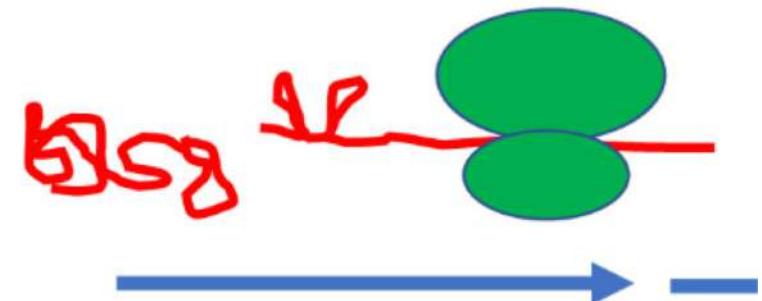
I **ribosomi** che stavano già traducendo (in verde) riescono comunque a completare la loro corsa fino alla fine dell'mRNA.



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



Initial shock
30 min



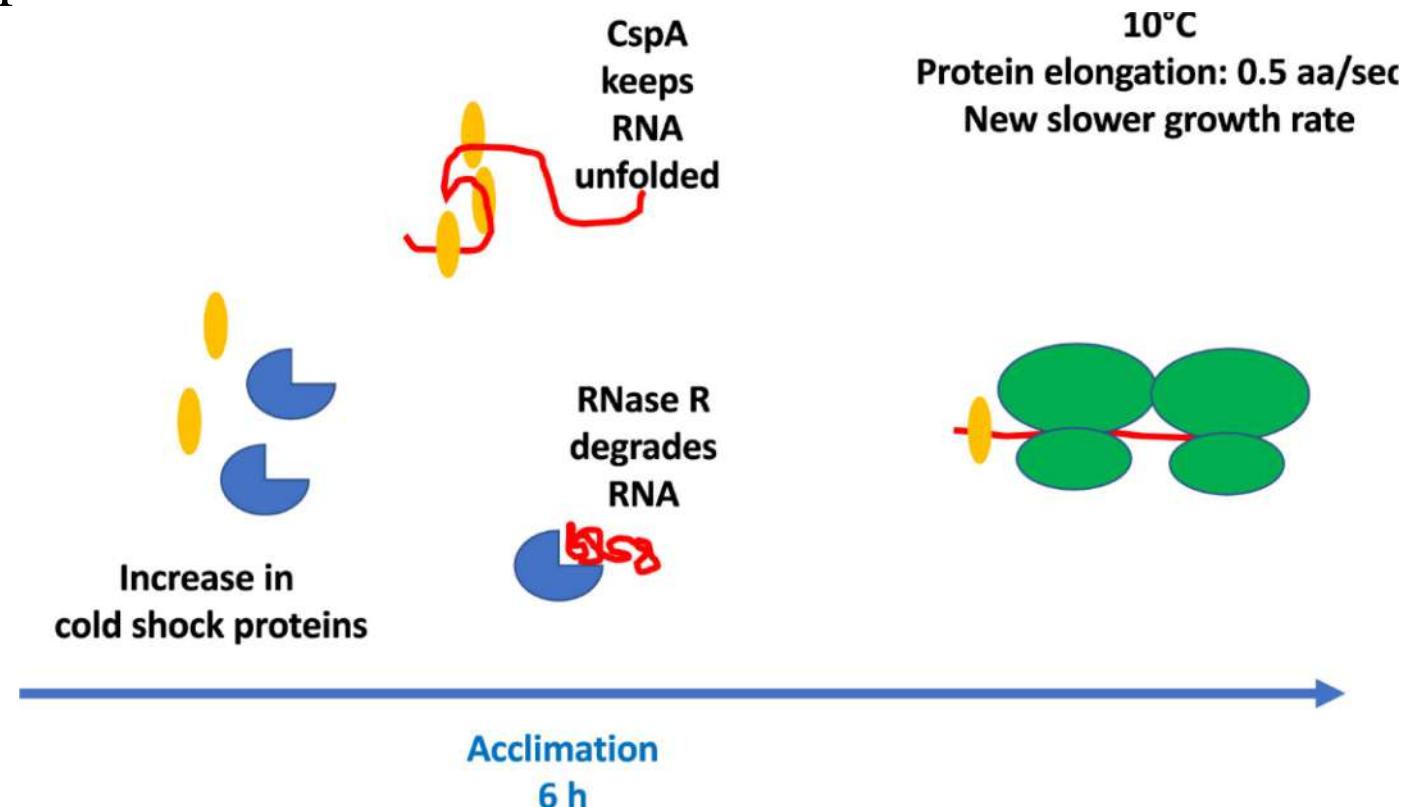
Durante la fase di acclimatazione, la cellula comincia ad adattarsi al freddo:

- 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.



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).
(tecniche: 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)

