

Oli ed estratti

Per gli alimenti la sfida della bioconservazione

Vantaggi e prospettive di una tecnologia in forte sviluppo

di Antonello Paparella, Annalisa Serio, Clemencia Chaves López

Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università degli Studi di Teramo

L'uso di questi prodotti consente di promuovere la stabilità e la sicurezza senza ostacoli né di tipo normativo né di carattere commerciale

La bioconservazione alimentare comprende tecnologie "naturali" finalizzate al controllo della moltiplicazione di microrganismi indesiderati negli alimenti, attraverso l'impiego di:

- sostanze antimicrobiche naturalmente presenti negli alimenti o in matrici naturali;
- sostanze antimicrobiche prodotte o attivate negli alimenti in seguito a stimolazione fisica o chimica (ad esempio, trattamento del latte con alte pressioni di omogeneizzazione);
- colture microbiche protettive, capaci di esercitare un'azione di biocontrollo senza modificare le caratteristiche sensoriali e tecnologiche dell'alimento.

La scelta della strategia di bioconservazione è condizionata, oltre che da fattori tecnologici ed economici, da vincoli di ordine normativo. Nonostan-

te l'interesse dei ricercatori per le colture protettive, l'aggiunta volontaria di tali microrganismi negli alimenti è chiaramente ostacolata sia da ragioni di fattibilità, legate alla gestione delle colture nei reparti di produzione, sia da limiti autorizzativi, primariamente conseguenti alla pubblicazione del regolamento europeo 258/97 sui novel food.

Per quanto riguarda i trattamenti bioconservanti di tipo fisico o chimico, il principale limite consiste nella possibile modificazione delle caratteristiche tecnologiche del prodotto, ad esempio le proprietà reologiche, oltre alla necessità di investimenti per l'acquisto e la gestione dell'impianto. In tale ottica, gli oli essenziali e gli estratti idrosolubili presentano migliori potenzialità di applicazione come bioconservanti.

Mentre è ampiamente documentato l'impiego di queste sostanze come antiossidanti in diversi alimenti, l'applicazione industriale con finalità antimicrobiche è più recente.

Obiettivi dei trattamenti bioconservanti

Due sono le principali finalità dei trattamenti antimicrobici con oli essenziali o estratti idrosolubili:

- prolungare la conservabilità degli alimenti,

mediante il controllo della comunità microbica degradativa;

- ottenere un effetto antagonista nei confronti di microrganismi patogeni, particolarmente importante negli alimenti destinati al consumo diretto, senza trattamento di bonifica finale.

Un'ampia gamma di composti antimicrobici naturali è disponibile per la bioconservazione; tali sostanze possono essere ottenute da tessuti animali o vegetali, così come da microrganismi, in cui spesso rappresentano un meccanismo di difesa. In particolare, è ampiamente documentata l'attività antimicrobica di chitosano, flavonoidi, polifenoli e oli essenziali. In questo caso, al produttore non è richiesto alcun investimento e non sono normalmente necessarie modifiche dell'etichettatura, poiché molte di queste sostanze possono rientrare nella definizione di aromi naturali o essere utilizzate per trattamenti antimicrobici in una fase del processo, senza lasciare residui attivi, fungendo in tal caso da coadiuvanti tecnologici.

Il principale vincolo è rappresentato dalla necessità di non modificare l'accettabilità sensoriale del prodotto; per tale motivo, è importante ottenere l'effetto bioconservante a basso dosaggio, assicurando al tempo stesso un'omogenea distribuzione del principio attivo.

Modalità di applicazione

In funzione della composizione del prodotto e della sua ecologia microbica, è possibile prevedere diverse modalità di applicazione:

- *miscelazione con il prodotto alimentare*, nel caso di alimenti fluidi, pastosi o macinati, a condizione che l'alimento non sia destinato a processi di fermentazione (ad esempio, lattici fermentati, salami), che potrebbero essere ostacolati dai principi attivi aggiunti;
- *trattamento di superficie con effetto decontaminante*, finalizzato a ridurre la carica di microrganismi patogeni e/o degradativi;
- *rivestimento superficiale (coating) con materiali viscosi o film edibili ad azione antimicrobica*, mirato a proteggere la superficie da

Il principale limite dei trattamenti bioconservanti di tipo fisico o chimico riguarda la possibile modificazione delle caratteristiche tecnologiche del prodotto

possibili contaminazioni durante la distribuzione e il frazionamento.

