



Uso delle Alte Pressioni Idrostatiche per la Conservazione degli Alimenti



Mariagrazia Girasole
Rossella Festa
Roberto de Liso
Marta Russo

Alte Pressioni Idrostatiche: Introduzione

- ✓ Alte Pressioni Idrostatiche (nel range di valori 50-1000 MPa) possono essere applicate ai cibi freschi a scopo conservativo.
- ✓ L'uso delle Alte Pressioni consente di ottenerne la *sterilizzazione ed il prolungamento della shelf-life dei prodotti, mantenendone inalterati le caratteristiche sensoriali e nutritive.*
- ✓ Le Alte Pressioni rientrano nei *processi atermici* ("mild technologies" o "tecnologie morbide"), cioè quelli per cui non è necessario elevare la temperatura del prodotto al fine di ottenere la distruzione delle forme microbiche presenti nel substrato alimentare.

Alte Pressioni Idrostatiche: Un po' di Storia

- ✓ L'efficacia delle Alte Pressioni Idrostatiche, applicate agli alimenti a scopo conservativo, è noto da tempo.
- ✓ I primi esperimenti risalgono al 1899 (Bert Hite): alte pressioni per garantire una migliore conservabilità del latte.
- ✓ Progressi nell'ingegneria hanno consentito di aumentare le massime pressioni di trattamento degli alimenti.
- ✓ Nel corso degli anni le applicazioni delle Alte Pressioni si sono estese ad un numero sempre crescente di alimenti.

Alte Pressioni Idrostatiche: Principi Generali

La tecnica delle Alte Pressioni Idrostatiche sfrutta:

- ✓ **Il principio di Pascal:** per il quale se si esercita una determinata pressione in un punto su un fluido incompressibile la pressione si trasmette uniformemente e con la stessa forza in tutte le direzioni.
- ✓ **Il principio di Le Chatelier:** per il quale, applicando una pressione ad un sistema in equilibrio, saranno favorite quelle reazioni che portano ad una riduzione di volume (per limitare al minimo indispensabile gli effetti della pressione).

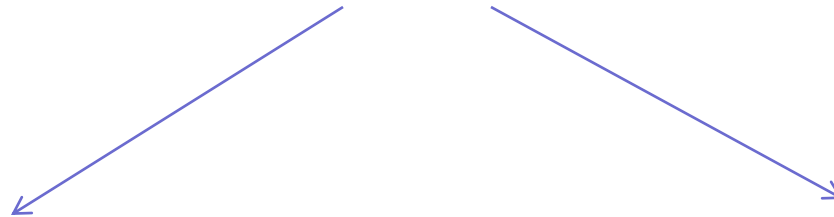


Le alte pressioni favoriscono dunque le reazioni che portano alla *scissione di molecole complesse e di grosse dimensioni* presenti negli alimenti *in molecole più semplici*.

Azione della pressione sulle molecole organiche

La rottura delle molecole complesse è indotta dalla scissione dei legami chimici che le tengono unite.

Non tutti i legami chimici sono colpiti allo stesso modo:



I legami covalenti sono resistenti all'azione della pressione.

I legami a ponte idrogeno, quelli a ponte disolfuro o ionici sono particolarmente sensibili all'azione della pressione

Azione della pressione sulle molecole organiche

Ne consegue che:

- Le *vitamine* (molecole di piccole dimensioni) non subiscono modificazioni strutturali;
- Le *proteine* vengono denaturate perdendo la loro struttura secondaria e terziaria
- I *carboidrati* vengono scissi in zuccheri semplici o composti gelatinosi.

Si ha quindi denaturazione di grosse molecole proteiche, mentre restano intatte le componenti responsabili della qualità sensoriale e nutrizionale (come i composti del colore, del sapore e le vitamine).

Azione della Pressione sul Substrato Alimentare

La scissione di proteine e carboidrati porta alla diminuzione di consistenza del prodotto (**effetto di "intenerimento"**) con aumento della digeribilità dell'alimento.