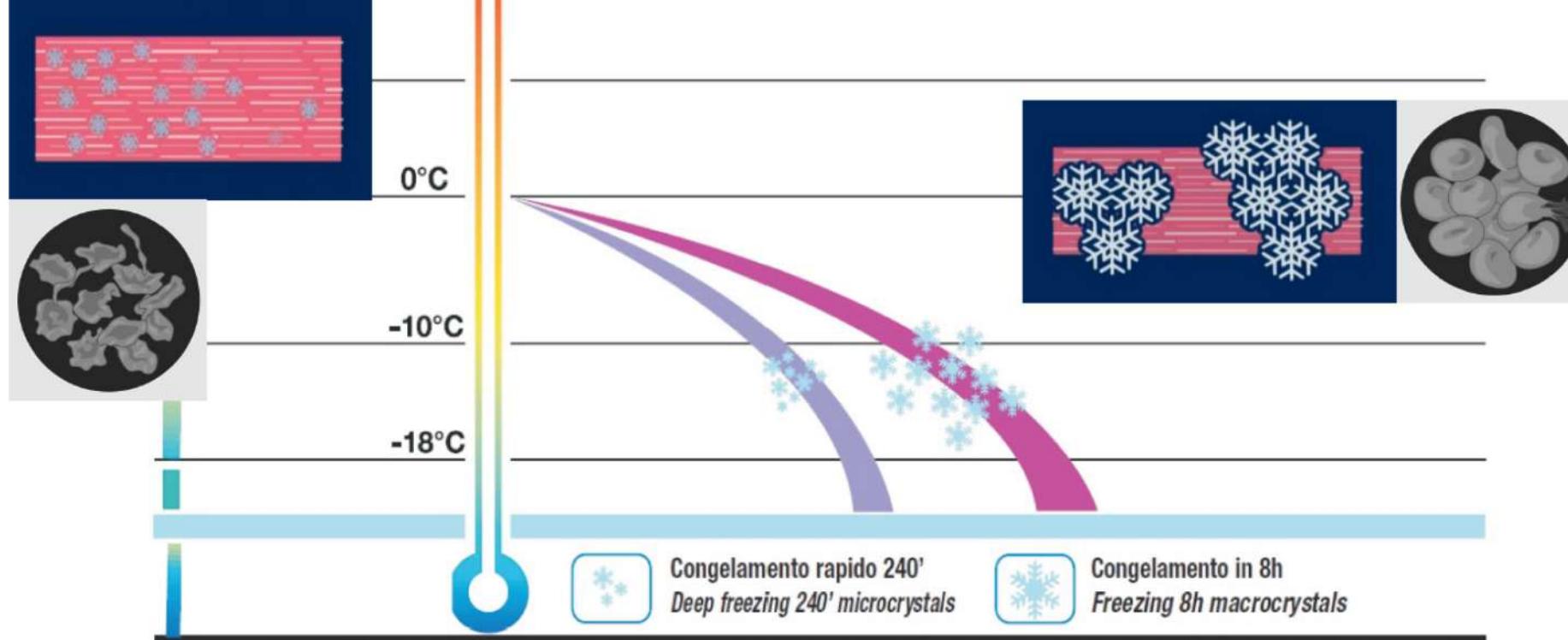


La crescita microbica è **totalmente arrestata** (si ferma a $< -10^{\circ}\text{C}$)
Non inattivano i microrganismi, le spore o gli enzimi (es. proteasi di *Pseudomonas*), che possono riattivarsi o continuare l'azione dopo lo scongelamento.

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 micrbiico 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 micrbiico 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 termosphacta</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 tiphymurium</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 roture della **catena del freddo**.



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 microbicida 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 (aw), 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

Stato Fisiologico del Microrganismo



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*).

Fattori estrinseci: temperatura



Termoresistenza

Esempi di Microrganismi Sporigeni

Bassa

Clostridium botulinum tipo E, *Bacillus cereus* var. *mycoides*.

Media

Clostridium botulinum tipi A e B, la maggior parte delle specie di *Bacillus*.

Alta

Geobacillus stearothermophilus (agente del flat-sour), *Clostridium nigrificans*.

Altissima

Clostridium thermosaccharolyticum.

Rilevanza per gli Alimenti

Spore relativamente facili da distruggere con una pasteurizzazione efficace.

Patogeni pericolosi (soprattutto *C. botulinum*), richiedono trattamenti termici intensi.

Richiedono sterilizzazione commerciale, usate come microrganismi test.

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

UR Esterna Alta

UR Esterna Bassa

UR Ottimale

Effetto sull'Alimento

Assorbimento di umidità
(soprattutto in superficie),
ammorbidimento,
condensazione.

Perdita di umidità
dall'alimento (disidratazione
superficiale).

Mantenimento dell'equilibrio
igroscopico (equilibrio di
umidità).

Impatto sulla Contaminazione Microbica

Aumenta la potenziale
crescita di lieviti, muffe e
batteri aerobi sulla
superficie.

Inibisce la crescita
superficiale, ma può ridurre
eccessivamente la **qualità
organolettica** (aspetto,
texture).

Massimizza 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'essiccamiento 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 barriera all'umidità o *packaging attivo*) è fondamentale per isolare l'alimento e controllarne il microclima.

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



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

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 O₂ e CO₂) 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 O₂, CO₂ e N₂) ma **non è controllata attivamente** in seguito. L'atmosfera cambia dinamicamente per effetto della diffusione e dell'attività microbica/tissutale.

Gas

Funzione Principale

Mantenere il colore
(es. rosso della carne),
Prevenire
irrancidimenti.

**Effetto
Antimicrobico**

**Basse concentrazioni
inibiscono gli aerobi
stretti** (effetto
selettivo).

Uso Tipico

Alto (approx 60-80%)
per carni rosse; Basso
per pesce, frutta,
verdura.

Ossigeno

Anidride Carbonica

Agente antimicrobico
primario.

**Inibisce Batteri
Aerobi, Lieviti,
Funghi filamentosi.**
Si scioglie,
abbassando il pH
superficiale.

Spesso 10-30%
(effetto
fungistatico/batteriost
atico).

Azoto

Gas di riempimento
inerte.

Nessun effetto
antimicrobico diretto.

Usato per sostituire
l'ossigeno e prevenire
il collasso della
confezione.

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 O₂ e alto CO₂ può **favorire** la crescita di microrganismi anaerobi e facoltativi tolleranti alla CO₂ (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 stagni 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	<i>vedi sopra</i>	
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	<i>vedi sopra</i> , 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 modifica 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 antimicobici, assorbimento di O₂).

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

Packaging Attivo

Packaging Intelligente

Meccanismo d'Azione

Rilascio/Assorbimento di composti (antimicrobici, antiossidanti, umidità).

Rilevazione e comunicazione di informazioni senza interagire con l'alimento.

Esempi di Applicazione

Oli Essenziali in cartone (frutta), Nisina in film plastici (carne), Assorbitori di O₂

Indicatori Tempo-Temperatura (TTI), sensori di pH, sensori di gas.

