

Nuove metodologie per la sanitizzazione degli alimenti

Negli ultimi anni nuove metodologie e tecniche per la salvaguardia degli alimenti sono state oggetto di studio come alternativa ai trattamenti termici: è questo il caso del progetto NanoBioSafe. L'utilizzo di tecnologie emergenti e l'incorporazione negli alimenti di composti bioattivi di origine naturale dotati di un'elevata azione antimicrobica si sono mostrati potenzialmente capaci di ridurre la carica batterica in un alimento al di sotto dei requisiti di legge e di prolungarne la shelf-life, mantenendo al tempo stesso un profilo qualitativo e organolettico simile a quello delle materie prime.

Le tecnologie emergenti:

- Alte pressioni idrostatiche (HHP)
- Campi elettrici pulsati (PEF)
- Radiazioni UV (UV-C)
- Luce UV pulsata (LP)
- Ozonizzazione
- Irradiazione con raggi γ .

Composti bioattivi ad elevata attività antimicrobica:

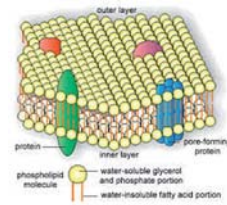
- Batteriocine
- Enzimi
- Principi attivi da oli essenziali (carvacolo, timolo, eugenolo, citrale).

OLI ESSENZIALI (OE)

Composti naturali ad elevata attività antimicrobica



Nanoincapsulamento di composti bioattivi

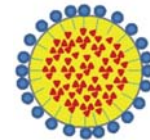


Il meccanismo di azione antibatterica degli OE si basa principalmente sulla idrofobicità delle molecole costituenti che ne promuove l'interazione con la membrana citoplasmatica dei microorganismi.

L'uso diretto di OE negli alimenti è limitato dalla scarsa solubilità in fase acquosa, dove i microorganismi crescono e proliferano.



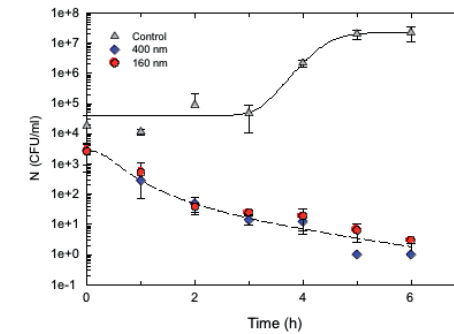
Necessità di un sistema di veicolazione



Le **nanoemulsioni alimentari** sono i sistemi di veicolazione più adatti per gli oli essenziali grazie alla loro formulazione con ingredienti alimentari ed al nucleo lipofilo.

Il ruolo dei sistemi di incapsulamento sull'attività antimicrobica

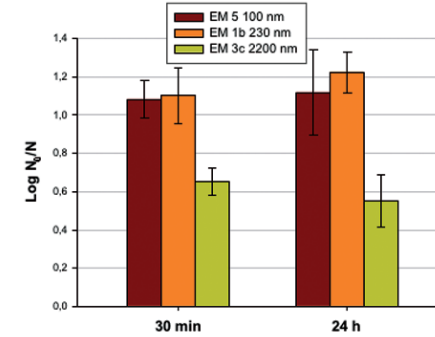
Nessuna differenza significativa è stata osservata nelle cinetiche di inattivazione al variare della dimensione media dell'emulsione di carvacolo tra 400 e 160 nm. **Le emulsioni principalmente veicolano gli OE all'interno delle matrici alimentari, ma non contribuiscono significativamente all'assorbimento in cellule microbiche.**



Trattamento di una sospensione di *E. coli* con emulsioni di OE con differente dimensione media. Concentrazione finale di carvacolo: 0.03%.

L'attività antimicrobica raddoppia quando le dimensioni medie si riducono a valori subcellulari.

Le **nanoemulsioni veicolano in modo estremamente efficiente gli OE negli alimenti, promuovendo la loro diffusione nei tessuti alimentari.**

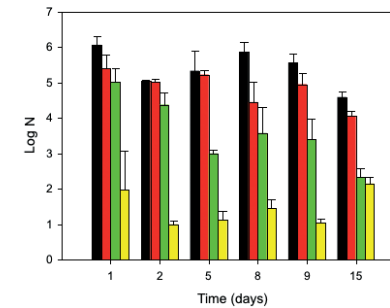


Trattamento di campioni di zucchine inoculate con *E. coli* con emulsioni di OE di differente dimensione media.

