

Sviluppo di tecnologie innovative per la trasformazione ed il prolungamento della *shelf-life* di prodotti a base di frutta

Cinzia Mannozi (email: cinzia.mannozi2@unibo.it)

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna

Corso di Dottorato: Scienze e Tecnologie Agrarie, Ambientali e Alimentari

Curriculum: Scienze e Biotecnologie degli Alimenti; Ciclo di dottorato: XXXI; Anno di frequenza: III

Tutor: Prof.ssa Santina Romani; Co-tutor: Dott.ssa Urszula Tytlewicz

1. Stato dell'arte

I prodotti a base di frutta processata al minimo rientrano in uno dei settori alimentari in rapida espansione in molti paesi europei e la loro domanda è in forte crescita a causa di un elevato interesse da parte dei consumatori per alimenti ad elevate *convenience* e proprietà nutrizionali (vitamine, composti bioattivi e antiossidanti) nonché caratteristiche sensoriali (colore, sapore, consistenza, ecc.) simili a quelli dei rispettivi prodotti freschi.

Tali prodotti hanno una *shelf-life* generalmente limitata ad alcuni giorni, a causa di un rapido decadimento qualitativo dovuto a un generale aumento della loro attività metabolica a seguito delle operazioni tecnologiche di preparazione cui sono normalmente sottoposti (pelatura, taglio ecc).

Al fine di prolungare la *shelf-life* di frutta processata al minimo, vengono normalmente adottati interventi tecnologici tradizionali come il *dipping* in soluzioni acquose a base di sostanze ad azione antiossidante. Negli ultimi anni sono stati effettuati numerosi studi finalizzati all'applicazione di tecnologie alternative più efficaci del tradizionale *dipping* nel mantenimento delle caratteristiche qualitative di tali prodotti. Tra le tecnologie innovative che possono essere utilizzate in tal senso vi sono le alte pressioni di omogeneizzazione (HPH) (Betoret *et al.*, 2012), l'applicazione di campi elettrici pulsati (PEF) (Donsì *et al.*, 2010), la disidratazione osmotica (OD) e il riscaldamento ohmico (OH). Le HPH vengono utilizzate per stabilizzare a livello qualitativo, nutrizionale e microbiologico i succhi di frutta, il PEF può essere usato sia come trattamento preliminare all'OD per facilitare ed accelerare gli scambi di massa e quindi l'arricchimento del prodotto, sia, come l'OH, per incrementare la resa e l'estrazione di composti bioattivi di succhi vegetali.

Tra le operazioni tecnologiche, il confezionamento se adeguatamente eseguito, contribuisce a rallentare i fenomeni metabolici che avvengono durante la *shelf-life* di tali prodotti, in particolare la respirazione, la produzione di etilene e di conseguenza porta a rallentare o inibire fenomeni degradativi a carico di enzimi e microorganismi. Anche in questo ambito le ricerche sono sempre più rivolte a trovare soluzioni di *packaging* innovative e sostenibili in sostituzione o in combinazione al più tradizionale confezionamento in atmosfera ordinaria o protettiva (MAP), come utilizzo di *packaging* biodegradabili e/o compostabili (Almenar *et al.*, 2008) e di *edibile coatings* (Rojas-Graü *et al.*, 2009). L'utilizzo di film edibili, generalmente a base di polisaccaridi, lipidi o proteine, contribuisce al prolungamento della *shelf-life* della frutta fresca tagliata, rallentando la perdita di umidità, di soluti e sostanze volatili, il tasso di respirazione e quindi le reazioni di ossidazione e in generale il deterioramento del prodotto in conservazione (Rojas-Graü *et al.*, 2009). Inoltre, la formulazione dei *coatings* può essere arricchita con sostanze quali coloranti, nutrienti, agenti strutturanti, antimicrobici ecc. per il miglioramento della qualità di prodotti a base di frutta.

