



Prolungamento della *shelf life* dell'orata (*Sparus aurata* L.) mediante tecnologie innovative HPP, MAP, Edible coating

Dr. Roberto Cappuccinelli  
Porto Conte Ricerche



# Introduzione

## Fattori limitanti la *shelf life* dei pesci

- pH *post mortem* relativamente elevato (>6)
- alto contenuto di azoto non proteico
- attività enzimatiche (proteolisi, lipolisi, reazioni a carico del TMAO) sia endogene che microbiche responsabili del rapido deterioramento delle caratteristiche sensoriali (texture, aroma)
- elevato contenuto di acqua (65-80%)

I cambiamenti delle caratteristiche sensoriali che determinano il rifiuto del prodotto possono avvenire spesso prima che il prodotto sia scaduto dal punto di vista igienico.



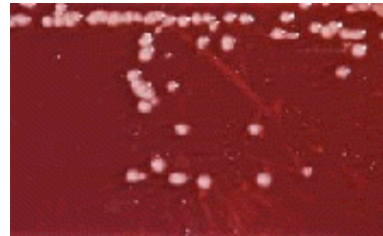
## Microflora dei pesci marini

Per la maggior parte psicrotrofi e anaerobi facoltativi

Tra questi ricordiamo:



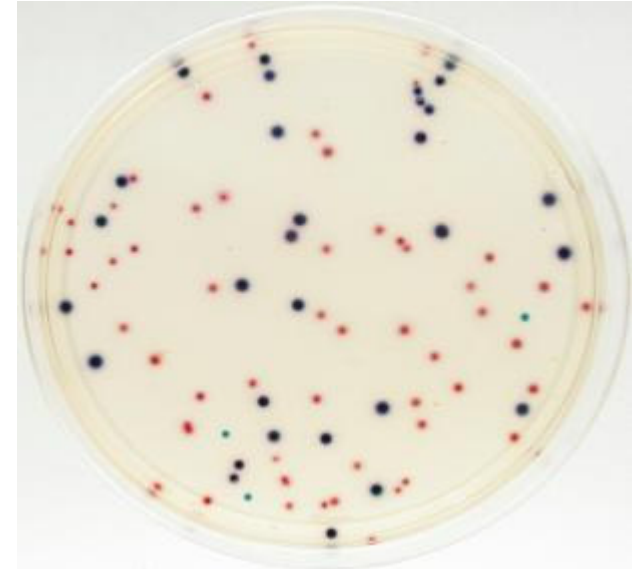
*Shewanella spp*



*Pseudomonas spp*



*Vibrio spp*



*Aeromonas spp*  
(colonie rosa)



Durante la conservazione:

1. Consumo dell' $O_2$  nei tessuti
2. Utilizzo dell'ossido di trimetilammina (TMAO) come accettore di elettroni
3. TMAO ridotto a trimetilammina (TMA)
4. TMA insieme a ammoniaca, monoetilammina e dimetilammina costituiscono le basi volatili totali (TVB)





Lo sviluppo di odori anomali è legato anche a reazioni enzimatiche (proteolisi/lipolisi) e ossidazioni con la formazione di:

1. Aldeidi e chetoni
2. Acidi organici (acetico, formico,propionico)
3. Composti solforati (idrogeno solforato, dimetilsulfide, metantiolo)





Altri indici di scadimento qualitativo sono:

1. Rammollimento dei tessuti, dato dall'attività di enzimi proteolitici nel *post mortem*
2. La perdita di essudati con conseguente decadimento del turgore
3. La perdita di lucentezza della pelle e del bulbo oculare



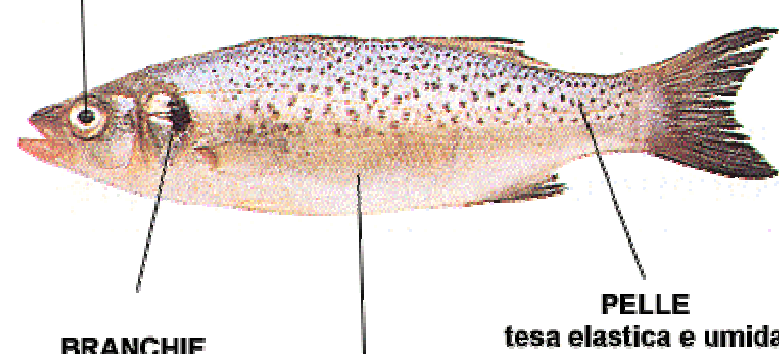


Sono stati elaborati diversi metodi per la valutazione delle caratteristiche qualitative delle specie ittiche (es. Quality Index Method) basati sulla valutazione di molti parametri, legati soprattutto alle caratteristiche sensoriali.

### ASPETTO GENERALE

brillante

**OCCHIO**  
in rilievo brillante



**BRANCHIE**  
rosse umide

**ADDOME**  
turgido e integro

**PELLE**  
tesa elastica e umida





## Obiettivi Trattamento HPP

Stabilizzare il prodotto minimamente lavorato (decapitato ed eviscerato) e confezionato sotto vuoto mediante trattamento ad alte pressioni, prolungando la *shelf life* in condizioni di refrigerazione.

L'effetto del trattamento è stato valutato monitorando i parametri di qualità:

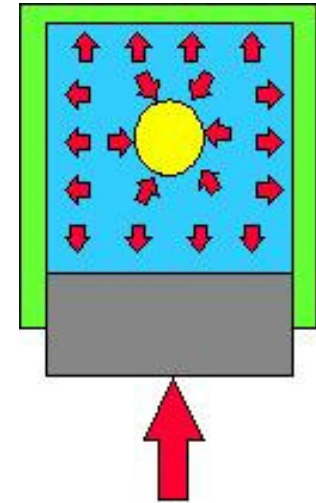
Stabilità microbica

Formazione di ammine volatili

Texture (struttura)

WHC (capacità di ritenzione dell'acqua)

Colore







## Obiettivi Confezionamento MAP

Estendere la *shelf-life* del prodotto ittico confezionato in atmosfera controllata e refrigerato (+2 °C) rispetto al prodotto conservato in ghiaccio.