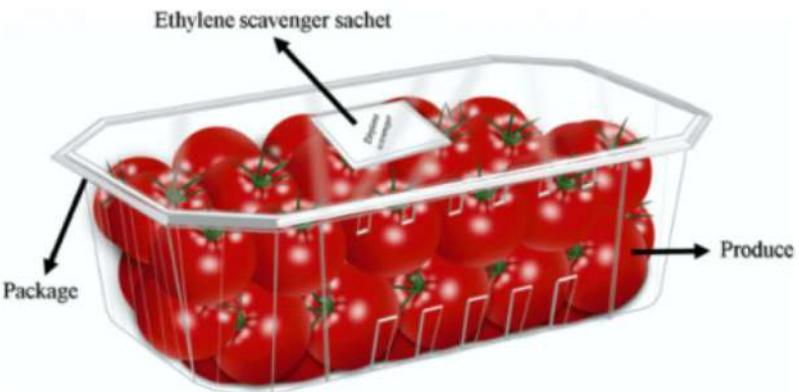
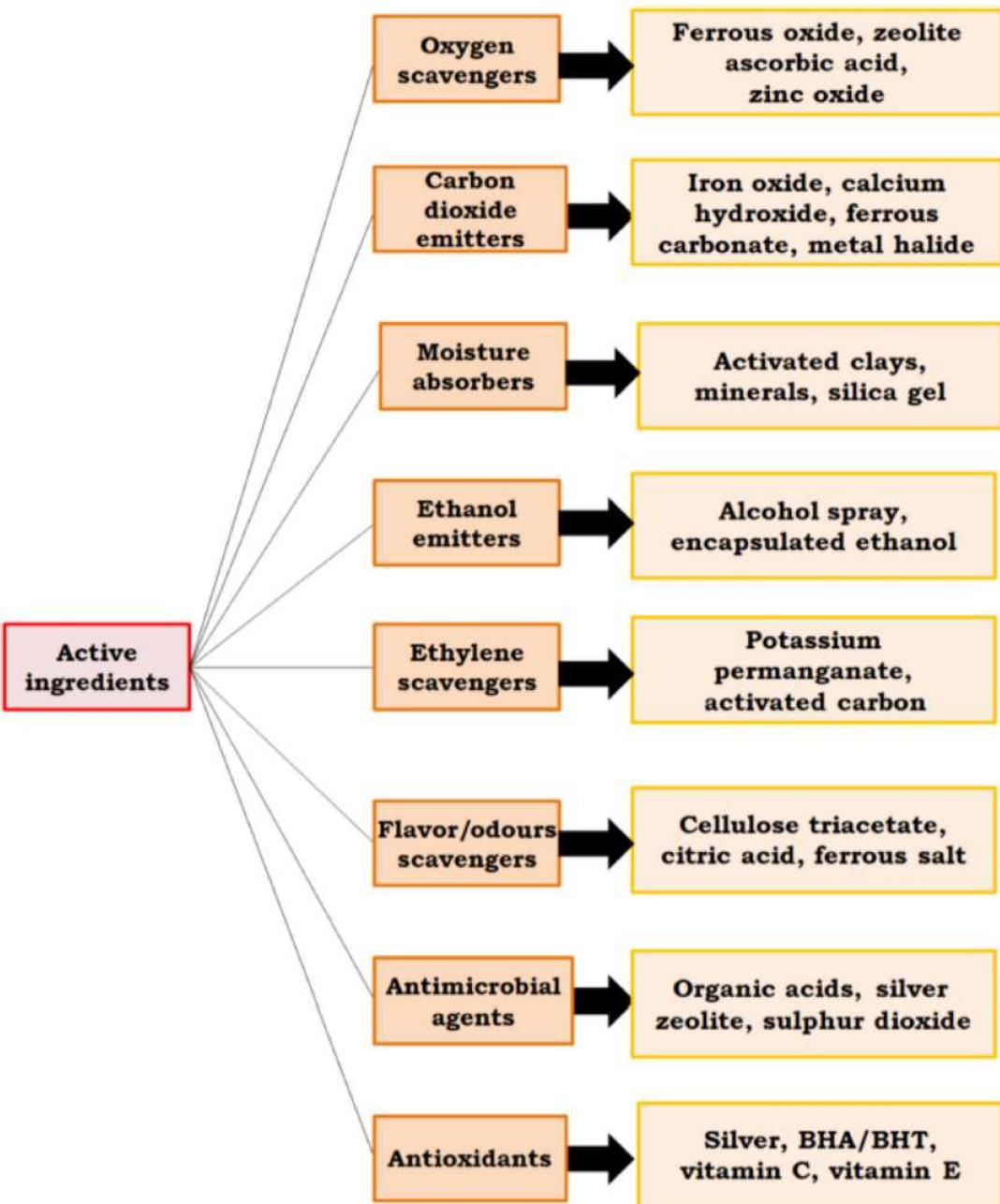
Obiettivo

