



**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO**



**SCUOLA DI DOTTORATO IN SCIENZE  
DELLA NATURA E TECNOLOGIE INNOVATIVE**

**DOTTORATO IN  
SCIENZE AGRARIE, FORESTALI ED AGROALIMENTARI**

**CICLO: XXX**

**TECNOLOGIE DI CONSERVAZIONE  
POST RACCOLTA  
METODI INNOVATIVI**

**Marco Maghenzani**

**Docente guida:  
Prof. Giovanna Giacalone**

**Coordinatore del Ciclo:  
Prof. Aldo Ferrero**

**ANNI  
2015; 2016; 2017**



# Indice

|   |    |
|---|----|
| Indice.....   | 1  |
| Introduzione .....  | 3  |
| Scopo del lavoro.....   | 8  |
| Bibliografia.....   | 10 |
| 1.Utilizzo di atmosfere modificate associate a film plastici compostabili .....   | 14 |
| Bibliografia.....   | 22 |
| Effetti di differenti confezionamenti in atmosfera protettiva sulla persistenza della qualità di nettarine <i>fresh cut</i> . ..... | 25 |
| Sommario .....  | 25 |
| Introduzione .....  | 25 |
| Materiali e metodi .....  | 27 |
| Risultati e discussione .....   | 30 |
| Conclusioni.....  | 35 |
| Bibliografia.....   | 36 |
| Tabelle e figure.....   | 39 |
| 2.Utilizzo di sistemi di diffusione di gas ( <i>padpad</i> ) con ClO <sub>2</sub> .....   | 44 |
| Bibliografia.....   | 46 |
| Trattamento con Diossido di cloro sulla qualità post raccolta di lamponi .....  | 49 |
| Sommario .....  | 49 |
| Introduzione .....  | 50 |
| Materiali e metodi .....  | 51 |
| Risultati e discussione .....   | 56 |
| Conclusioni.....  | 61 |
| Ringraziamenti .....  | 61 |
| Bibliografia.....   | 61 |
| Tabelle.....  | 67 |
| Aumento della conservazione di fragole con diossido di cloro gassoso in imballaggi <i>clamshell</i> .....                           | 71 |
| Sommario .....  | 71 |
| Introduzione .....  | 72 |
| Materiali e metodi .....  | 73 |

|  |     |
|--|-----|
| Risultati e discussione .....  | 78  |
| Conclusioni.....   | 82  |
| Bibliografia.....  | 83  |
| Tabelle e figure.....  | 88  |
| 3.Valutazione dell'efficacia di trattamenti a base di oli essenziali sulla<br>conservazione di frutta in celle frigorifere .....   | 94  |
| Bibliografia.....  | 97  |
| Il trattamento con vapori di oli essenziali di timo e santoreggia controlla il<br>marciume bruno e migliora la qualità della conservazione delle pesche e delle<br>nettarine ma potrebbe favorire la muffa grigia..... | 101 |
| Sommario .....   | 101 |
| Introduzione .....   | 102 |
| Materiali e metodi .....   | 105 |
| Risultati e discussione .....  | 110 |
| Conclusioni.....   | 117 |
| Ringraziamenti .....   | 118 |
| Bibliografia.....  | 118 |
| Tabelle e figure.....  | 125 |
| Trattamento a base di vapori di Oli essenziali ( <i>Thymus vulgaris</i> e <i>Satureja<br/>montana</i> ) sulla qualità di ciliegie (cv Ferrovia) durante la conservazione post<br>raccolta .....                        | 137 |
| Sommario .....   | 137 |
| Introduzione .....   | 138 |
| Materiali e Metodi.....  | 139 |
| Resultati e discussione.....   | 143 |
| Conclusioni.....   | 149 |
| Bibliografia.....  | 150 |
| Tabelle e figure.....  | 155 |
| Conclusioni.....   | 161 |

## Introduzione

Lo stile di vita dei consumatori del nuovo millennio ha favorito un incremento della domanda e del consumo di frutta e ortaggi dovuto, tra le altre cause, ad una crescente consapevolezza dell'importanza dell'introduzione nella dieta di vitamine e sostanze antiossidanti di cui i prodotti ortofrutticoli sono la fonte principale. E' stato dimostrato infatti che la frutta ha sul corpo umano una azione positiva grazie all'attività antiossidante, detossificante e stimolante del sistema immunitario. Inoltre è stata riscontrata una positiva influenza sulla coagulazione, sullo smaltimento del colesterolo, sulla riduzione della pressione sanguigna nonché sulla modulazione del sistema endocrino-ormonale, (Lampe, 1999).