2. Bibliografia

- Almenar E, Samsudin H, Auras R, Harte B, Rubino M (2008) Postharvest shelf life extension of blueberries using a biodegradable package, *Food Chem*, 110:120-127.
- Betoret E, Sentandreu E, Betoret N, Codoñer-Franch P, Valls-Bellés V, Fito P, (2012) Technological development and functional properties of an apple snack rich in flavonoid from mandarin juice, *Innov Food Sci Emerg Tech*, 16:298-304.
- Donsì F, Ferrari G, Pataro G (2010) Applications of Pulsed Electric Field Treatments for the Enhancement of Mass Transfer from Vegetable Tissue, *Food Eng Rev*, 2: 109-130.
- Rojas-Graü MA, Soliva-Fortuny R, Martín-Belloso O (2009) Edible coatings to incorporate active ingredients to fresh-cut fruits: a review, *Food Sci Tech*, 20:438-447.

3. Sviluppo della ricerca

Per il raggiungimento degli obiettivi del progetto della tesi di dottorato il lavoro è stato suddiviso nelle seguenti attività secondo il diagramma di Gantt riportato in Tabella 1:

- 1) Ricerca bibliografica sui temi da affrontare e sviluppare nel corso del dottorato.
- 2) Scelta e applicazione delle tecnologie innovative di trasformazione da utilizzare al fine di migliorare la qualità ed incrementare la *shelf-life* di diversi tipi di frutta, in funzione delle loro caratteristiche qualitative e

metaboliche. Analisi sulle caratteristiche qualitative e metaboliche sono state effettuate sui prodotti processati con le tecnologie oggetto di studio.

- 3) Confezionamento con *coatings* edibili e/o imballaggi innovativi più idonei alle caratteristiche dei prodotti.
- 4) Confronto tra tecnologie PEF e trattamento Ohmico applicate a diversi prodotti vegetali (carote e mele) al fine di incrementare la resa in succo e l'estrazione di composti bioattivi da tali matrici sfruttando l'effetto combinato dell'elettroporazione e del riscaldamento. A tal proposito sono stati ottimizzati i parametri di processo al fine di garantire un'ottima efficienza estrattiva e allo stesso tempo un ridotto impiego di energia (A4.1). Successivamente i succhi ottenuti dall'estrazione sono stati analizzati per le loro caratteristiche qualitative e funzionali (A4.2).

Tabella 1. Diagramma di Gantt dell'attività di ricerca del dottorato

Attività	Mese	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36	
A1) <i>Ricerca bibliografica</i>																				
A2) <i>Scelta e applicazione delle tecnologie innovative di trasformazione</i>																				
1) ottimizzazione delle tecnologie in esame																				
2) analisi qualitative e metaboliche sui prodotti vegetali																				
A3) <i>Confezionamento</i>																				
1) studio dell'idoneità dell'imballaggio nella frutta oggetto di studio																				
2) applicazione di <i>coatings</i> edibili e/o imballaggi innovativi																				
A4) <i>Confronto tra tecnologie PEF e trattamento ohmico</i>																				
1) ottimizzazione delle variabili di processo																				
2) analisi qualitative e funzionali sui prodotti ottenuti																				
A5) <i>Preparazione della tesi e di articoli</i>																				

4. Principali risultati

Il presente progetto di ricerca si propone di valutare trattamenti innovativi di trasformazione/processo e confezionamento al fine di stabilizzare dal punto di vista qualitativo e nutrizionale prodotti a base di frutta.

Durante la prima parte del dottorato, la ricerca è stata incentrata sullo studio e l'applicazione di differenti tecnologie innovative per la trasformazione ed il confezionamento di frutti di bosco (fragole e mirtilli) al fine di mantenere e/o aumentare la loro qualità complessiva e stabilità durante la *shelf-life*.