L'effetto del trattamento è stato valutato monitorando i parametri di qualità:

Stabilità microbica

Colore

Valutazioni sensoriali





## Obiettivi Edible coating

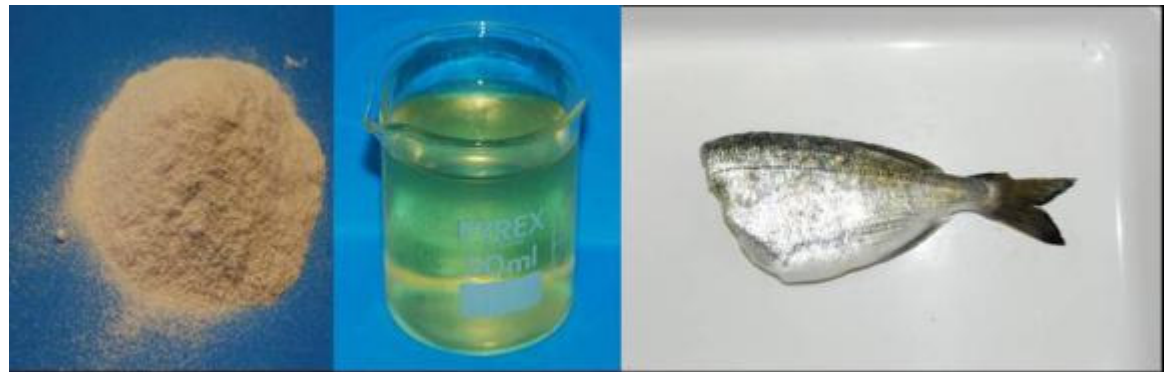
L' *edible coating* (rivestimento edibile) realizzato consiste in una pellicola di polisaccaridi che viene formata attorno al prodotto, con lo scopo di esercitare una azione antimicrobica

La pellicola è trasparente e può essere consumata insieme all'alimento

L'effetto del trattamento è stato valutato monitorando i parametri di qualità:

Stabilità microbica

Valutazioni sensoriali





## Materiali e metodi

Campioni provenienti da Maricoltura Alghero p.m. g 276,8 +/- 27,4

Controllo: pesci interi conservati in ghiaccio e stoccati a +2 °C

6 tempi di analisi: 0, 3, 7, 9, 11, 14 gg

Trattamento HPP: pesci decapitati ed eviscerati, confezionati sotto vuoto, trattati a tre differenti pressioni e refrigerati a +2°C

4 tempi di analisi: 0, 15, 26, 33 gg

Confezionamento MAP: 2 condizioni (intero e decapitato/eviscerato), 2 atmosfere e refrigerati a +2°C

5 tempi di analisi: 0, 7, 11, 16, 22 gg

Edible coating: 2 condizioni (filettato e decapitato/eviscerato ) e refrigerati a +2°C

4 tempi di analisi: 2, 5, 7, 13 gg



## Operazioni unitarie:

# ALTE PRESSIONI (HPP)



1. Decapitazione-eviscerazione



2. Confezionamento sottovuoto



HPP410100 Isostatic Press (Flow Autoclave Systems Inc, Columbus, Ohio, USA)

### 3. Trattamento ad alte pressioni

Condizioni di processo:

Pressione: 200, 300, 400 MPa

Temperatura:  $20 \pm 1^\circ\text{C}$

Fluido di pressione: Houghton-SAFE/H<sub>2</sub>O 50/50 vol.

Come-up time: 5 MPa/s

Release time: 10 s



## Analisi microbiologiche

conta batterica totale mesofila (PCA)

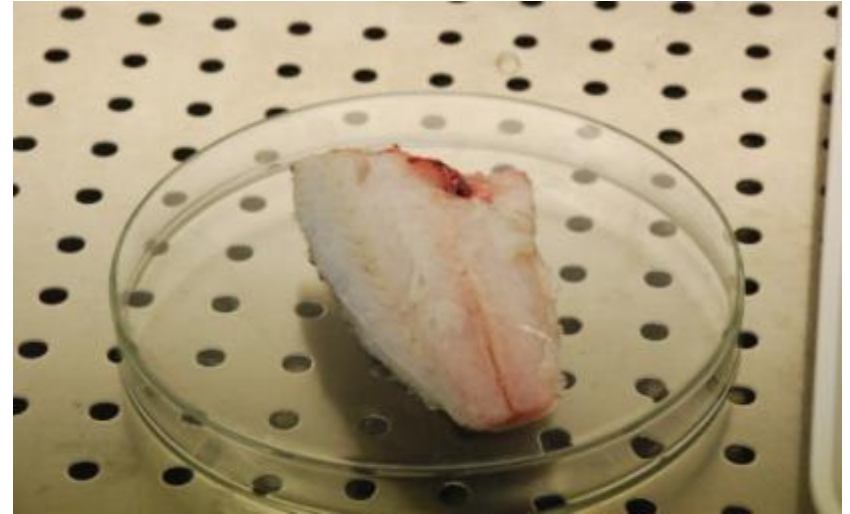
conta batterica totale psicrofila (PCA)

conta batterica totale anaerobi (PCA)

enterobatteriacee (VRBA+Mug o Mac Konkey)

clostridi (DRCM)

batteri produttori di H<sub>2</sub>S (Iron Agar Lyngby)



4 tempi di analisi: 0, 15, 26, 33 g

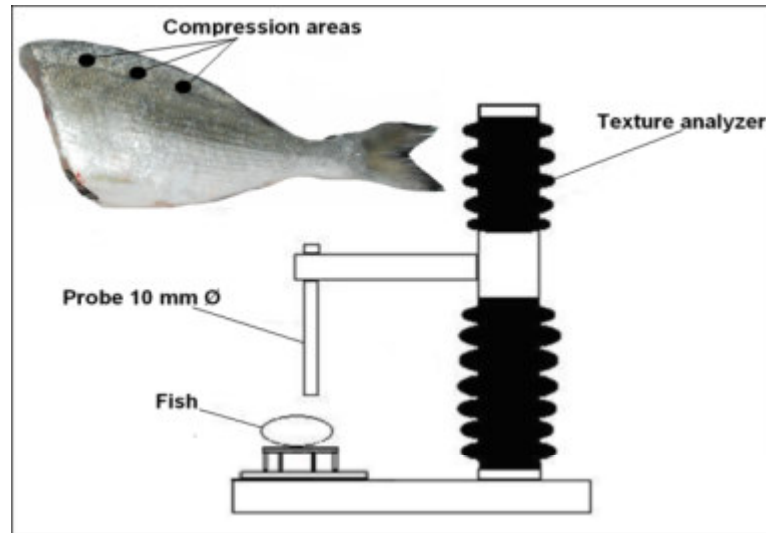
Azoto basico volatile totale (TVBN)

Kjeltec analyzer unit 2400 FOSS, il quale effettua analisi attraverso il metodo Kjeldahl.





## Analisi di struttura - Stress relaxation test



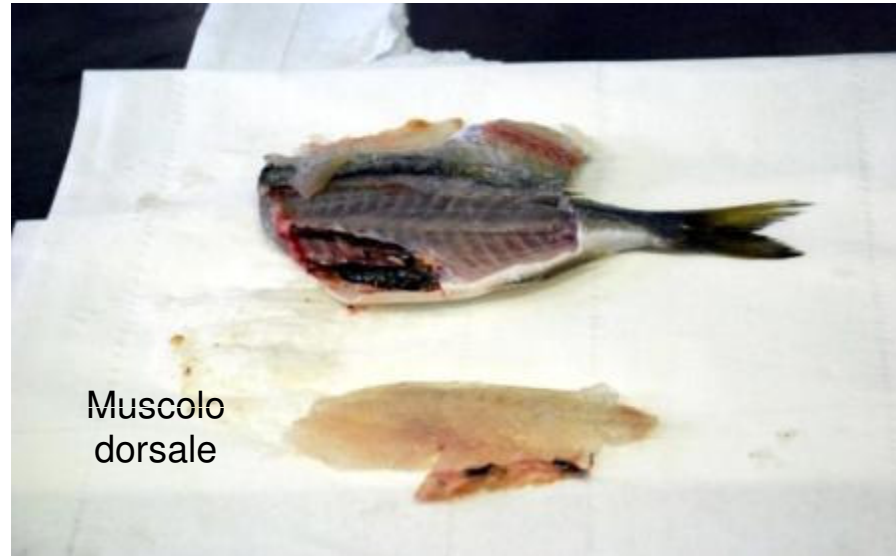
Il test consiste nel sottoporre il materiale a compressione mentre la forza necessaria a mantenere la deformazione (5%) viene osservata in funzione del tempo (100 sec.)