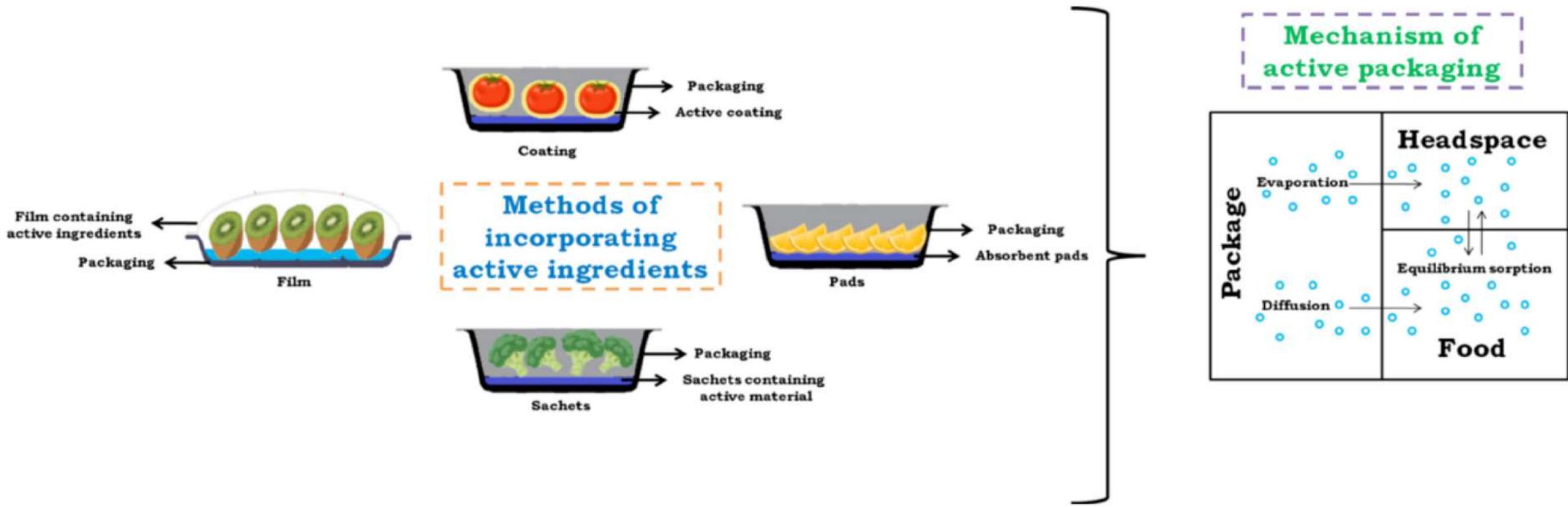
Estendere la shelf-life e ridurre il deterioramento (qualità e sicurezza).

Monitoraggio della Catena del Freddo e Tracciabilità (sicurezza e logistica).

Composizione Antimicrobica e Sostenibilità

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





Esempio: atmosfera modificata e film antimicrobico con Nisina

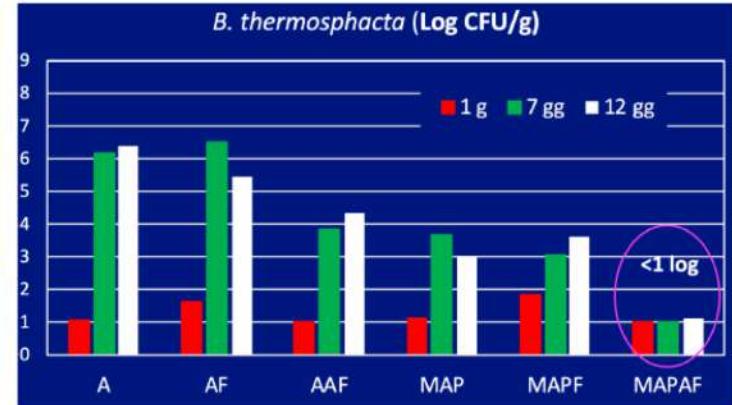
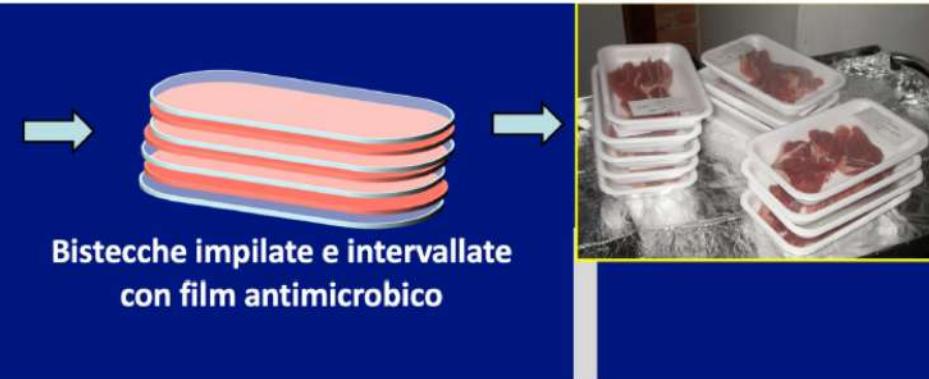
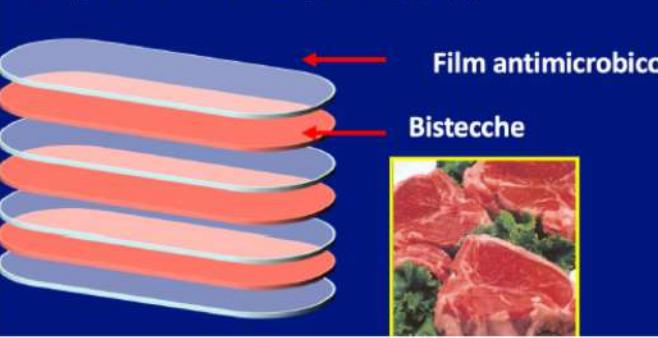


A combination of modified atmosphere and antimicrobial packaging to extend the shelf-life of beefsteaks stored at chill temperature

Antonietta La Storia, Ilario Ferrocino ¹, Elena Torrieri, Rossella Di Monaco, Gianluigi Mauriello, Francesco Villani, Danilo Ercolini *

Dipartimento di Scienze 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 ¹
A	Aria	-
AF	Aria	film polietilene non attivo
AAF	Aria	film Antimicrobico HDPE
MAP	60% O ₂ – 40% CO ₂	-
MAPF	60% O ₂ – 40% CO ₂	film polietilene non attivo
MAPAF	60% O ₂ – 40% CO ₂	film Antimicrobico HDPE