Attività antimicrobica

Gli oli essenziali manifestano generalmente un'attività antimicrobica più elevata rispetto ai corrispondenti estratti idrosolubili, più evidente sui gram positivi rispetto ai gram negativi. Gli oli essenziali si ottengono mediante fermentazione, spremitura o estrazione, ma il metodo della distillazione in fase di vapore è quello maggiormente usato per la produzione commerciale.



È importante ottenere l'effetto bioconservante a basso dosaggio, assicurando al tempo stesso un'omogenea distribuzione del principio attivo

L'impiego di queste sostanze è particolarmente indicato, sia per trattamenti di superficie sia per miscelazione, in alimenti a elevato tenore lipidico come le salse, i formaggi e i prodotti a base di carne.

Sebbene il meccanismo di azione degli oli essenziali non sia stato del tutto chiarito, è stato dimostrato che sono in grado di modificare la permeabilità (Lambert et al., 2001) e la fluidità (Serio et al., 2010) della membrana batterica, fino a determinare la lisi cellulare (Paparella et al., 2008).

Tuttavia, per raggiungere tale effetto, è necessario che l'olio sia veicolato attraverso la membrana e tale fenomeno richiede l'allestimento di emulsioni e, quindi, l'aggiunta di un agente emulsionante food grade, come la lecitina.

Gli estratti idrosolubili, spesso ottenuti per infusione da matrici vegetali, sono particolarmente indicati per trattamenti di superficie su alimenti a basso tenore lipidico, come i vegetali di quarta gamma e i prodotti della pesca. Poiché l'azione

antimicrobica si ottiene solitamente a dosaggio più alto rispetto all'olio essenziale, la scelta del principio attivo richiede un'attenta valutazione della compatibilità tra estratti e profilo sensoriale del prodotto.

Ad esempio, per il trattamento di prodotti della pesca potrebbero essere più indicati estratti come il timo e l'alloro (per l'impatto su aroma e gusto) e meno adatti quelli di mirto e mirtillo (per la possibile modificazione del colore). La Foto 1 documenta trattamenti superficiali da noi effettuati su spiedini di pesce per nebulizzazione con oli essenziali di agrumi.

Per i trattamenti di rivestimento, infine, occorre valutare sia l'azione filmante e sigillante sia l'attività antimicrobica. I trattamenti possono essere effettuati con tre modalità: immersione (dipping), nebulizzazione (spraying) e laminazione (casting). In tal senso, un buon candidato è rappresentato dalle preparazioni a base di chitosano, che hanno dimostrato un'ottima performance anti-*Listeria* in trattamenti di rivestimento di carni suine refrigerate (Foto 2), confezionate in atmosfera ordinaria o sottovuoto (Paparella et al., 2010).

Valutazione del potenziale antimicrobico

La valutazione del potenziale antimicrobico delle sostanze bioconservanti richiede competenza ed



Foto 1 – Trattamento di superficie con oli essenziali di agrumi su spiedini di pesce



Foto 2 – Campione di filone suino (*Longissimus dorsi*), sottoposto a trattamento di dipping con chitosano

esperienza, oltre a un'approfondita conoscenza del processo e del prodotto al quale il trattamento è destinato.

Una prima fase riguarda la valutazione della compatibilità sensoriale e tecnologica tra principi attivi e prodotto, in modo da selezionare le sostanze per la fase di valutazione in vitro.

Le prove in vitro comportano la determinazione della Concentrazione Minima Inibente (MIC: Minimum Inhibitory Concentration) e dei parametri cinetici di inattivazione microbica (Time-Kill Kinetics) (Paparella et al., 2006).