Le analisi sono state effettuate con Texture analyzer TA.XT2i.

I dati sono stati sottoposti ad analisi di regressione, effettuando il fittaggio dei dati sperimentali con modelli non lineari (generalizzato di Maxwell e di Nussinovich) e uno lineare (mod. di Peleg)



## Water Holding Capacity



La capacità di ritenzione di liquidi è stata valutata sottoponendo i campioni di muscolo dorsale a centrifugazione (10000 rpm x 10 min 4°C) e valutando le perdite di liquidi % rispetto al peso iniziale



## Colore

Spettrofotometro portatile a geometria diffusa della Konica-Minolta (CM 700d)

Il colore è descritto dalle coordinate di colore CIE  $L^*a^* b^*$







## ATMOSFERA CONTROLLATA (MAP)



60% CO<sub>2</sub>, 30% O<sub>2</sub>, 10%N<sub>2</sub>

60% CO<sub>2</sub>, 40%N<sub>2</sub>.

60% CO<sub>2</sub>, 30% O<sub>2</sub>, 10%N<sub>2</sub>

60% CO<sub>2</sub>, 40%N<sub>2</sub>.

### Analisi microbiologiche

- conta batterica totale mesofila (PCA)
- conta batterica totale psicrofila (PCA)
- conta batterica totale anaerobi (PCA)
- enterobatteriacee (VRBA+Mug o Mac Konkey)
- clostridi (DRCM)
- batteri produttori di H<sub>2</sub>S (Iron Agar Lyngby)

5 tempi di analisi: 0, 7, 11, 16, 22 gg

### Colore

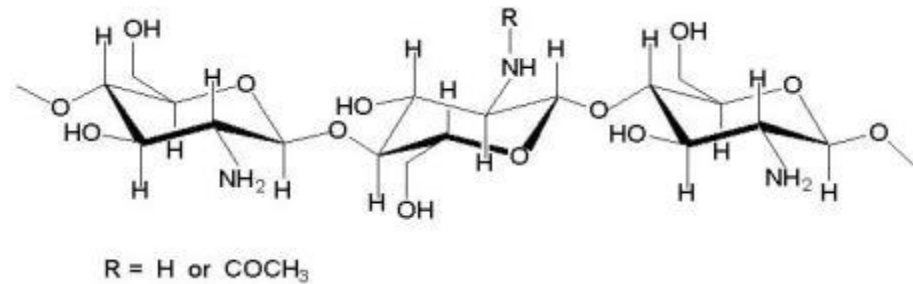
Il colore è descritto dalle coordinate di colore CIE L\*a\* b\* :

- chiarezza coordinata **L\***
- contenuto in rosso valori di **a\*** positivi
- in verde valori di **a\*** negativi
- in giallo valori di **b\*** positivi
- in blu valori di **b\*** negativi



## EDIBLE COATING

Sono state effettuate delle prove preliminari con un *edible coating* a base di chitosano, polimero lineare della N-acetilglucosamina e N-glucosamina derivato dalla deacetilazione della chitina, costituente dell'esoscheletro dei crostacei



### Analisi microbiologiche

- conta batterica totale mesofila (PCA)
- conta batterica totale anaerobi (PCA)
- Pseudomonas (Pseudomonas CFC agar)