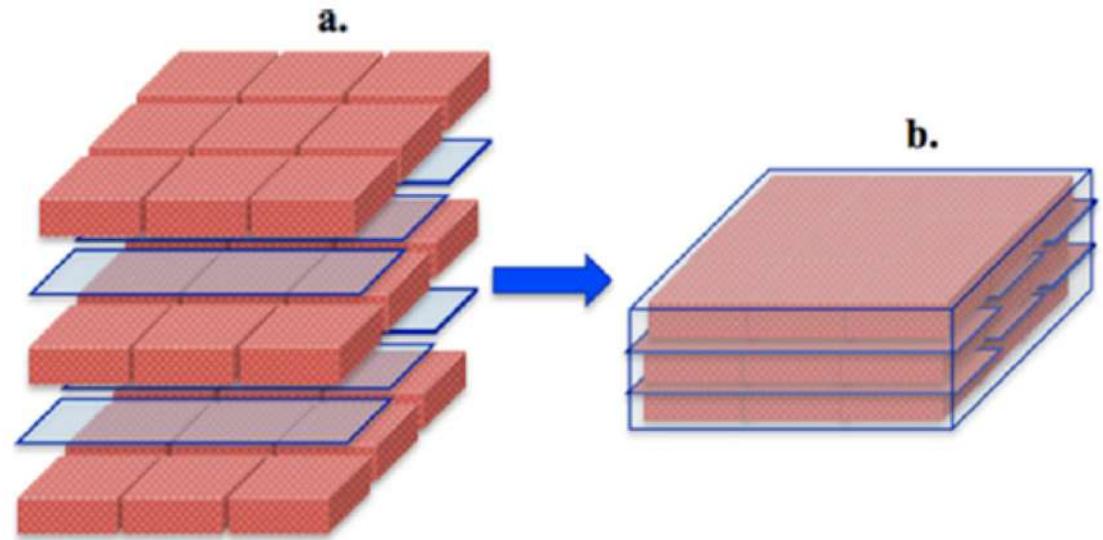
- Azione battericida verso *Brochothrix thermosphacta* (Gram positivo, anaerobio, alterante)
- Maggiore azione in ambiente più ossidante (60 % O₂; 40 % CO₂)



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

Ilario Ferrocino,^a Anna Greppi,^a Antonietta La Storia,^b Kalliopi Rantsiou,^a Danilo Ercolini,^b Luca Cocolin^a

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



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

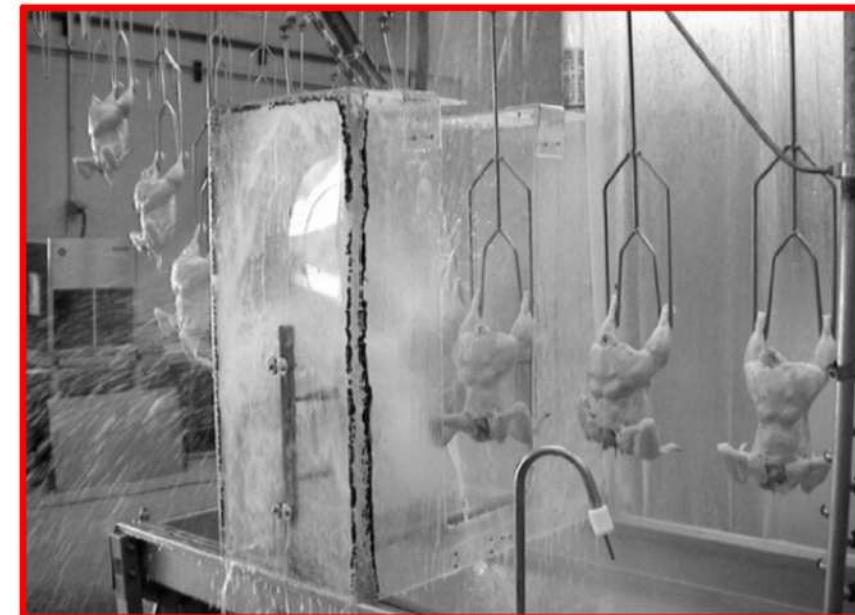
Trattamenti Fisici per la Sicurezza Alimentare