L'applicazione dei campi elettrici pulsati (PEF) combinati alla disidratazione osmotica (OD) utilizzando soluzioni di saccarosio o trealosio ha evidenziato un effetto positivo nell'accelerazione di trasferimenti di massa e nella redistribuzione di acqua all'interno del tessuto di fragola. Questo effetto è stato più accentuato quando ad essere impiegata come soluzione osmotica è stata la soluzione di saccarosio piuttosto che il trealosio. Inoltre, le fragole trattate con un basso campo elettrico (100 V/cm) hanno mostrato un miglior mantenimento del colore rispetto ai campioni trattati con campi elettrici più elevati (200 e 400 V/cm), preservando allo stesso tempo, anche se solo parzialmente, la vitalità cellulare dei tessuti. Per quanto riguarda invece la *texture* i campioni trattati con PEF e con le due diverse soluzioni osmotiche hanno evidenziato valori di durezza più bassi rispetto al campione non trattato; l'applicazione del PEF può aver provocato un'alterazione della permeabilità di membrana, dovuta alla creazione di pori e alla rottura di strutture interne, che causano un conseguente rammollimento dei tessuti.

In un'altra fase del progetto di ricerca è stata valutata l'efficacia di *coating* edibili nel mantenimento della qualità di mirtilli durante la conservazione.

Nella prima parte della ricerca sono state studiate diverse tipologie di *coating* composti da: sodio alginato (Al), pectine (Pe) e sodio alginato + pectine (Al + Pe) applicati ai mirtilli; è stata poi valutata la *shelf-life* dei prodotti fino a 14 giorni a 4°C, esaminandone alcune caratteristiche chimico-fisiche (pH, colore, *texture*, SSC), la vitalità cellulare dei tessuti e la crescita microbica (mesofili, aerobi totali e lieviti). Dai risultati ottenuti è emerso come l'applicazione di Al, Pe e Al + Pe abbia migliorato ed aumentato la durezza dei campioni di mirtilli rispetto al campione non trattato (C) fino al giorno 10 di stoccaggio. Gli elevati valori di consistenza nei campioni con *coating*, molto probabilmente sono dovuti alla presenza del rivestimento che garantisce rigidità alla struttura superficiale della frutta. Inoltre, tutti i campioni rivestiti hanno evidenziato valori di luminosità (L^*) inferiori e una tinta di colore blu più intenso rispetto al campione C. La diminuzione di L^* nei campioni rivestiti con il *coating* potrebbe essere dovuta a una modifica delle proprietà superficiali di riflessione della luce, mentre l'aumento della tinta al quattordicesimo giorno alla sintesi di antocianine durante la maturazione. L'utilizzo di rivestimenti edibili a base di Al e Pe nei mirtilli, ha contribuito significativamente a rallentare la crescita di lieviti e di batteri mesofili aerobi totali.

Successivamente sono state studiate le caratteristiche di *coatings* a base di chitosano estratto da funghi (C) e procianidine (CP), ottenute dalla lavorazione dei vinaccioli del vino. Tali nuove formulazioni di *coating* sono state applicate ai mirtilli, le cui caratteristiche (colore, *texture*, pH, attività antiossidante, valutata con i metodi DPPH e ABTS, crescita microbica) sono state monitorate durante la conservazione a 4°C per 14 giorni. I mirtilli con *coating* hanno manifestato migliori caratteristiche di colore e consistenza durante la conservazione rispetto al controllo (F).

L'applicazione del *coating* a base di chitosano e procianidine ha inoltre favorito un incremento dell'attività antiossidante dei mirtilli, rilevata con l'utilizzo di entrambi i metodi di analisi utilizzati.