Svariate applicazioni nell'industria alimentare

Esempi di Applicazioni

Gli effetti di "intenerimento" e di "gelatinizzazione" vengono utilizzati per:

- *intenerire la carne* (100-150 MPa a 20-60°C per 2-30 minuti), migliorandone la tessitura.
- trattare alimenti quali *succhi di frutta e marmellate, patés, sughi, piatti precucinati a base di carne, pesci, ecc.*

In Giappone, inoltre, le Alte Pressioni sono usate per scongelare pesce congelato e ottenere prodotti ittici di nuova tessitura

Azione della Pressione sulla Componente Acquosa degli Alimenti

- ✓ La compressione adiabatica dell'acqua comporta abbassamento della T di cristallizzazione dell'acqua (-22°C per pressioni di $207,5\text{ MPa}$)

In base a ciò si ha che:

- E' possibile stoccare campioni biologici a temperatura tra 0°C e -20°C *senza formazione di cristalli di ghiaccio*, purchè essi vengano mantenuti sotto pressione.
- Si può avere congelamento ultrarapido ed uniforme. Rilasciando poi istantaneamente la pressione, si ottiene una *microcristallizzazione meno dannosa per l'alimento e la sua tessitura rispetto al congelamento tradizionale.*

Azione della Pressione sui Microrganismi

- ✓ L'effetto delle Alte Pressioni sui microrganismi si manifesta con uno *scompaginamento della struttura cellulare e delle funzioni cellulari*, fino alla morte degli stessi.
- ✓ Non tutti i microrganismi presentano la stessa sensibilità alle Alte Pressioni.

Muffe e lieviti sono i più sensibili; bastano pressioni non molto alte per causarne la distruzione.

Pressioni di Esercizio

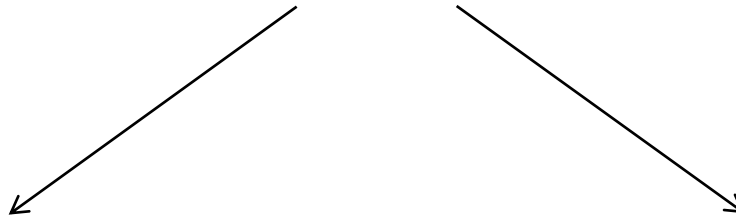
Nel settore industriale le pressioni idrostatiche impiegate possono variare, a seconda della composizione degli alimenti, dai 200-300 MPa fino ai 700-800 MPa.

L'impiego delle alte pressioni non determina alcun importante riscaldamento del prodotto alimentare (max 40-45°C).

In quanto processo atermico, assicura un ottimo mantenimento delle qualità nutritive del cibo.

Modalità di applicazione delle Alte Pressioni

Le alte pressioni possono essere applicate ad



Alimenti solidi

Le derrate vanno confezionate sotto vuoto in pellicola plastica e poi immerse in acqua.

Alimenti liquidi

Il trattamento viene effettuato esercitando direttamente la pressione sull'alimento.

Apparecchiatura per l'Alta Pressione

Uno dei problemi principali è quello di avere un apparecchio sufficientemente robusto da resistere a pressioni elevate

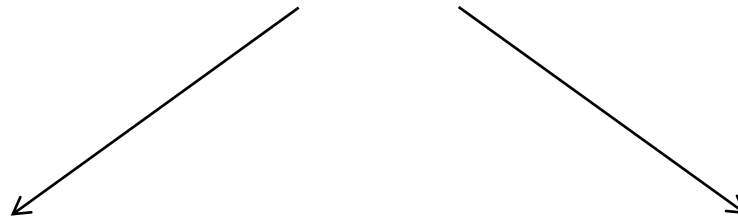
La macchina ad Alte Pressioni è caratterizzata da:

- ✓ un *contenitore in metallo* a pareti particolarmente spesse sufficienti a reggere la forza impressa sul liquido ;
- ✓ un *generatore di pressione*, rappresentato da un sistema di pompe a stantuffo. Queste imprimono la compressione sull'acqua, il più comune liquido di trasmissione della pressione.



Meccanismi d'azione delle Alte Pressioni sulle cellule microbiche

I danni determinati dalle alte pressioni sulle cellule microbiche sono conseguenti principalmente a due meccanismi d'azione



Scompaginamento della membrana cellulare e distacco della parete esterna.

Distruzione di enzimi vitali

Effetti sulla Membrana Cellulare

- ✓ Gli effetti lesivi sulla membrana cellulare dei microrganismi riguardano essenzialmente la sua complessa e delicata struttura.
- ✓ Risultano denaturate le proteine che insieme ai lipidi compongono la struttura della membrana, con conseguente alterazione della sua permeabilità. Gli scambi della cellula con l'ambiente esterno sono in tal modo ostacolati.

Effetti sugli Enzimi

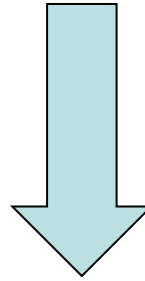
- ✓ La pressione danneggia alcuni enzimi-chiave del metabolismo microbico, bloccando in tal modo importanti e vitali funzioni della cellula: ne viene così dapprima impedita la replicazione (*azione batteriostatica*) e successivamente causata la distruzione (*azione battericida*).
- ✓ Gli enzimi di membrana, associati all' efflusso dei protoni, sono il principale target dell'azione pressoria.