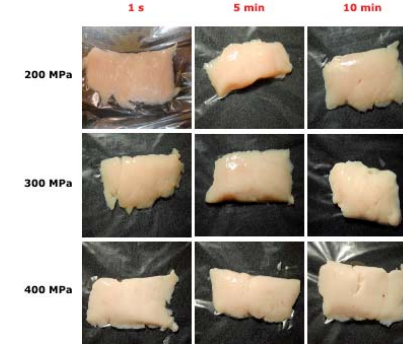


Trattamenti HHP combinati con emulsioni di OE

Le **alte pressioni idrostatiche (HHP)**, oltre a contribuire direttamente all'inattivazione microbica, promuovono la permeabilizzazione dei tessuti vegetali ed animali, favorendo la diffusione delle emulsioni di composti bioattivi attraverso i tessuti: da ciò deriva un potenziamento dell'attività antibatterica. Nell'ottimizzazione del ciclo combinato è necessario tener conto dell'alterazione delle proprietà sensoriali dei prodotti, favorita dalla presenza delle emulsioni, che può ridurre il livello di accettabilità da parte dei consumatori.



Effetto del trattamento HHP combinato con emulsioni di OE su fagiolini processati a 300 MPa per 5 min al variare del tempo di conservazione in condizioni refrigerate.



Effetto sul trattamento HHP combinato con emulsioni di OE sul pollo a diversi livelli di pressione e tempi di processo.

Trattamenti LP combinati con emulsioni di OE

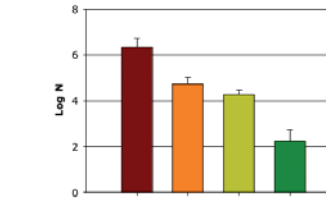
La **Luce Pulsata (LP)** è un metodo non-termico rapido ed efficace di decontaminazione microbica superficiale di alimenti solidi. Il meccanismo di inattivazione microbica è principalmente ascrivibile a danni al DNA microbico oltre che a danni alla membrana cellulare. Ciò rende possibile l'applicazione di processi combinati con un effetto letale di tipo sinergico.



Decontaminazione microbica di alimenti mediante LP.

TRATTAMENTO COMBINATO LP - OE

- + *Listeria innocua*
- + *Listeria innocua* + MC
- + *Listeria innocua* + LP (3 J/cm²)
- + *Listeria innocua* + MC + LP (3 J/cm²)



Trattamento LP di fagiolini inoculati con *L. innocua* e rivestiti di N-palmitoil chitosano al 3% (MC).

Il progetto NanoBioSafe

Il progetto NanoBioSafe, selezionato fra i Progetti di Grande Rilevanza dal MAE, rientra tra le iniziative volte a favorire la cooperazione scientifica e tecnologica a livello internazionale. Obiettivo generale del progetto è sviluppare tecnologie innovative per garantire la sicurezza alimentare, attraverso lo sfruttamento della sinergia tra l'utilizzo di molecole bioattive dotate di proprietà antimicrobiche e tecnologie emergenti. Il progetto è stato realizzato da ProdAl Scarl (partner italiano) in collaborazione con l'INRS (partner canadese).

La cooperazione scientifica tra i partner di progetto

Fase 1. Estrazione delle molecole bioattive
Estrazione e caratterizzazione di molecole bioattive derivate da batteri.

Fase 3. Stabilità chimico-fisica dei composti bioattivi puri ed incapsulati
Stabilità fisico-chimica dei composti puri.

Fase 4. Attività antimicrobica dei composti bioattivi puri ed incapsulati
Attività antimicrobica dei composti puri contro i microrganismi alterativi.

Fase 5. Trattamenti combinati per l'inattivazione microbica
Utilizzo di tecnologie non termiche (UV-C, Ozonizzazione) combinate con antimicrobici naturali.

Fase 6. Trattamento combinato di matrici alimentari mediante tecnologie innovative e antimicrobici naturali
Utilizzo di tecnologie non termiche (UV-C, Ozonizzazione) combinate con antimicrobici naturali su matrici alimentari target.

Fase 1. Estrazione delle molecole bioattive
Estrazione e caratterizzazione di molecole bioattive da piante e frutti.

Fase 2. Nano-incapsulamento dei composti bioattivi
Sviluppo di sistemi di incapsulamento in grado di proteggere la bioattività delle molecole antimicrobiche.

Fase 3. Stabilità chimico-fisica dei composti bioattivi puri ed incapsulati
Stabilità fisico-chimica dei composti incapsulati.

Fase 4. Attività antimicrobica dei composti bioattivi puri ed incapsulati
Attività antimicrobica dei composti incapsulati contro i microrganismi alterativi.

Fase 5. Trattamenti combinati per l'inattivazione microbica
Utilizzo di tecnologie non termiche (HHP, LP) combinate con antimicrobici naturali.

Fase 6. Trattamento combinato di matrici alimentari mediante tecnologie innovative e antimicrobici naturali
Utilizzo di tecnologie non termiche (HHP, LP) combinate con antimicrobici naturali su matrici alimentari target.