4 tempi di analisi: 2, 5, 7, 13 gg

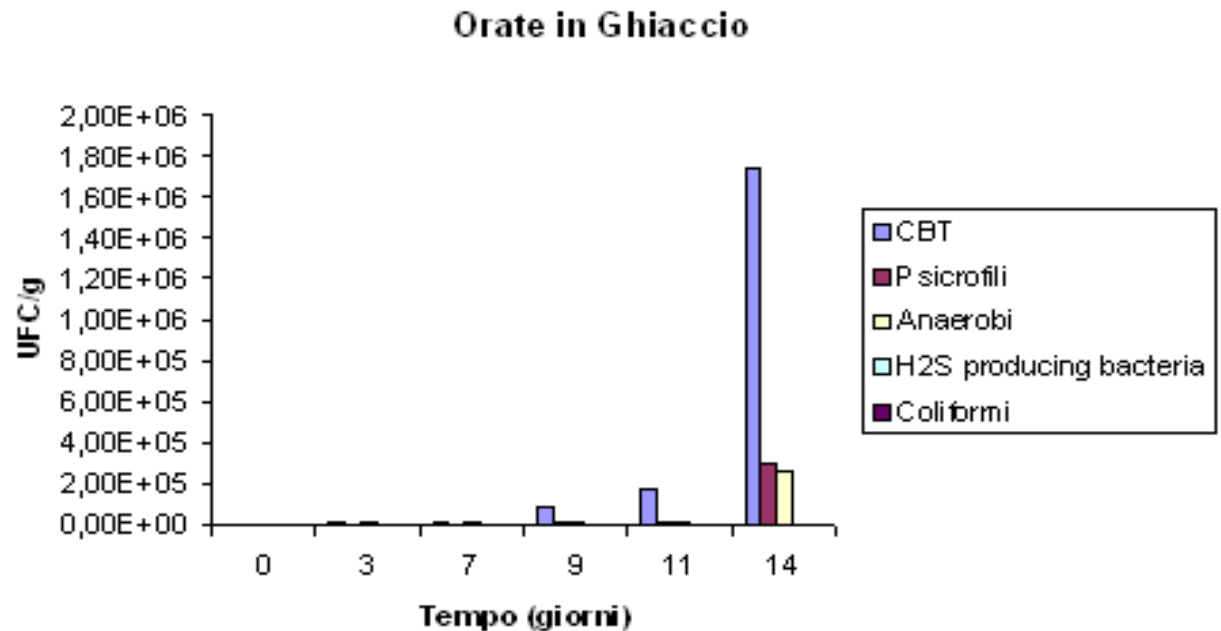




## Risultati

### CONTROLLO

T0 valori tra  $10^2/10^3$  per conte in PCA



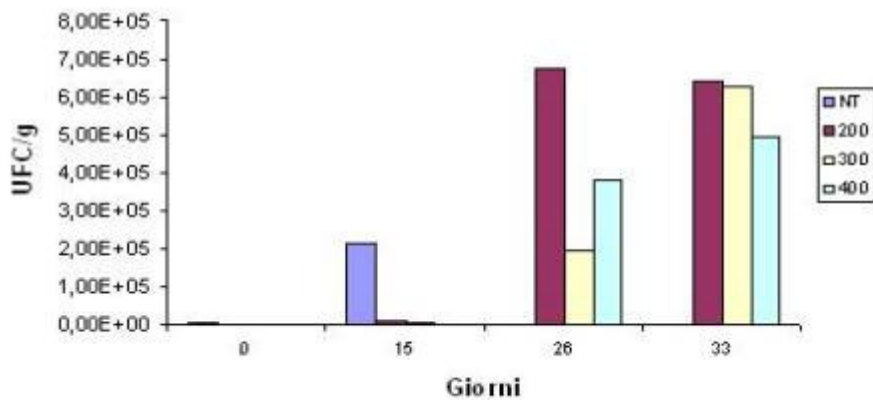
*Shelf life* stimata tra **11 e 14 giorni** in base alle conte microbiche (conta totale  $\sim 2 \times 10^6$  U.F.C./g a 14 giorni) e alle valutazioni sensoriali



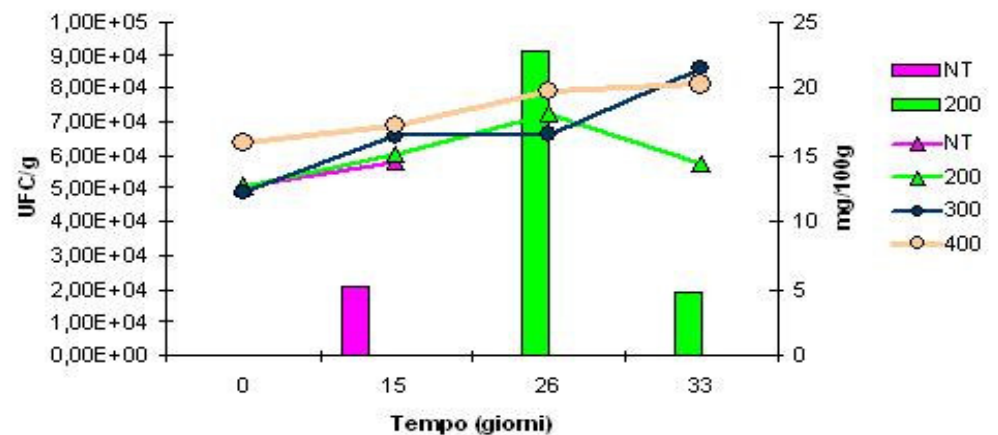
## ALTE PRESSIONI (HPP)