Azione delle Alte Pressioni sul DNA

- ✓ Le Alte Pressioni non modificano il patrimonio genetico delle cellule microbiche.
- ✓ Essendo il DNA una molecola molto più resistente alle Alte Pressioni rispetto alle proteine ed ai carboidrati, i trattamenti che di regola vengono applicati agli alimenti (200-900 MPa) non sono in grado di denaturarlo (occorrerebbero pressioni superiori a 1 GPa).
- ✓ Questo aspetto differenzia le Alte Pressioni Idrostatiche dalle radiazioni ionizzanti, che intaccano sì la struttura del DNA, ma con il rischio di creare ceppi resistenti ai comuni trattamenti di conservazione.

Azione delle Alte Pressioni sui Protozoi

- ✓ Le Alte Pressioni possono agire anche sulla morfologia cellulare e sulla motilità di organismi mobili come i Protozoi.
- ✓ La cessazione del movimento è direttamente correlata ai cambiamenti strutturali causati dalle Alte Pressioni



Tale effetto, dipendente dalla specie, è spesso reversibile: molti organismi ritornano alla loro normale forma e riprendono la motilità dopo depressurizzazione.

Fattori che influenzano l'inattivazione microbica da Alte Pressioni

✓ *PH del substrato*

- L'abbassamento del PH comporta un incremento dell'efficacia della pressurizzazione, con riduzione dei tempi di applicazione del trattamento.
- La variazione del pH probabilmente va a colpire l'ATPasi di membrana e le funzioni intracellulari al punto da destabilizzare i microrganismi.
- L'effetto del PH è accentuato da altri fattori come l'addizione di sali e le condizioni di temperatura.

Fattori che influenzano l'inattivazione microbica da Alte Pressioni

✓ *AW (Activity Water)*

- L'abbassamento dell'AW comporta un aumento della resistenza dei microrganismi alla pressurizzazione
- Si è visto, ad esempio, che l'addizione di saccarosio (allo scopo di abbassare l'AW) agisce come elemento baro-protettivo, prevenendo l'inibizione dei microrganismi alle Alte Pressioni.
- Tale meccanismo può essere utilizzato per impedire l'inibizione di microrganismi favorevoli (ad es. i fermenti) durante il trattamento mediante le Alte Pressioni.

Fattori che influenzano l'inattivazione microbica da Alte Pressioni

✓ Temperatura

- Temperature molto diverse dalla temperatura ambiente aumentano la sensibilità dei microrganismi alle Alte Pressioni Idrostatiche, con conseguente incremento del loro grado di inattivazione.
- La refrigerazione comporta un aumento dell'efficacia antimicrobica delle Alte Pressioni.
- Anche un blando riscaldamento dell'alimento può avere effetti positivi sulla riduzione della carica microbica dato dalle Alte Pressioni, specialmente nel caso dei batteri più resistenti come *Staphylococcus aureus* ed *E. coli*.

Differenze nella resistenza microbica alle Alte Pressioni

I microrganismi non si dimostrano tutti ugualmente sensibili alle Alte Pressioni.

Lieviti e muffe

- ✓ I lieviti sono i microrganismi **più sensibili**. Le forme vegetative delle muffe risultano sensibili a bassi valori pressori, le loro spore invece sono più resistenti.
- ✓ Le forme vegetative di lieviti e muffe sono generalmente inattivate da pressioni comprese tra 200 e 300 MPa, mentre le loro spore sono generalmente inattivate da pressioni di circa 400 MPa.

Differenze nella resistenza microbica alle Alte Pressioni

Batteri e Virus

- ✓ Nonostante la maggiore complessità della membrana cellulare dei Gram negativi li renda più suscettibili alle Alte Pressioni, ve ne possono essere alcuni tipi più resistenti dei Gram positivi.
- ✓ Come quelle delle muffe, le spore batteriche sono tutte molto resistenti alle Alte Pressioni Idrostatiche: pressioni fino a 400 MPa non sono in grado di inattivarle, ma semplicemente ne inducono la germinazione.
- ✓ Pressioni idrostatiche pari o superiori ai 400 MPa sono in grado di inattivare direttamente alcuni virus, quali HIV, virus dell'influenza e gli Herpes virus

Differenze nella resistenza microbica alle Alte Pressioni

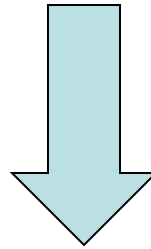
Tossine batteriche

- ✓ la tossina botulinica può essere inattivata con pressioni superiori a 600 MPa
- ✓ la patulina (una delle micotossine più pericolose) viene inattivata solo in parte con un analogo trattamento.