ProdAl Scarl

c/o Università di Salerno
Via Ponte don Melillo - 84084 Fisciano (SA)
info@prodalricerche.it
www.prodalricerche.it
Tel. +39.089.964028 Fax +39.089.964168



Ministero degli Affari Esteri

Con il contributo del Ministero degli Affari Esteri,
Direzione Generale per la Promozione del Sistema Paese

COMBINED TREATMENTS FOR FOOD SANITIZATION:
the NanoBioSafe project



THE PROJECTS



New methodologies for food sanitization

In recent years new methods and techniques for food preservation have been studied as an alternative to thermal treatments: this is the case of the project NanoBioSafe. Both the use of emerging technologies and the incorporation of natural bioactive compounds in foods with a high antimicrobial activity, have been shown to be potentially able to reduce the bacterial load in a food below the legal requirements and to prolong the shelf-life, maintaining at the same time a qualitative and organoleptic profile similar to the raw materials.

Novel technologies:

- High Hydrostatic Pressure (HHP)
- Pulsed Electric Fields (PEF)
- UV irradiation (UV-C)
- Pulsed UV Light (PL)
- Ozonation
- γ irradiation.

ESSENTIAL OILS (EOs)

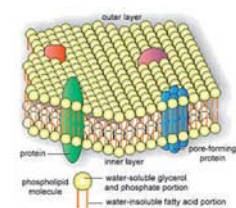
Natural compounds with high antimicrobial activity

Bioactive compounds with high antimicrobial activity:

- Bacteriocins
- Enzymes
- Bioactive compounds from essential oils (carvacrol, thymol, eugenol, citral).

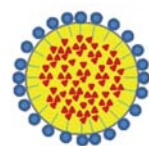


Nanoencapsulation of bioactive compounds



The mechanism of antibacterial action of EOs is mainly based on the hydrophobicity of their constituent molecules, which promotes the interaction with the cytoplasmic membrane of microorganisms.

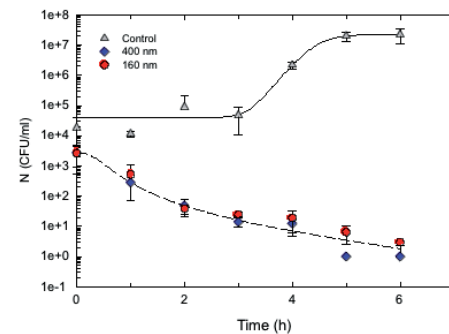
The direct use of EOs in foods is limited by the scarce solubility in aqueous phase, where microorganisms grow and proliferate.



Food nanoemulsions are the most suitable carriers for essential oils because of their lipophilic core and food grade ingredients.

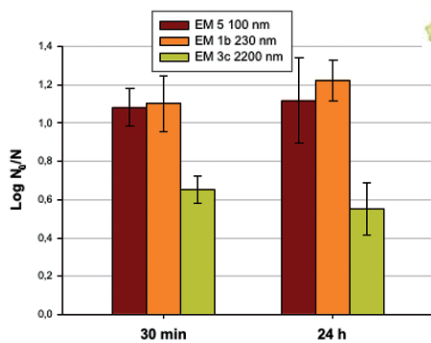
The role of the delivery system on antimicrobial activity

No significant difference was observed in the inactivation kinetics when changing the mean carvacrol emulsion droplet size from 400 to 160 nm. Emulsions mainly serve to deliver the essential oils within the food matrices, but do not significantly contribute to uptake in microbial cells.



Treatment of a suspension of *E. coli* with EOs emulsions of different mean droplet size. Final concentration of carvacrol: 0.03%.

The antimicrobial activity doubles when the mean droplet size is reduced to subcellular values. Nanoemulsions are effective carriers of EOs in solid foods, significantly enhancing their diffusion in food tissue.

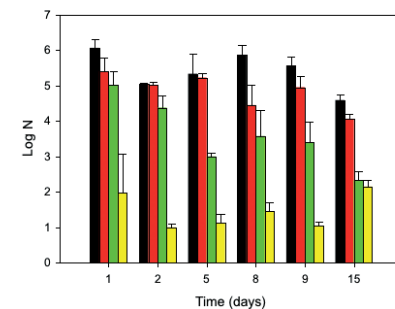


Treatment of zucchini samples inoculated with *E. coli* with EOs emulsions of different mean droplet size.