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

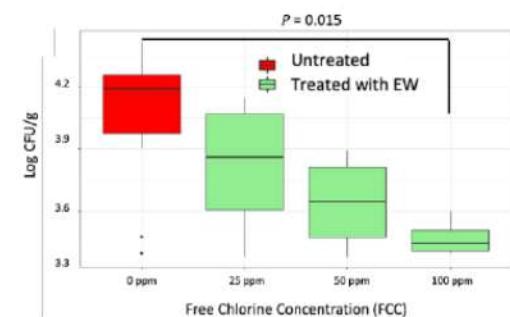
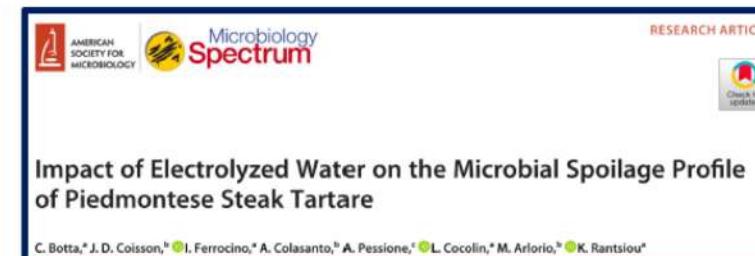
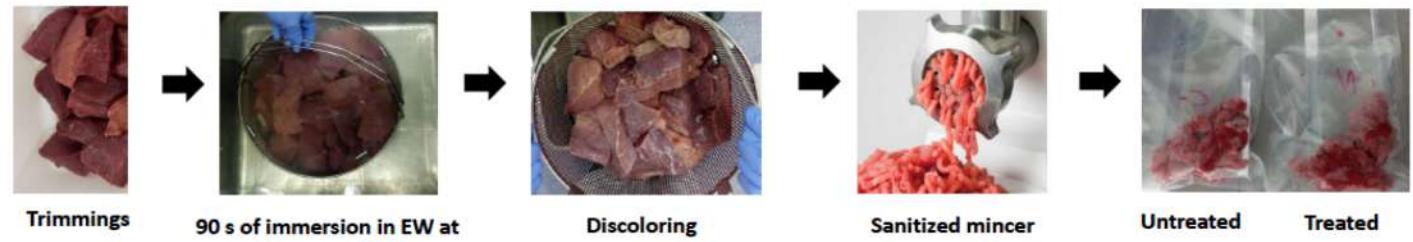
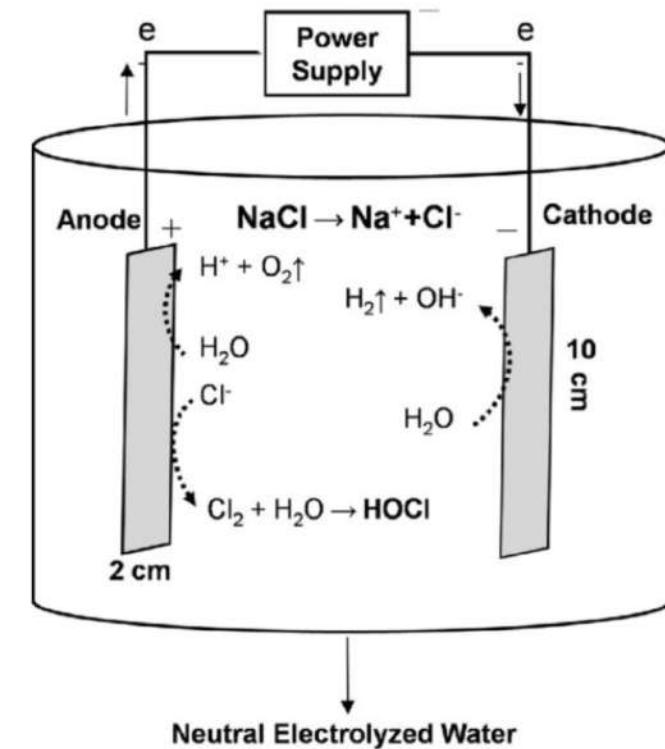
- con acqua potabile in condizioni di turbolenza o spray ad alta pressione, può rimuovere microrganismi che non aderiscono fortemente alle superfici.
- formazione di biofilm e la penetrazione di microrganismi all'interno dei tessuti (es: fessure e pori dell'epidermide di pollo) possono ridurre sostanzialmente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

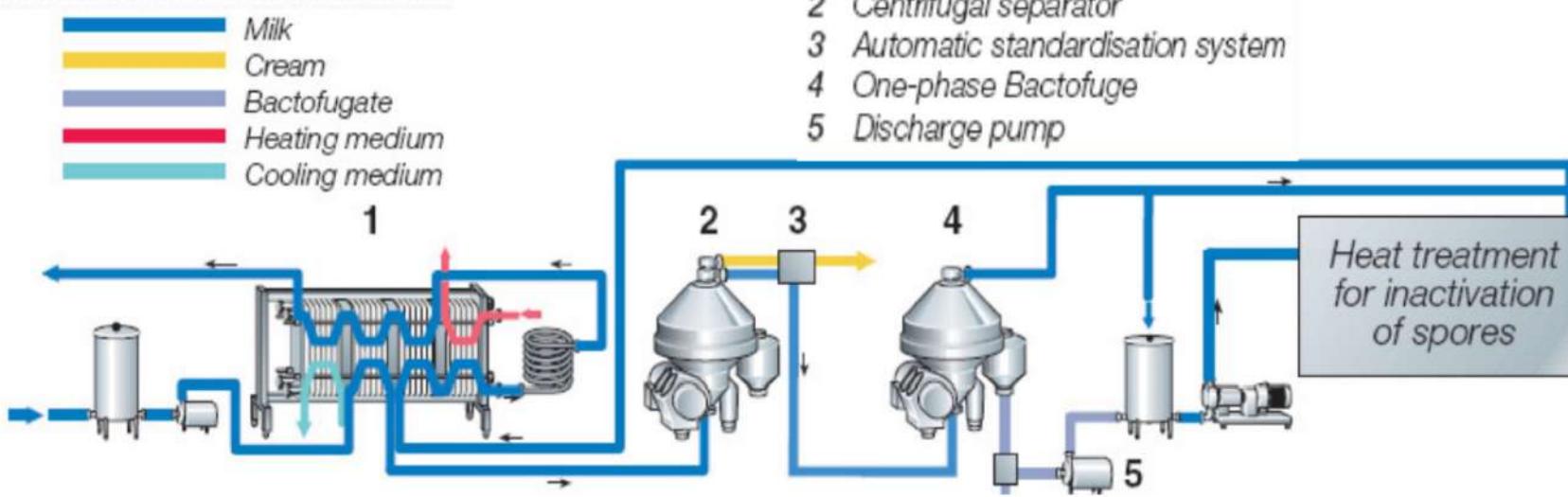


- Metodo spray-doccetta con NEW utilizzato in USA per carcasse di pollo (attività antimicrobica da cloro libero, ipoclorito): non autorizzato in UE (attualmente nessuna opinione EFSA su sicurezza)
- L'applicazione su carni bovine o mezzene non ha portato a riduzioni significative della carica superficiale 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 butirrifici → 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** ($> 55^{\circ}\text{C}$) 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").

Pastorizzazione

Descrizione e Obiettivo

Trattamento termico blando (< 100 °C spesso < 80°C per **inattivare patogeni non sporogeni** più rilevanti e ridurre i degradanti.

Target Microbico Tipico

Coxiella burnetii (nel latte), *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*.

Sterilizzazione Commerciale

Trattamento intenso per alimenti stabili a temperatura ambiente. Inattiva tutti i microrganismi che potrebbero crescere nelle condizioni di conservazione.