Un'altra parte del progetto di ricerca, svolta presso l'*Institute of Food Technology di Boku University* (Vienna, Austria), ha riguardato l'ottimizzazione dell'applicazione di campi elettrici pulsati (PEF) e trattamento ohmico (OH) a diversi prodotti vegetali (carote e mele), al fine di incrementare l'estrazione del succo, dei composti bioattivi e verificarne l'effetto sull'attività enzimatica (perossidasi-POD in entrambe le matrici oggetto di studio e polifenolossidasi-PPO nelle mele). In particolare, l'efficacia dell'estrazione e la stabilità dei composti estratti dalle matrici oggetto di studio è stata valutata considerando l'effetto termico e quello del campo elettrico. Diversi campioni di *mash* di carota e mela sono stati sottoposti all'applicazione delle due elettro-tecnologie e a differenti temperature di pre-riscaldamento (40, 60 ed 80 °C), dalle combinazioni dei diversi trattamenti sono stati ottenuti undici campioni (Tabella 1).

Tabella 1. Condizioni di trattamento applicate per i campioni *mash* di carota e mele (PR = pre-riscaldato).

Trattamento	Campione
Non-trattato	Controllo
PEF a 20 °C	PEF (20 °C)
PR 40 °C + PEF	40 °C-PEF
PR 60 °C + PEF	60 °C-PEF
PR 80 °C + PEF	80 °C-PEF
OH da 20 °C a 40 °C	(20 °C-40 °C) OH
OH da 20 °C a 60 °C	(20 °C-60 °C) OH
OH da 20 °C a 80 °C	(20 °C-80 °C) OH
PR 40 °C + OH a 80 °C	40 °C-80 °C OH
PR 60 °C + OH a 80 °C	60 °C-80 °C OH
PR 80 °C	80 °C

In generale, i risultati ottenuti hanno mostrato un aumento dell'indice di disintegrazione cellulare per i campioni pre-trattati a 40, 60 e 80 °C e successivamente sottoposti a PEF e OH, che conseguentemente ha determinato anche un incremento della resa in succo (circa il 10 % in più per le carote e 5 % in più per le mele) rispetto al controllo.

Per quanto riguarda l'estrazione dei carotenoidi totali nel succo di carota, solo il campione PEF (20 °C) ha mostrato un aumento, seppure non significativo, di tali composti rispetto al campione controllo (Figura 1a). La diminuzione di carotenoidi in tutti gli altri campioni potrebbe essere dovuta all'effetto termico che provoca una degradazione di tali composti sensibili al calore e all'ossigeno. Invece, per il succo di mela, si è osservato un incremento significativo dei polifenoli totali nei campioni pre-riscaldati a 80 °C con e senza l'aggiunta del trattamento PEF o OH (Figura 1b). La disintegrazione cellulare,

dovuta al trattamento PEF e al riscaldamento, ha determinato una permeabilizzazione delle membrane cellulari con conseguente incremento della resa in succo e un aumento nel rilascio dei composti fenolici nel succo di mela.