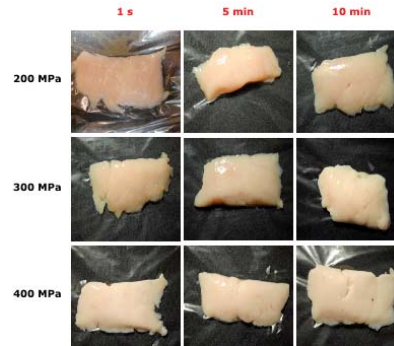


HHP treatments combined with EOs emulsions

High Hydrostatic Pressure (HHP), while directly contributing to microbial inactivation, promotes the permeabilization of vegetable and animal tissues, allowing the diffusion of the bioactive compounds emulsions through the tissues: this results in a significant synergistic effect with EOs nanoemulsions on antimicrobial activity. In the optimization of the combined treatment, the alteration of the sensory properties of the products, which is favored by the emulsion and can reduce the level of consumer acceptability, has to be taken into account.



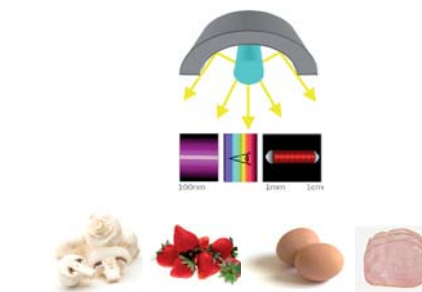
Effect of HHP treatment combined with emulsions of EOs on green beans processed at 300 MPa for 5 min at varying storage time in refrigerated conditions.



Effect of HHP treatment combined with emulsions of EOs on chicken at different levels of pressure and processing times.

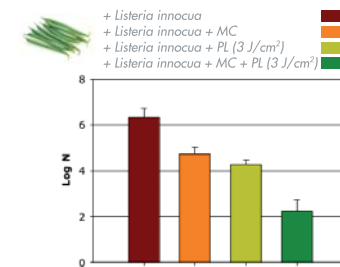
PL treatment combined with EOs emulsions

Pulsed Light (PL) is a non-thermal method for rapid and effective inactivation of microorganisms on food and food surfaces. Microbial inactivation is mainly attributed to microbial DNA damages even though cell membrane damage have also been detected. This would allow the design of combined processes with a synergistic lethal effect.



Food surface decontamination by PL.

PL IN A HURDLE APPROACH



PL treatment of green beans inoculated with *L. innocua* and coated with 3% N-palmitoyl chitosan (MC).

NanoBioSafe project

The project, selected as a Projects of Great Relevance by the MAE, is one of the initiatives aimed to promote the scientific and technological cooperation at the international level. Overall objective of the project is to develop innovative technologies for ensuring food security, through the exploitation of the synergy between the use of bioactive molecules with antimicrobial properties and the emerging technologies. The project has been realized by ProdAl Scarl (Italian partner) in collaboration with the INRS (Canadian partner).

The scientific cooperation between the project partners

Step 1. Extraction of the bioactive compounds
Extraction and characterization of bioactive compounds from bacteria.

Step 3. Physicochemical stability of pure and encapsulated bioactive compounds
Physicochemical stability of the pure bioactive compounds.

Step 4. Antimicrobial activity of pure and encapsulated bioactive compounds
Antimicrobial activity of pure bioactive compounds against spoiling microorganisms.

Step 5. Combined treatments for microbial inactivation
Utilization of non-thermal technologies (UV-C, Ozonation) combined with antimicrobial compounds.

Step 6. Combined food treatment by innovative technologies and natural antimicrobial compounds
Utilization of non-thermal technologies (UV-C, Ozonation) combined with antimicrobial compounds on target foods.

Step 1. Extraction of the bioactive compounds
Extraction and characterization of bioactive compounds from plants and fruits.

Step 2. Nano-encapsulation of the bioactive compounds
Development of nano-encapsulation system to preserve the bioactivity of the antimicrobial compounds.

Step 3. Physicochemical stability of pure and encapsulated bioactive compounds
Physicochemical stability of the encapsulated bioactive compounds.

Step 4. Antimicrobial activity of pure and encapsulated bioactive compounds
Antimicrobial activity of encapsulated bioactive compounds against spoiling microorganisms.

Step 5. Combined treatments for microbial inactivation
Utilization of non-thermal technologies (HHP, PL) combined with antimicrobial compounds.

Step 6. Combined food treatment by innovative technologies and natural antimicrobial compounds
Utilization of non-thermal technologies (HHP, PL) combined with antimicrobial compounds on target foods.



ProdAl Scarl

c/o University of Salerno
Via Ponte don Melillo - 84084 Fisciano (SA) - Italy
info@prodalricerche.it
www.prodalricerche.it
Ph. +39.089.964028 Fax +39.089.964168



Ministero degli Affari Esteri

Con il contributo del Ministero degli Affari Esteri,
Direzione Generale per la Promozione del Sistema Paese

I PROGETTI



TRATTAMENTI COMBINATI
PER LA SANITIZZAZIONE
DEGLI ALIMENTI:
il progetto NanoBioSafe