Spore di *Clostridium botulinum* (proteolitici) + microrganismi deterioranti più termoresistenti.

Termizzazione

Trattamento molto blando (effetti minori della pastorizzazione).

Microrganismi più termosensibili e psicrotrofi.

Trattamenti Termici Tradizionali: Cinetica di Morte Microbica

Quando un alimento viene sottoposto a un trattamento termico (come pasteurizzazione, 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 temperatura T

D_{ref} il tempo di riduzione decimale alla tempretatura di riferimento (121°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 qualsiasi 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 Typhimurium</i>	Acqua	3,4	55	6,99
Batteri	<i>Salmonella Reading</i>	Acqua	3,98	55	6,89
Batteri	<i>Salmonella Dublin</i>	Acqua	3,92	55	6,45
Batteri	<i>Salmonella Typhimurium</i>	Albumi	0,73	55	4,7
Batteri	<i>Salmonella Senftenberg 775W</i>	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 Typhimurium</i>	Sciropallo 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 Typhimurium</i> DT104	Tuorlo	9,04	55	3,7
Batteri	<i>Salmonella Typhimurium</i> 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.



Fattore

Tipo di microrganismo

Gram + vs Gram -

Temperatura ottimale di crescita

pH basso

Grassi e proteine

basso *aw*

Stress o adattamento (HSP)

Effetto sulla Termoresistenza (D)

Spore > cellule vegetative

Gram + > Gram -

Termofili > Mesofili

↓ D

↑ D

spesso ↑ D

↑ D

Spiegazione

Le spore hanno strutture protettive e metabolismo minimo

La parete più spessa dei Gram + offre protezione

Adattamento strutturale delle proteine

Gli acidi danneggiano le membrane e aumentano la sensibilità

Effetto protettivo: rallentano la trasmissione del calore

Minor acqua disponibile → denaturazione proteica più difficile

Le **Heat Shock Proteins** 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

**Microonde (MO) /
Radio Frequenza (RF)**

**Riscaldamento Ohmico
(RO)**

Meccanismo di Riscaldamento

Ri-orientamento dei dipoli (acqua) e movimento ionico (conversione in calore).

Effetto Joule (passaggio di corrente elettrica alternata) che riscalda la matrice.

Vantaggi Principali

Riscaldamento **rapido**, applicabile a **prodotti confezionati**.

Riscaldamento **molto rapido e uniforme** (buono per matrici eterogenee: solidi in liquidi).

Svantaggi

Disuniformità dei profili di temperatura (zone fredde) e **alti costi** di investimento.

Disomogeneità 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)

CO₂ 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.

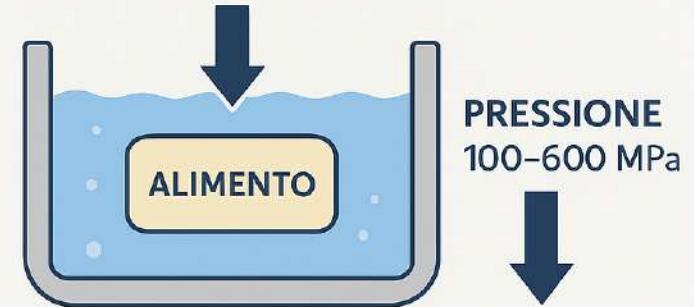
TRATTAMENTI AD ALTE PRESSIONI (HHP/UHP)



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 intracelulare



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.

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 > Endospora
- **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

Article

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

Maria Tsevdou ^{1,*}, George Dimopoulos ¹, Athanasios Limnaios ¹, Ioanna Semenoglou ¹,
Theofanis Tsironi ² and Petros Taoukis ¹



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 ≈ 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 γ (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 roture 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 γ e X attraversano il prodotto, anche confezionato

L'energia si distribuisce omogeneamente

Metodo fisico, non lascia sostanze tossiche

Es. per disinfezione 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 ≈ 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.



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, albumi, 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.

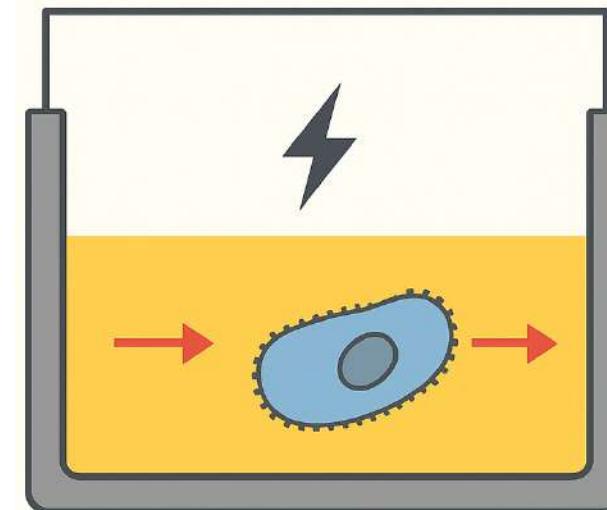
Tra gli elettrodi viene applicato un campo elettrico molto intenso, ma per tempi brevissimi:

Intensità: 15–50 kV/cm

Durata: pochi μ 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)



ELETTROPORAZIONE

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



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 (~ 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, albumi, 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

Article

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

Patthranit Kunlasubpreedee¹, Tomohiro Tobino^{1,2,3,*} and Fumiayuki Nakajima^{1,3} 

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).