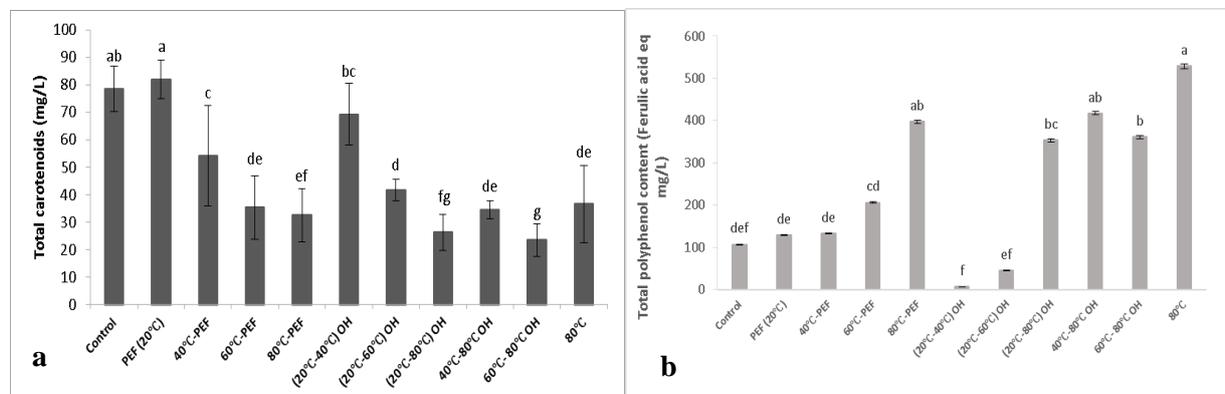


Figura 1. a- Contenuto in carotenoidi totali dei diversi succhi di carota pre-trattati; b- Contenuto in polifenoli totali nei vari succhi di mela pre-trattati.

Inoltre, nei campioni di succo di carota e mela pre-riscaldati a 80 °C con e senza il trattamento PEF e OH è stata osservata una diminuzione (circa 90 %) dell'attività degli enzimi ossidativi quali POD in entrambe le matrici (Figura 2) e PPO nelle mele, rispetto al succo non trattato. Mentre, i campioni PEF (20°C) e 40°C-PEF, per entrambi i succhi, hanno mostrato un aumento dell'attività della POD rispetto al non trattato; ciò potrebbe essere dovuto a cambiamenti strutturali dell'enzima che favorisce l'interazione enzima-substrato.

In generale, questo studio ha mostrato come il trattamento termico seguito dall'applicazione di PEF o OH, possa migliorare la distruzione cellulare e la resa in succo; inoltre, l'applicazione di temperature elevate ha favorito l'inattivazione enzimatica con conseguente rilascio di polifenoli nei succhi di mela.

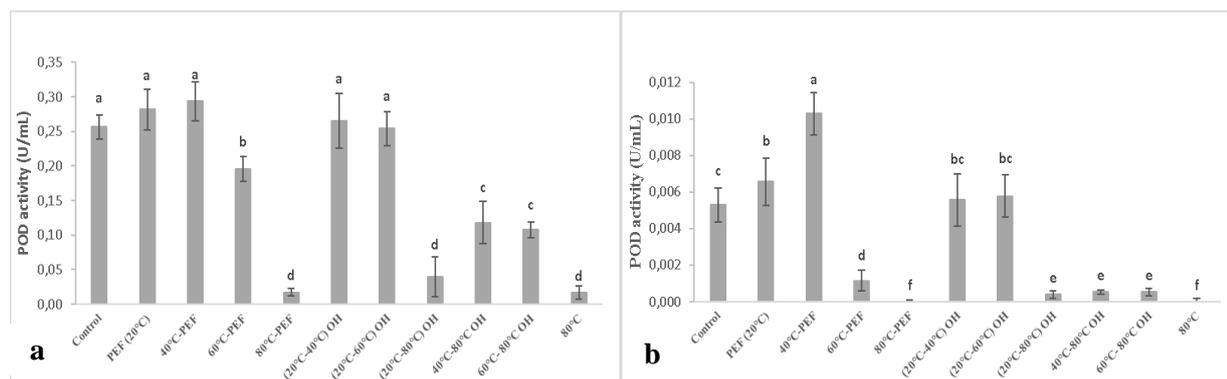


Figura 2. Attività dell'enzima perossidasi (POD) nei succhi di carota (a) e melo (b) pre-trattati.