### Analisi microbiologiche e TVBN (azoto volatile totale)

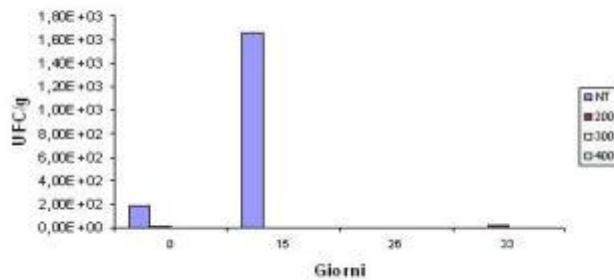
CBT



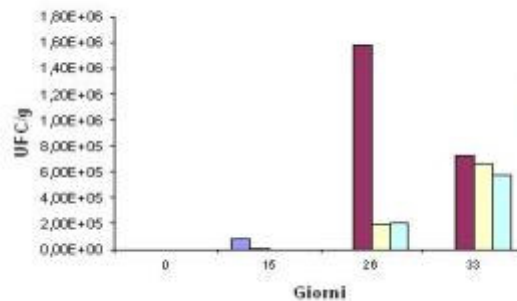
H<sub>2</sub>S Producing bacteria-TVBN



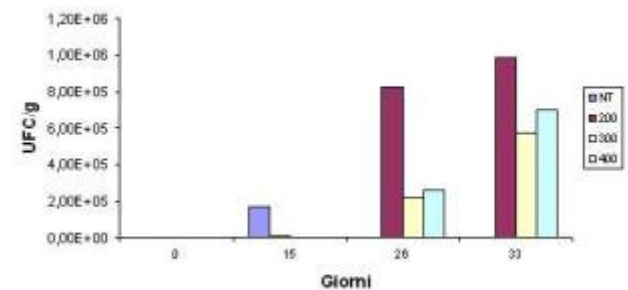
Coliformi



Anaerobi



Psicrofilii

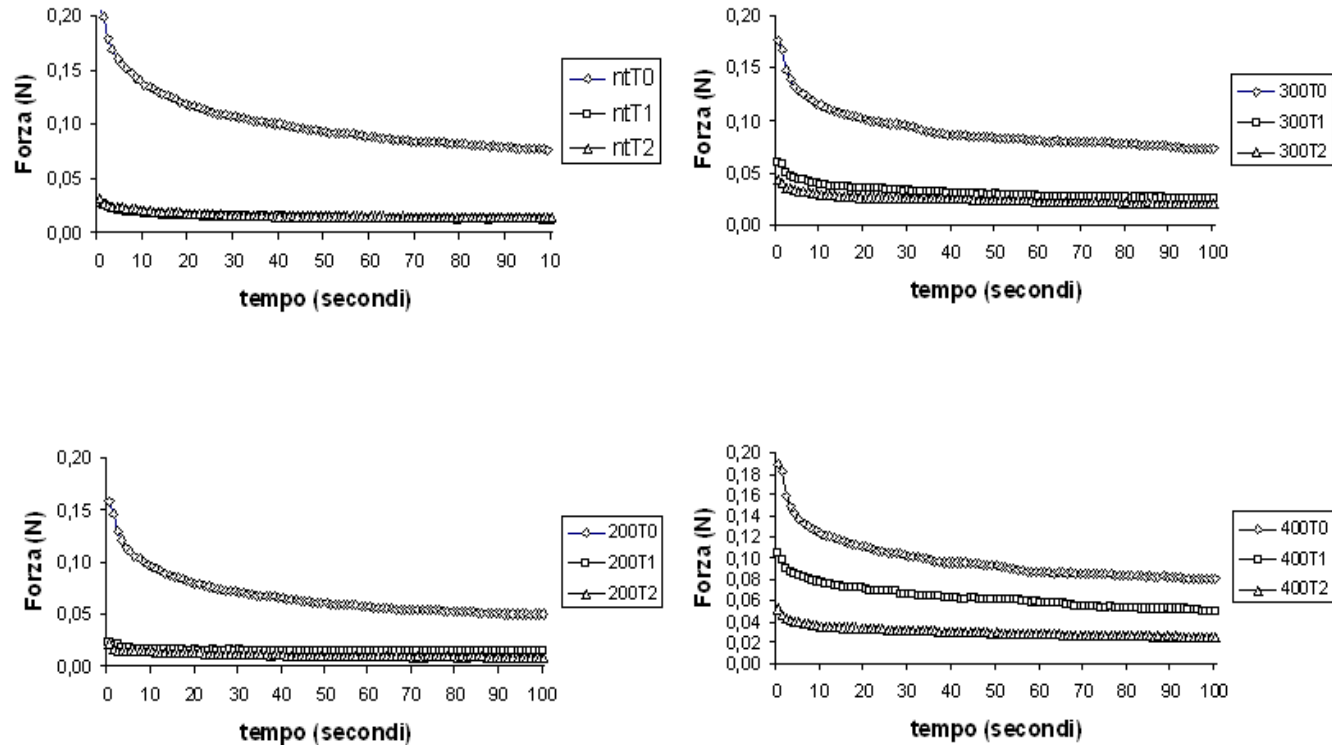


Clostridi non rilevati in tutti i tempi di analisi



## Analisi di struttura- Stress relaxation test

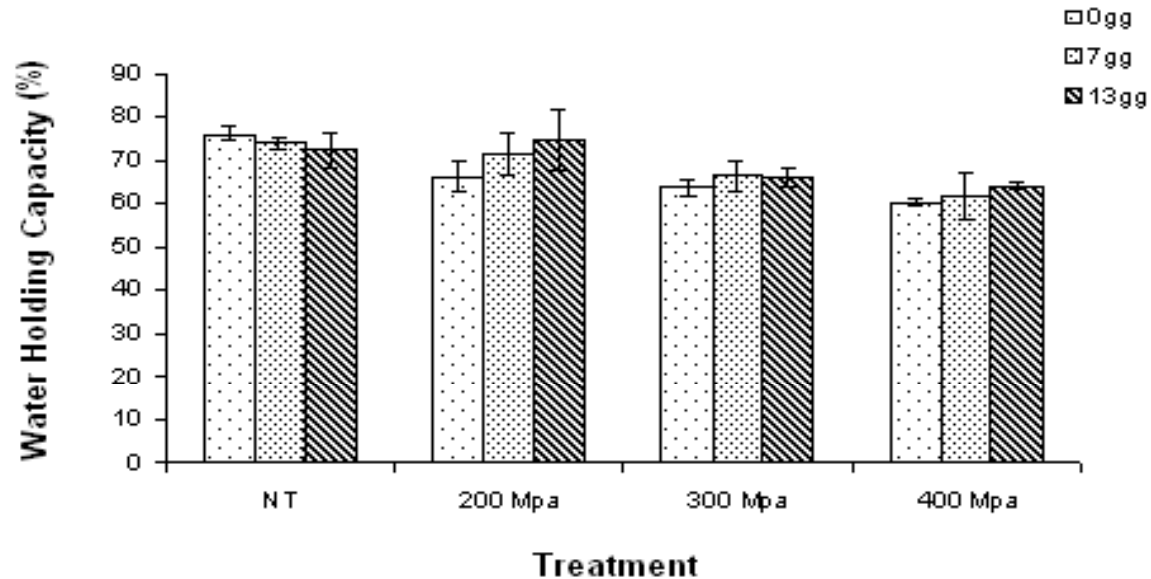
Curve medie di rilassamento



In sintesi, dalla modellazione matematica delle curve emerge che trattamenti a 300 e 400 Mpa mantengono il pesce più a lungo “compatto” e “elastico” durante la conservazione, rispetto al pesce non trattato o trattato a pressioni inferiori tra quelle sperimentate (200 Mpa). A 200 Mpa si riscontra un peggioramento della struttura rispetto ai campioni non trattati e trattati alle altre pressioni, il che si traduce in una qualità inferiore durante la conservazione.



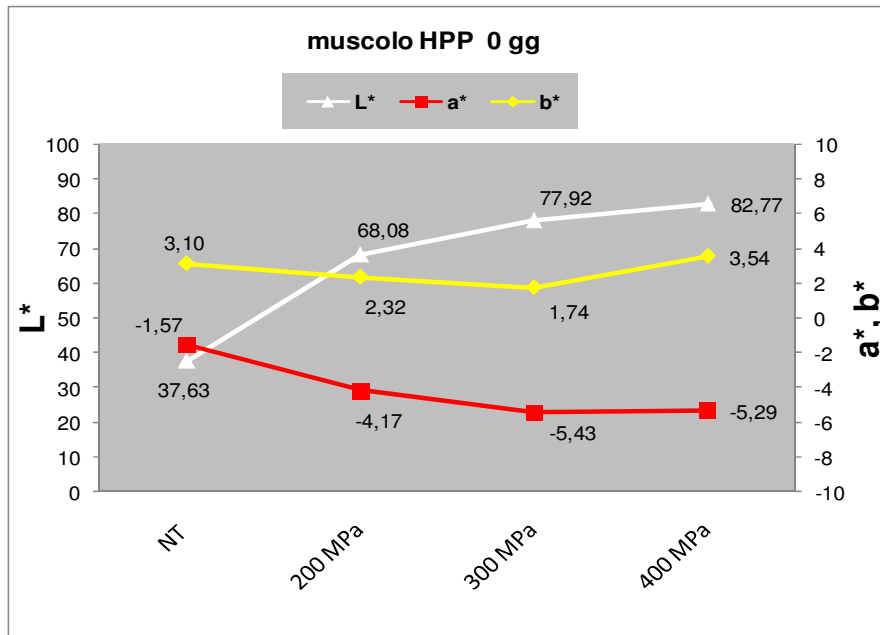
## Water Holding Capacity



**Maggiore è la pressione applicata, maggiore è la perdita di liquidi per centrifugazione e le differenze (significative) vengono mantenute durante la conservazione. Ciò si traduce in una maggiore perdita di essudati durante la cottura, anche se in misura inferiore e meno che proporzionale rispetto alle perdite per centrifugazione.**