La *Tabella 1* mostra i parametri cinetici registrati in prove con oli essenziali di salvia e rosmarino su *Staphylococcus aureus* ST12 in BHI.

Successivamente, è possibile programmare prove su sistema modello, utilizzando un substrato che riproduca le caratteristiche di composizione dell'alimento; ad esempio, la valutazione della performance di trattamenti per l'industria del salmone può essere effettuata attraverso prove di inoculazione su Brodo Salmone (Serio et al., 2011).

Il trattamento, infine, è messo a punto su sistema reale, definendo le condizioni di applicazione e accertando la performance in termini di riduzione decimale dell'inoculo, incremento di shelf-life, valutazione sensoriale.

Gli oli essenziali sono in grado di modificare la permeabilità e la fluidità della membrana batterica, fino a determinare la lisi cellulare

Precauzioni

Al fine di incrementare l'efficacia del trattamento senza modificazioni sensoriali indesiderate, è possibile progettare disegni sperimentali con piani fattoriali. In particolare, si preparano miscele bioconservanti nelle quali l'azione del principio attivo è potenziata da altre sostanze, quali acidi organici o soluti.

Diverse miscele, con contenuto predefinito dei principi attivi, sono utilizzate su campioni inoculati e su campioni di controllo, al fine di identificare la miscela e le condizioni che consentano il migliore risultato al minore costo e con il minimo impatto sensoriale. La comparabilità dei risultati dipende dalle tecniche utilizzate e richiede una rigorosa standardizzazione delle procedure e dei metodi analitici (Ncube et al., 2008).

Anche per questo motivo, è difficile confronta-

Tabella 1
Cinetica di inattivazione di *Staphylococcus aureus* ST12 in trattamenti con oli essenziali di salvia e rosmarino in BHI (media + deviazione standard, in Log cfu mL⁻¹)

Tempo (min)	S. aureus	
	Salvia	Rosmarino
0	7.32±0.60	7.32±0.60
1	5.01±0.36	4.04±0.12
30	2.51±0.06	n.r.
60	n.r.*	n.r.
90	n.r.	n.r.
120	n.r.	n.r.

*n.r. = non rilevabile con il metodo utilizzato (limite di rilevabilità: 10 cfu mL⁻¹).

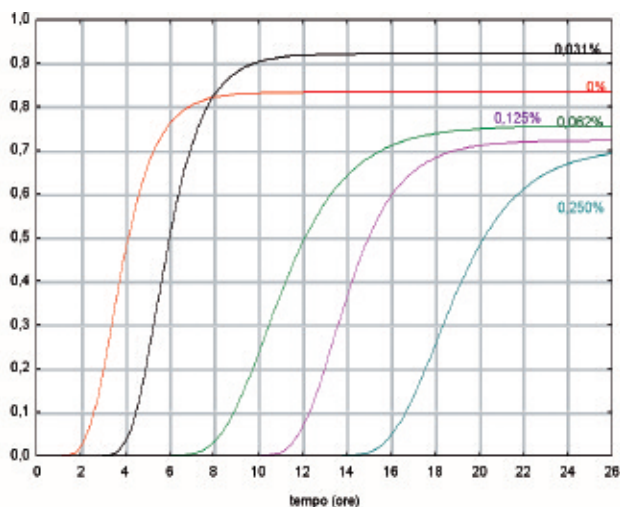


Figura 1 – Sviluppo di *Listeria monocytogenes* 648/4II a 37 °C in BHI, dopo trattamento con olio essenziale di origano (%) per 1 ora a 37 °C in BHI

Aziende leader e visitatori motivati e influenti:
Eurocarne è il luogo di incontro tra i soggetti più importanti della filiera delle carni, con tante occasioni di business e la possibilità di analizzare le nuove tendenze del settore.
Partecipa a **Eurocarne 2012**, meet your market.