5. Elenco delle pubblicazioni prodotte nell'ambito dell'attività di dottorato

- Mannozi C, Tylewicz U, Romani S, Dalla Rosa M (2016) Effect of PEF pre-treatment on mass transfer and quality characteristics of osmodehydrated strawberries, Proc. of 3rd School on PEF Processing of Food, p 183.
- Mannozi C (2016) Development of innovative technologies for extending the shelf-life of minimally processed fruit, Proc. of 21th Workshop on the developments in the Italian PhD research on Food Science Technology and Biotechnology, pp 46-47.
- Tylewicz U, Mannozi C, Tappi S, Harasym J, Romani S, Rocculi P, Dalla Rosa M (2016) Physico-chemical properties of β -glucan enriched dehydrated apple slices, Proc. of 30th EFFoST International Conference, [P1.44]
- Tylewicz U, Mannozi C, Tappi S, Dellarosa N, Rocculi P, Dalla Rosa M, Romani S (2016) Effect of different freezing methods on the physico-chemical characteristics of organic strawberries, In Proc. of 30th EFFoST International Conference, [P2.08].
- Betoret E, Mannozi C, Dellarosa N, Laghi L, Rocculi P, Dalla Rosa M (2016) Metabolomic studies after high pressure homogenization processed low pulp mandarin juice with trehalose addition. Functional and technological properties, J Food Eng, 220:22-28.
- Mannozi C, Cecchini J.P, Tylewicz U, Siroli L, Patrignani F, Lanciotti R, Rocculi P, Dalla Rosa M, Romani S (2017) Study on the efficacy of edible coatings on quality of blueberry fruits during shelf-life, LWT-Food Sci Tech, 85:440-444.
- Tylewicz U, Tappi S, Mannozi C, Romani S, Dellarosa N, Laghi L, Ragni L, Rocculi P, Dalla Rosa M (2017) Effect of pulsed electric field (PEF) pre-treatment coupled with osmotic dehydration on physico-chemical characteristics of organic strawberries, J Food Eng, 213:2-9.
- Mannozi C, Tylewicz U, Chinnici F, Siroli L, Rocculi P, Dalla Rosa M, Romani S (2017) Effect of chitosan/procyanidin based coatings on quality of fresh blueberries during storage Proc. of Foodinnova 2017, [P1.51].
- Patrignani F, Catellone V, Siroli L, Serrazanetti D, Braschi G, Mannozi C, Dalla Rosa M, Lanciotti R (2017) Effect of (Ultra)- High pressure homogenization and natural antimicrobial nano based emulsions on kiwi juice safety and shelf-life Proc. of Foodinnova 2017, [A330].
- Mannozi C, Fauster T, Haas K, Tylewicz U, Romani S, Jaeger H (2017). Effects of pulsed electric field (PEF) and ohmic heating (OH) on bioactive compounds extraction from fruit and vegetable mash. In Proc. of 2nd World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Field in Biology, Medicine, and Food & Environmental Technologies 24-28 September 2017 Norfolk, Virginia, USA [OR-112].
- Mannozi C (2017) Development of innovative chitosan-based coatings for shelf-life extension of blueberries, Proc. of 22nd Workshop on the developments in the Italian PhD research on Food Science Technology and Biotechnology, pp 46-47.
- Mannozi C, Rompoonpol K, Fauster T, Tylewicz U, Romani S, Jaeger H (2017). Influence of pulsed electric field (PEF) and ohmic heating (OH) pre-treatment on enzyme and antioxidant activity of recovered fruit and vegetable juices. In 31st EFFoST International Conference, 13-16 November 2017 Melia Sitges (Spain) [O25.5].
- Mannozi C, Tylewicz U, Chinnici F, Siroli L, Rocculi P, Dalla Rosa M, Romani S (2018). Effects of chitosan based coatings enriched with procyanidin by-product on quality of fresh blueberries during storage. Food Chem, 251, 18-24.
- Mannozi C, Fauster T, Haas K, Tylewicz U, Romani S, Jaeger H (2018). Role of thermal and electric field effects during the pre-treatment of fruit and vegetable mash by pulsed electric fields (PEF) and ohmic heating (OH). Innov Food Sci Emerg Tech (submitted).
- Patrignani F, Lanciotti R, Gardini F., Mannozi C, Tappi S., Tylewicz U, Pasini F., Castellone V, Riciputi Y, Rocculi P, Romani S, Caboni M.F, Dalla Rosa M (2018). Effect of (ultra)-high pressure homogenization on the shelf-life and functionality of organic kiwifruit juice. LWT- Food Sci Tech (submitted).