## Colore



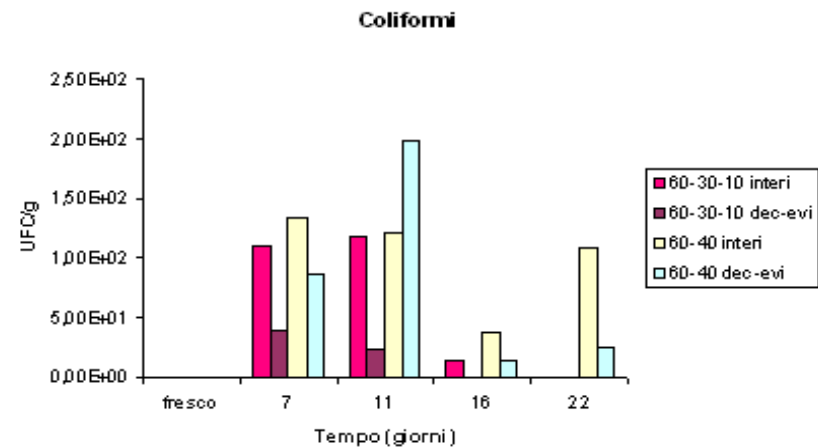
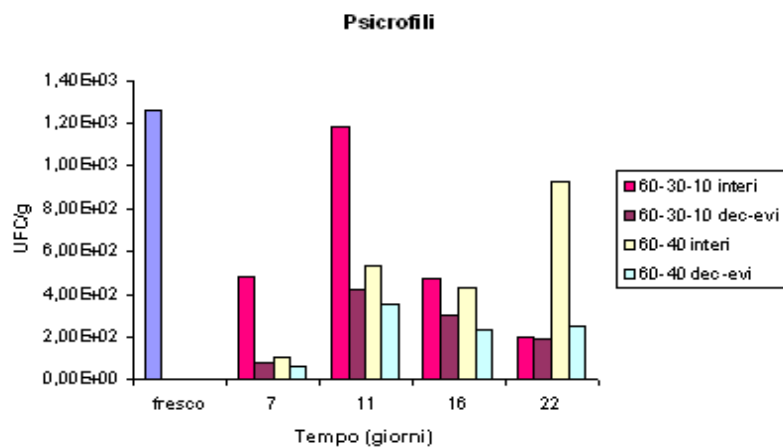
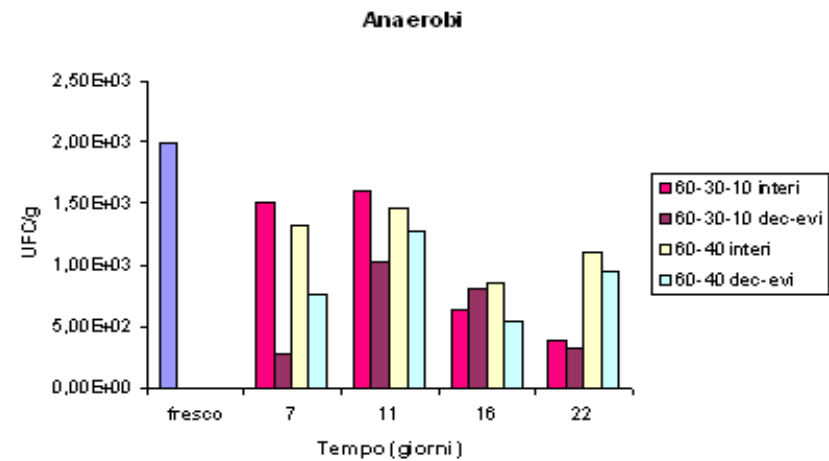
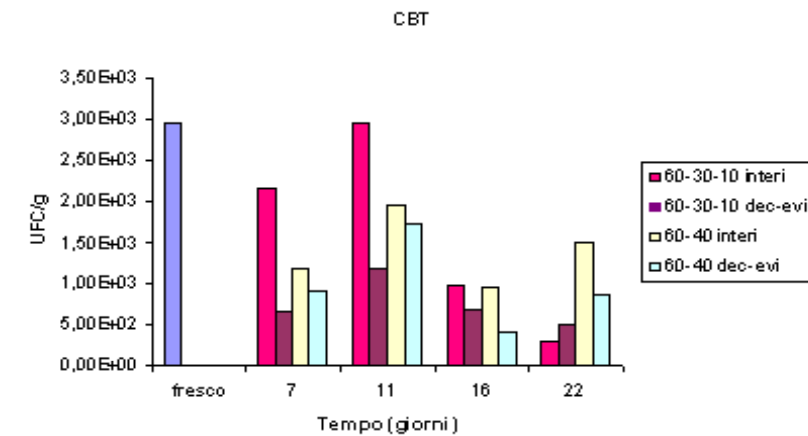
Da notare particolarmente l'effetto dei trattamenti sulla coordinata di colore  $L^*$ , che macroscopicamente si traduce in un aumento di chiarezza della pelle e di sbiancamento del muscolo, più evidente nei pesci trattati a pressioni più elevate (300-400 MPa).

La diminuzione di  $a^*$  è riportato essere legata alla depolimerizzazione del gruppo eme della mioglobina.



# ATMOSFERA CONTROLLATA (MAP)

## Analisi microbiologiche

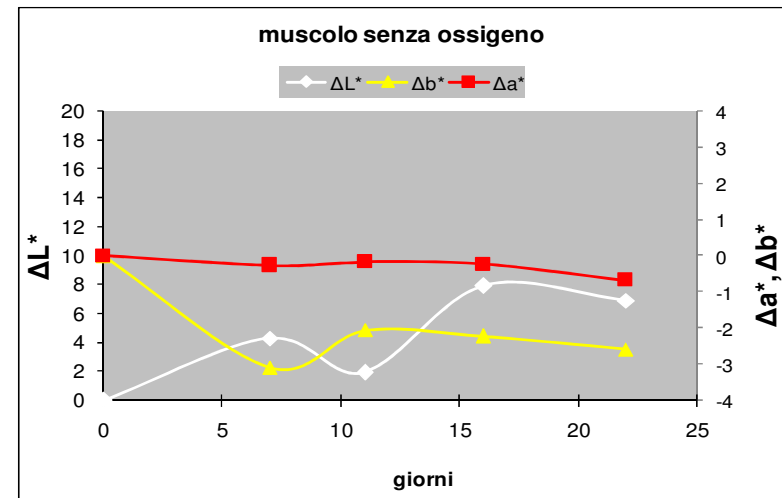
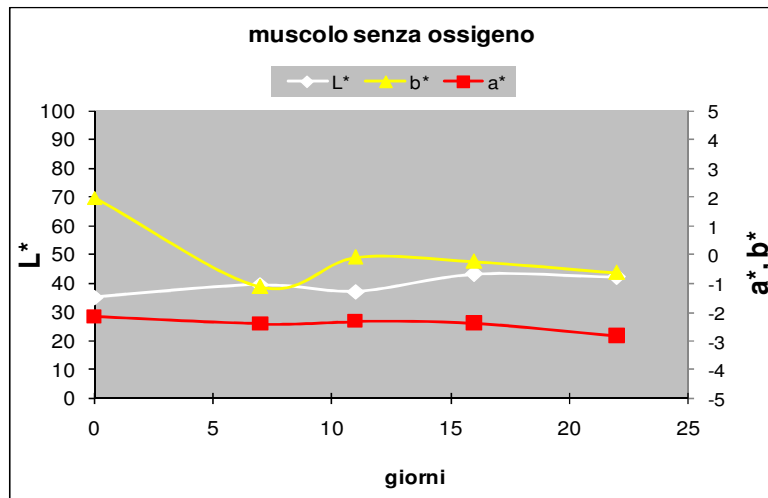
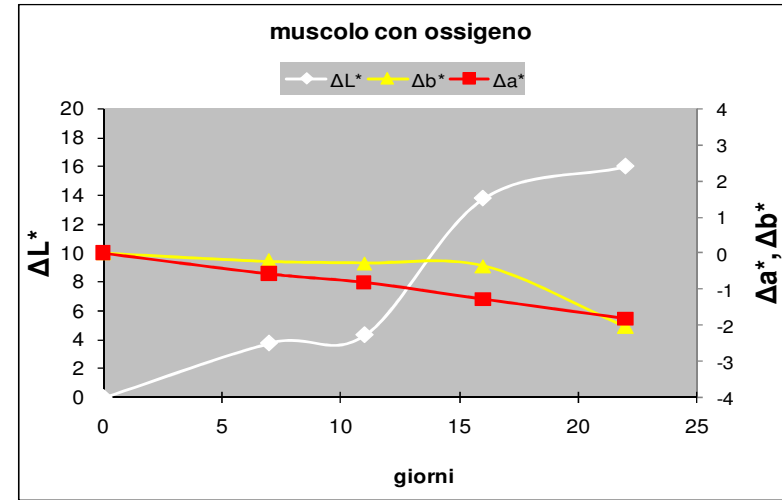
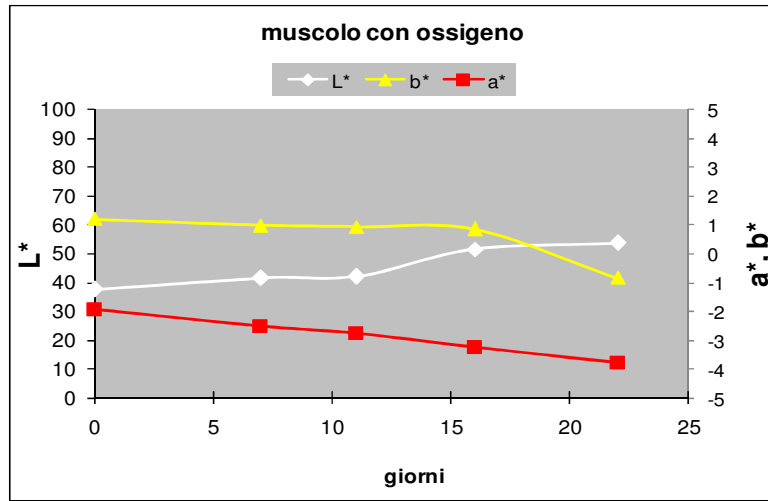