Differenze nella resistenza microbica alle Alte Pressioni

Parassiti metazoi

L' *Anisakis Simplex* è un nematode presente in molti pesci, responsabile di episodi di intossicazione alimentare dovuti ad ingestione di pesce crudo o trattato e conservato in maniera non corretta.



Il trattamento mediante pressioni di *200 MPa* per *10 minuti*, a temperature comprese tra *0* e *15°C*, uccide tutte le larve di *Anisakis* presenti nell'alimento. Con più basse pressioni (<140MPa) il tempo di trattamento deve essere incrementato fino a superare un'ora per ottenere lo stesso risultato.

Resistenza Microbica e Composizione Chimica dell'Alimento

La composizione chimica dell' alimento incide fortemente sulla resistenza dei microrganismi alle Alte Pressioni.

- ✓ La presenza nell'alimento di nutrienti come zuccheri, lipidi o sostanze azotate contribuisce ad aumentare la loro resistenza.

I batteri che sopravvivono ad un trattamento pressorio, anche se danneggiati dalla pressione, hanno la possibilità di rivitalizzarsi grazie al substrato ricco di fonti energetiche.

Resistenza Microbica e Composizione Chimica dell'Alimento

Una coltura di E.Coli in semplice soluzione nutritiva, dopo trattamento a 375 MPa per 30 minuti a 20°C, presenta una riduzione della carica iniziale di oltre 6 gradi logaritmici, mentre in campioni di carne di pollo la riduzione di carica è di soli 2,5 gradi logaritmici ed una riduzione di appena 1,75 gradi logaritmici si registra in campioni di latte.

Resistenza Microbica e Composizione Chimica dell'Alimento

Se si tratta un alimento con Alte Pressioni Idrostatiche il suo valore di pH tende ad abbassarsi durante il trattamento in virtù della maggiore dissociazione delle molecole di acqua in esso contenute.

In teoria, trattando un succo di frutta a 500 MPa il suo pH dovrebbe scendere sotto 1, ma quando la pressione viene rilasciata, il pH ritorna subito ai suoi valori normali.

Ad una così forte acidificazione si attribuisce in parte l'effetto battericida delle Alte Pressioni.

Resistenza Microbica e Composizione Chimica dell'Alimento

Gli additivi alimentari possono influire in vario modo sulla sensibilità dei microrganismi alle Alte Pressioni Idrostatiche.

- ✓ **L'acido sorbico** agisce come un acido organico interferendo con la membrana batterica alterandone la permeabilità. La sua azione antimicrobica è più attiva ed efficace in combinazione con la pressione.
- ✓ L'uso di antimicrobici, come le **batteriocine**, combinato con il trattamento pressorio, fa registrare un incremento del livello di distruzione/inattivazione microbica.

Azione della pressione sui microrganismi sporigeni

Le spore batteriche sono note per la loro resistenza alla pressione.

Esse possono sopravvivere a pressioni sopra i 1000 MPa.

È stato però osservato che, per le spore di vari *Bacillus spp*, l'inattivazione risulta essere più efficace a pressioni moderate (200-500 MPa) rispetto alle Alte Pressioni (>500 MPa).

La pressione può indurre le spore a germinare e a perdere, così, la resistenza a pressioni elevate e al calore.

Questa germinazione pressione-indotta è dipendente soprattutto dalla Temperatura, essendo assente a $T^{\circ} < 10^{\circ}\text{C}$ e più pronunciata a T° di 40-50°C.

Azione della pressione sui microrganismi sporigeni

La pressione sembra indurre le spore a germinare e a perdere la loro resistenza alla pressione, cosicchè le spore germinate sarebbero inattivate successivamente dalla pressione.

Le spore germinate a basse pressioni ($P = 100 \text{ MPa}$) sono molto più sensibili all'inattivazione da pressioni del valore di 600 MPa rispetto alle spore germinate ad alte pressioni (500 MPa).

A 100 MPa si ha una rapida formazione di ATP e si ha l'attivazione di reazioni enzimatiche nelle spore germinate; mentre alle Alte Pressioni alcuni enzimi-chiave sono inattivati.

GRAZIE PER L'ATTENZIONE