L'incremento di domanda si è accompagnato ad un incremento degli scarti legati ad una più ampia disponibilità di prodotto, in termini di quantità e numero di referenze, presso la distribuzione. Lo scarto è causato dalla naturale deperibilità di frutta e ortaggi, la cui qualità è destinata a cambiare con il prolungarsi del tempo di conservazione (Melikoglu *et al.*, 2013).

Una ulteriore problematica è quella relativa alla stagionalità della produzione che determina la disponibilità dei vari prodotti nel corso dell'anno. Per ampliare il calendario di vendita della frutta è quindi necessario fare ricorso a tecnologie di conservazione sempre più sofisticate, irrinunciabili sia per favorire i consumi lungo l'arco delle stagioni sia per preservare le caratteristiche qualitative e nutrizionali dei prodotti.

La necessità di conservare i prodotti freschi emerge già dalla preistoria (Thorne, 1986). Furono sviluppati prima di tutto sistemi di conservazione semplici che prevedevano la riduzione del contenuto in acqua e/o l'aumento del tenore salino (essiccazione, disidratazione, ecc.), sfruttando anche ambienti con temperature naturalmente basse, come grotte e caverne, per contrastare lo sviluppo di patogeni (già dal 6000 a.C.). Tali tecnologie, utilizzate fino a tempi non troppo distanti da noi, presentavano notevoli svantaggi, soprattutto sulla qualità finale del prodotto; infatti l'essiccazione e la disidratazione sono

tecniche accompagnate da una grave denaturazione delle vitamine e degradazione dei pigmenti del prodotto finale che perde così le caratteristiche originali (Singh e Heldeman, 2001). Lo stato dell'arte delle tecnologie conservative rimase pressoché invariato fino alla metà dell'800. In questo periodo, con l'avvento dell'industrializzazione, fu finalmente possibile influenzare direttamente i processi metabolici mediante il controllo dell'ambiente di conservazione, agendo sulla temperatura di stoccaggio. In particolare, intorno al 1800 venne realizzata a Londra la prima macchina per la produzione del ghiaccio e nel 1858 il primo frigorifero (Singh e Heldeman, 2001). Nel secolo successivo la ricerca scientifica è cresciuta in modo esponenziale. Questo sviluppo ha avuto come prima conseguenza l'aumento del patrimonio di conoscenze e, quindi, dello sviluppo tecnologico. In particolare le nuove tecnologie conservative hanno reso la conservazione dei prodotti ortofrutticoli una scienza.

Le conoscenze approfondite in ambito fisiologico e lo studio dei processi metabolici dei frutti in associazione alle maggiori informazioni relative alla sintesi dei metaboliti secondari, hanno consentito la messa a punto di protocolli di conservazione innovativi, in cui l'intervento su più parametri (composizione dell'atmosfera, temperatura, umidità relativa), associato eventualmente a differenti trattamenti, ha consentito di mantenere la qualità e implementare la conservazione del prodotto (Thorne, 1986; Singh e Heldeman, 2001). Negli ultimi anni la ricerca si è concentrata sullo sviluppo di tecnologie innovative che pongano più attenzione alla salubrità dei trattamenti e al loro impatto sul prodotto finale.

Gli obiettivi dei moderni metodi di conservazione post raccolta sono quindi preservare le qualità organolettiche dei frutti riducendo l'impatto sul prodotto e sull'ambiente (Siddiqui, 2015). Per il raggiungimento di questi obiettivi non è più sufficiente riferirsi a un singolo intervento ma è indispensabile utilizzare contemporaneamente diverse metodologie (Siddiqui, 2015; Sharma *et al.*, 2009; Kader, 2002; La Scalia *et al.*, 2017).

La frutta è suscettibile all'attacco di microrganismi a causa dell'elevato contenuto di acqua e di sostanze zuccherine (Singh e Heldeman, 2001). Per contrastarne il naturale decadimento e l'azione dei microorganismi a partire dalla seconda metà del '900 si è ricorso oltre che alle basse temperature anche alla realizzazione di barriere fisiche mediante il confezionamento o *packaging*. Il settore dedicato al *packaging* rappresenta il 2% del PIL nelle nazioni sviluppate (UCIMA, Italian *Packaging Machinery Manufacturers' Association*) e circa metà di esso è dedicata al confezionamento di alimenti (Fortis e Carminati, 2014).