Plasma Atmosferico Freddo (CAP – *Cold Atmospheric Pressure Plasma*)



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 aflatoxine
- 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) → $O\cdot$, O_2^- , O_3 , $OH\cdot$
- Specie reattive dell'azoto (RNS) → $NO\cdot$, $NO_2\cdot$, N_2O_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 aflatoxine

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

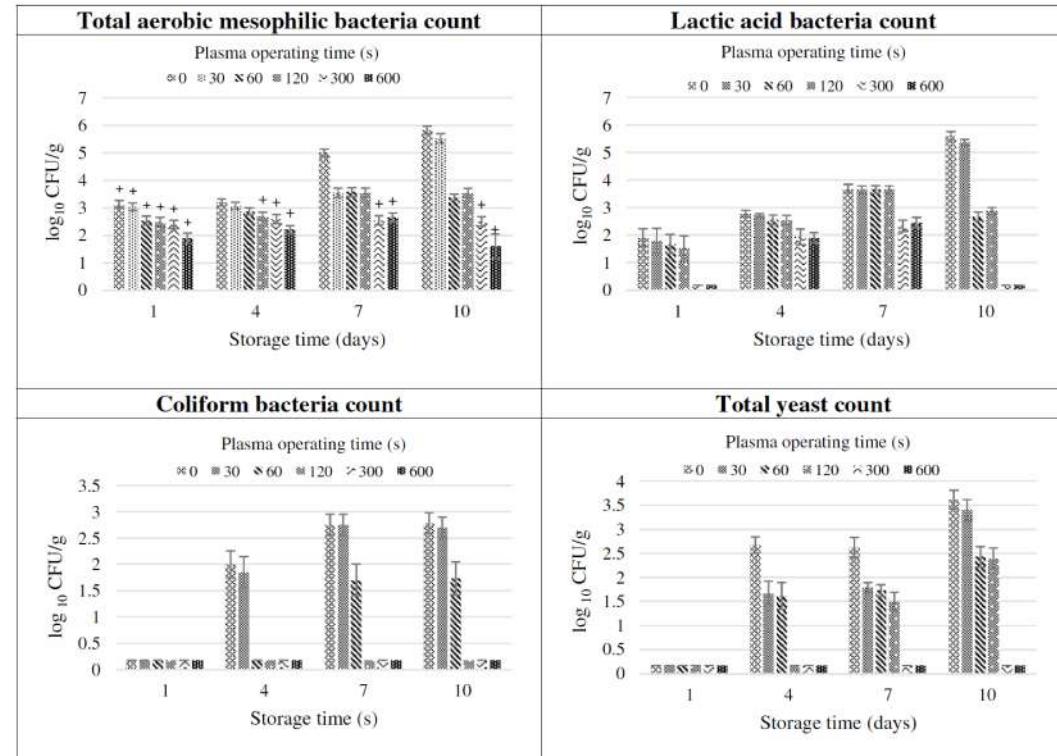
Sanitizzazione superficiale, prolungamento shelf-life

Sterilizzazione senza calore o umidità



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

Agnieszka Starek¹, Agnieszka Sagan¹, Dariusz Andrejko¹, Barbara Chudzik², Zbigniew Kobus³, Michał Kwiatkowski⁴, Piotr Terebun⁴ & Joanna Pawłat⁴



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 $> 20 \text{ kHz}$, oltre la soglia dell'udito umano).

Nel settore alimentare si utilizzano ultrasuoni ad alta intensità (fino a centinaia di watt/cm²) 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.



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^{1*}, Andrzej Butarewicz¹

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.

CO₂ ad Alta Pressione (HPCD – *High Pressure Carbon Dioxide*)



L’HPCD sfrutta le proprietà fisico-chimiche della CO₂ pressurizzata (in forma subcritica o supercritica) per inattivare microrganismi o estrarre composti.

- **CO₂ subcritica** → < 31°C e < 73.8 bar
- **CO₂ supercritica** → > 31°C e > 73.8 bar (stato intermedio tra gas e liquido)

In queste condizioni, la CO₂ penetra facilmente nelle cellule e modifica profondamente l’ambiente intracellulare.



Diffusione nella membrana cellulare → la CO₂ si dissolve nei lipidi della membrana, aumentandone la permeabilità.

Acidificazione del citoplasma → formazione di acido carbonico (H₂CO₃) 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

Alta Pressione Idrostatica (HHP)

Radiazioni (Luce Pulsata, UV-C)

Campi Elettrici Pulsati (PEF)

Plasma Freddo (PF)

Ultrasuoni (US)

CO₂ ad Alta Pressione (HPCD)

Meccanismo di Inattivazione

Sfrutta i principi di **Pascal**

Danno al DNA/RNA (formazione di dimeri di pirimidina) che **impedisce la replicazione**.

Applicazione di **campi elettrici ad alta intensità**.

Generazione di **gas ionizzato** (RONS e UV).

Cavitazione (formazione e collasso di microbolle) che genera **forze meccaniche di taglio e calore localizzato**.

Solubilizzazione delle membrane cellulari e **acidificazione del citoplasma** dovuta alla **CO₂** disiolta.

Target Cellulari Principali

Danneggiamento meccanico della membrana, deformazione della parete, inattivazione delle **proteine funzionali**.

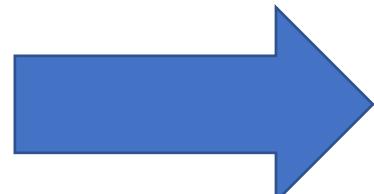
Microrganismi presenti su **superfici** e in **liquidi trasparenti**.

Induzione di **elettroporazione** e conseguente collasso delle **membrane cellulari**.

Esposizione a **Specie Reattive dell'Ossigeno e Azoto (RONS)** e **radiazioni UV**.

Inattivazione di spore e cellule vegetative in liquidi (in sinergia con calore blando).

Sterilizzazione di polveri 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

Competizione

Amensalismo

Meccanismo

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

Produzione di Antimicobici: Accumulo di metaboliti che inibiscono altre popolazioni.

Esempio

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

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

Tipo di Interazione

Commensalismo

Mutualismo

Definizione

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

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

Meccanismo Esemplare

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

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

Protocooperazione (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 CO₂** che stimolano la crescita e il metabolismo del bacillo.

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