**Clostridi e  $H_2S$  producing bacteria non rilevati in tutti i tempi di analisi**





## Colore



La diminuzione di  $a^*$  nei campioni confezionati con  $O_2$  si traduce in un cambiamento di colore del muscolo che assume note verdastre che lo rendono poco appetibile



## Valutazioni sensoriali

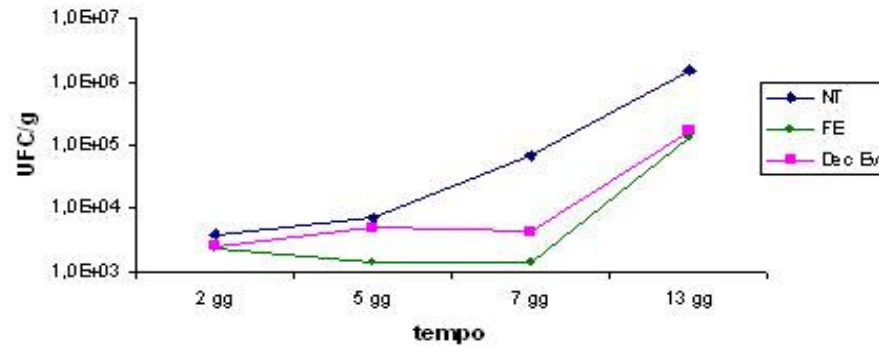




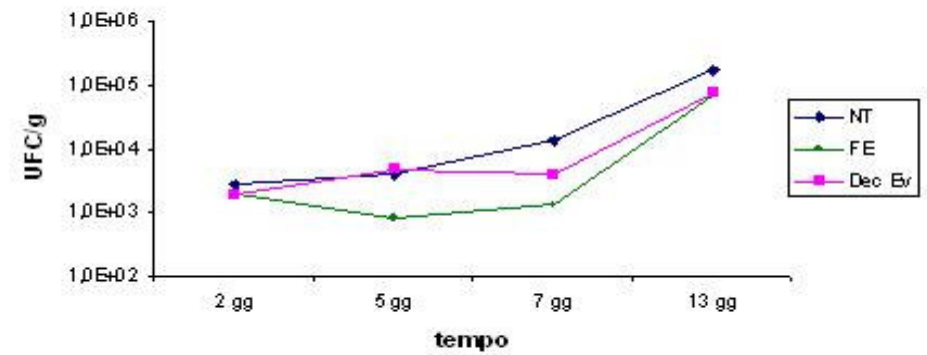
## EDIBLE COATING

### Analisi microbiologiche

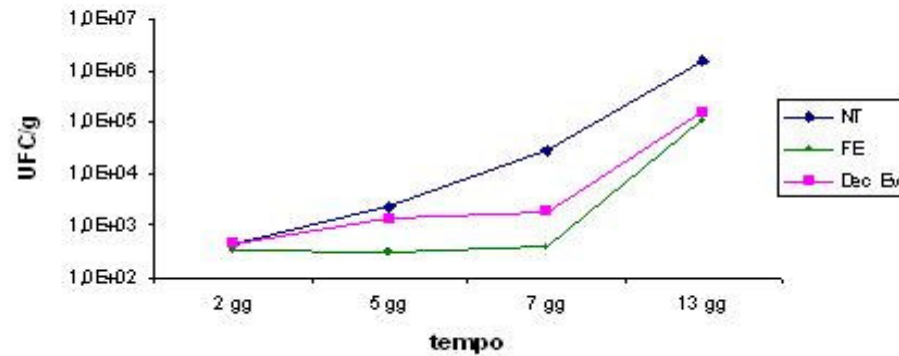
CBT



Mesofili an aerobi



Pseudomonas





# Conclusioni

## ALTE PRESSIONI (HPP)

Trattamento	Tempo analitico (giorni)	Valutazione sensoriale	Conte microbiche totali (UFC/g)	Shelf life (giorni)
Non trattato	0	Assenza di odori anomali	$3,8 \times 10^3$	>12 <15
	15	Presenza di odori anomali	$2,1 \times 10^5$	
200 Mpa-10'-20°C	0	Assenza di odori anomali	$1 \times 10^3$	>26 <33
	15	Assenza di odori anomali	$7 \times 10^3$	
	26	Assenza di odori anomali	$6,7 \times 10^5$	
	33	Presenza di odori anomali	$6,3 \times 10^5$	
300 Mpa-10'-20°C	0	Assenza di odori anomali	$3,7 \times 10^1$	33>
	15	Assenza di odori anomali	$2,1 \times 10^3$	
	26	Assenza di odori anomali	$1,9 \times 10^5$	
	33	Assenza di odori anomali	$6,2 \times 10^5$	
400 Mpa-10'-20°C	0	Assenza di odori anomali	$8,7 \times 10^1$	33>
	15	Assenza di odori anomali	$3,2 \times 10^2$	
	26	Assenza di odori anomali	$3,8 \times 10^5$	
	33	Assenza di odori anomali	$4,9 \times 10^5$	

**COLORE:** I trattamenti ad alte pressioni determinano uno sbiancamento del muscolo, e l'effetto è tanto maggiore quanto maggiore è la pressione applicata.