Milano and

Eurocarne

25° Salone Internazionale delle Tecnologie per Lavorazione, Conservazione, Refrigerazione e Distribuzione delle Carni

www.eurocarne.it

Verona | 24-27 maggio 2012

Organizzata da: **ipack-ima**
Connecting businesses

VERONAFIERE

ufi
Approved Event

25°
SILVER EDITION

Promossa da: **ASSO FOOD TEC**

Segreteria Organizzativa: Ipack-Ima spa - Corso Sempione, 4 - 20154 Milano - Italy - tel +39 023191091
fax +39 0233619826 - e-mail: ipackima@ipackima.it - www.ipackima.it

re i risultati delle ricerche di bioconservazione con i dati della letteratura scientifica.

Indubbiamente, la bioconservazione con oli essenziali e con estratti può migliorare la sicurezza e la stabilità dei prodotti alimentari. Tuttavia, è importante sottolineare che queste tecnologie non possono essere utilizzate con leggerezza, senza accurate valutazioni di efficacia.

In anni di esperienza, abbiamo osservato più volte che trattamenti a dosaggio minimale di principio attivo possono avere un effetto controproducente, stimolando la crescita dell'inoculo.

La *Figura 1* illustra le curve di crescita da noi ottenute su inoculi di *L. monocytogenes* 648/4II a 37 °C in BHI, dopo trattamento con dosaggi crescenti di olio essenziale di origano per 1 ora a 37 °C in BHI, valutati attraverso turbidimetria automatica (Bioscreen); è evidente come il dosaggio più basso (0,031%) abbia determinato un aumento della fase lag e del massimo livello di crescita, che potrebbe essere dovuto a fe-

La bioconservazione con oli essenziali e con estratti può migliorare la sicurezza e la stabilità dei prodotti alimentari

nomeni di risposta a stress subletali.

In conclusione, gli oli essenziali e gli estratti idrosolubili rappresentano un'importante risorsa per la bioconservazione alimentare, che consente di promuovere stabilità e sicurezza del prodotto senza ostacoli né di tipo normativo né di carattere commerciale.

La messa a punto dei trattamenti richiede azioni di ricerca mirate ad accertare dosaggi, sinergie e condizioni d'uso. Il grande potenziale di questi trattamenti trova conferma nella tendenza del mercato verso le direttrici della sostenibilità e della valorizzazione delle risorse naturali.

Bibliografia

- Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P., Nychas G.J.E., A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol, *J. Appl. Microbiol*, 2001, 91, pp. 453-462.
- Ncube N.S., Afolayan A.J., Okoh A.I., Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends, *Afric. J. Biotech*, 2008, 7 (12), pp. 1797-1806.
- Paparella A., Taccogna L., Chaves López C., Serio A., Di Berardo L., Suzzi G., Food biopreservation in clean rooms. *Italian Journal of Food Science*, special issue "Convegno Nazionale: Aspetti microbiologici degli alimenti confezionati", 2006, pp. 43-52.
- Paparella A., Taccogna L., Aguzzi I., Chaves López C., Serio A., Marsilio F., Suzzi G., Flow cytometric assessment of the antimicrobial activity of essential oils against *Listeria monocytogenes*, *Food Control*, 2008, 19, pp. 1174-1182.
- Paparella A., Serio A., Di Pasquale F., De Nicola L., Chaves López C., Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan in pork loins. Book of abstracts "SLIM 2010 Shelf-Life International Meeting", Zaragoza, Spain, 23-25 June 2010, ref. PN28, p. 106.
- Serio A., Chiarini M., Tettamanti E., Paparella A., Electronic Paramagnetic Resonance investigation of the activity of *Origanum vulgare* L. essential oil on *Listeria monocytogenes* membrane. *Letters in Applied Microbiology*, 2010, 51, pp. 149-157.
- Serio A., Chaves López C., Paparella A., *Listeria monocytogenes* isolated from the smoked salmon industry: growth potential under different environmental conditions, *Food Control*, 2011, 22, pp. 2071-2075.