**WHC:** I pesci trattati perdono più liquidi per centrifugazione rispetto al non trattato, e l'effetto aumenta all'aumentare della pressione applicata. Questo può tradursi in una maggiore perdita di essudati durante la conservazione e maggiori perdite di liquidi in cottura.

**STRUTTURA:** Trattamenti a 300 e 400 Mpa mantengono il pesce più elastico e compatto durante la conservazione, rispetto ai campioni non trattati e trattati a pressioni inferiori (200 MPa).



## ATMOSFERA CONTROLLATA (MAP)

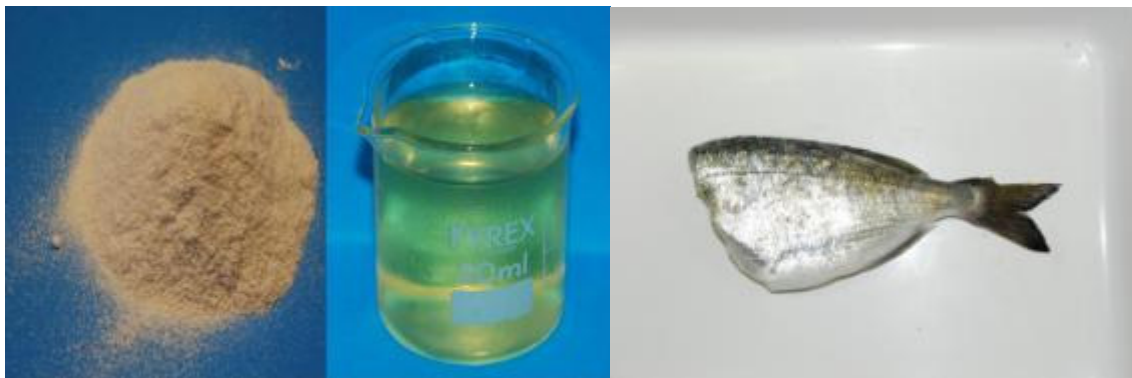
Campioni	Tempo analitico (gg)	Valutazione sensoriale	Conte microbiche totali (UFC/g)	Shelf life (giorni)
60 CO <sub>2</sub> - 30 O <sub>2</sub> - 10 N <sub>2</sub> Interi	0	Aspetto fresco	2,9x 10 <sup>3</sup>	>11 <16
	7	Aspetto fresco	2,1 x10 <sup>3</sup>	
	11	Aspetto fresco	2,9x 10 <sup>3</sup>	
	16	Emorragie, muco	9,7x10 <sup>2</sup>	
	22	Emorragie, muco	3,8x10 <sup>2</sup>	
60 CO <sub>2</sub> - 30 O <sub>2</sub> - 10 N <sub>2</sub> decapitati-eviscerati	0	Aspetto fresco	2,9x 10 <sup>3</sup>	>16 <22
	7	Aspetto fresco	9,2x10 <sup>2</sup>	
	11	Aspetto fresco	1,7x10 <sup>3</sup>	
	16	Aspetto fresco	4,2x10 <sup>2</sup>	
	22	Muscolo ossidato	8,6x10 <sup>2</sup>	
60 CO <sub>2</sub> - 40 N <sub>2</sub> Interi	0	Aspetto fresco	2,9x 10 <sup>3</sup>	>11 <16
	7	Aspetto fresco	1,2x 10 <sup>3</sup>	
	11	Aspetto fresco	1,9x10 <sup>3</sup>	
	16	Emorragie, muco	9,6 x10 <sup>2</sup>	
	22	Emorragie, muco	1,5x10 <sup>3</sup>	
60 CO <sub>2</sub> - 40 N <sub>2</sub> decapitati-eviscerati	0	Aspetto fresco	3,8x 10 <sup>3</sup>	22>
	7	Aspetto fresco	6,7x 10 <sup>2</sup>	
	11	Aspetto fresco	1,2x10 <sup>3</sup>	
	16	Aspetto fresco	6,9x10 <sup>2</sup>	
	22	Aspetto fresco	5x10 <sup>2</sup>	



## EDIBLE COATING

L' *edible coating* di chitosano determina una riduzione di circa 1 ciclo logaritmico delle cariche microbiche dei batteri aerobi totali e di *Pseudomonas* (anch'essi aerobi), e di 0,5 cicli logaritmici nelle conte dei batteri anaerobi.

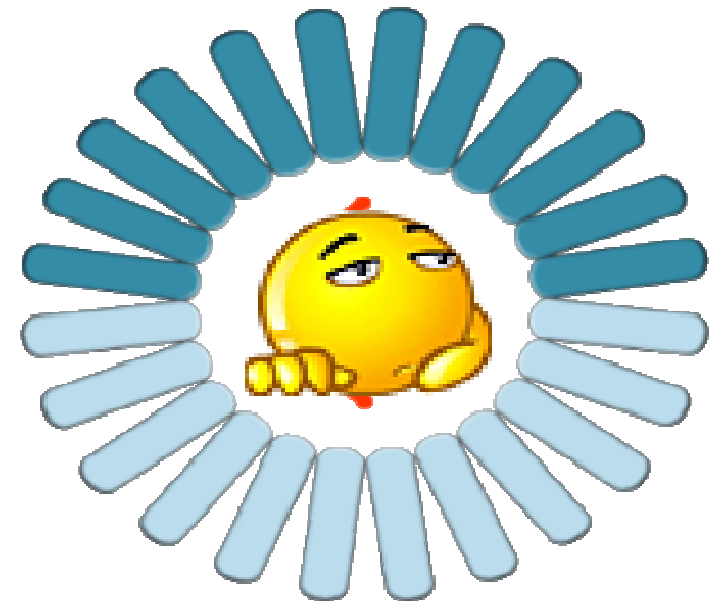
A 13 giorni non ci sono differenze nelle conte microbiche tra filetto e decapitato-eviscerato, che comunque conservano cariche microbiche più basse rispetto al controllo senza *edible coating*.





Il chitosano non è ancora previsto dalla legislazione europea per l'uso in edible coating.

E' però già usato, ad esempio, sia come integratore alimentare nelle diete, sia in agricoltura biologica come stimolatore della crescita e induttore di resistenza nelle piante.





Elia Bonaglini  
Marco Campus  
Roberto Cappuccinelli  
Alessandra Cherchi  
Sabrina Pintus  
Maria Cristina Porcu  
Luca Pretti  
Nicola Secchi  
Giuseppe Stara  
Vittorio Tedde

Coordinamento  
Tonina Roggio