Per definizione con *packaging* si intende “Il complesso delle modalità di imballaggio, confezionamento e presentazione dei prodotti da offrire al pubblico, dal punto di vista dell'impatto che tali operazioni e procedure possono avere sul pubblico stesso. Lo studio e la gestione del *packaging* riguardano l'idoneità rispetto al prodotto, all'uso, al trasporto, allo stoccaggio, alla movimentazione e alle esigenze commerciali. La normativa impone la riduzione di quantità e nocività del *packaging*, nonché la razionalizzazione e organizzazione dell'attività di raccolta, riciclaggio e smaltimento dei materiali impiegati” (Enciclopedia Treccani 2017).

La funzione del *packaging* è di rispondere a diverse esigenze, quali proteggere il contenuto dalle contaminazioni e da agenti esterni, rendere più agevole il suo trasporto e migliorare la conservazione del prodotto (Hine, 1995). In tal senso è stato possibile individuare quattro funzioni primarie che deve adempiere (Robertson, 2013):

- Contenimento, cioè la capacità di “contenere” efficientemente il prodotto.
- Protezione, cioè la capacità di “proteggere” la merce dall'ambiente esterno come acqua, umidità, microrganismi, polvere e agenti inquinanti.

- Convenienza, cioè che l'imballaggio può avere caratteristiche di convenienza a proposito di manipolazione, di apertura/chiusura, di esposizione e riutilizzo
- Comunicazione, cioè la confezione deve essere un “venditore silenzioso” (Lofgen e Witell, 2005) in grado di fornire informazioni sul prodotto acquistato, come proprietà nutritive o qualità organolettica (Robertson, 2013).

Per rispondere a queste esigenze dei consumatori e dei produttori è stata sviluppata, a partire dalla fine del XX secolo, una tecnica per modificare l'ambiente di conservazione a livello di confezione denominata MAP (Modified atmosphere packaging). La MAP è una tecnica usata per estendere la conservazione degli alimenti freschi o minimamente lavorati (Sandhya). Tale tecnica consiste nella modificazione dell'atmosfera contenuta all'interno delle confezioni di conservazione mediante il bilanciamento o la capacità di influenzare i gas contenuti all'interno (McMillin, 2008). Le applicazioni della MAP si sono inizialmente concentrate sulla modificazione dei gas con un aumento della concentrazione di CO<sub>2</sub> a discapito della concentrazione di O<sub>2</sub> su prodotti di matrice vegetale e successivamente la sua applicazione si è concentrata anche su prodotti di origine animale (Phillilps, 1996). Tale successo è stato causato in particolare dalla capacità di mantenere un buon controllo sulla proliferazione microbica naturale e al medesimo tempo riuscire a preservare le caratteristiche dei prodotti. Dalla fine degli anni '80 la ricerca scientifica ha affinato tale tecnica integrandola all'utilizzo di gas nobili, utilizzo di materie plastiche innovative, in grado di regolare i rapporti delle concentrazioni di gas e aggiunta di sostanze attive per migliorare l'efficienza della MAP (Zhang *et al.*, 2015).

Nel medesimo tempo la ricerca ha esplorato la possibilità di associare alle atmosfere modificate dei trattamenti in grado di apportare dei vantaggi nella



conservazione dei frutti. Tra questi sono risultati di interesse l'utilizzo in forma gassosa di diossido di cloro e gli oli essenziali.

Per quanto riguarda il diossido di cloro la sua efficacia e il suo effetto sulla carica microbica sono noti da tempo e sono stati sfruttati sotto forma di additivo per le acque di lavaggio. In particolare il diossido di cloro ( $\text{ClO}_2$ ) è un potente agente sanificante e decontaminante e non reagisce con i composti organici per produrre sottoprodotti tossici clorurati. Al medesimo tempo ha una capacità ossidante più elevata del cloro (Aday *et al.*, 2013). Negli ultimi anni sono state sviluppate nuove forme di rilascio che sfruttano la diffusione di cloro allo stato gassoso e la sua relativa alta permeabilità (Han *et al.*, 2001) all'interno delle confezioni in cui sono conservati i prodotti. Tale diffusione è stata studiata su mirtilli, ciliegie e albicocche (Zhang *et al.*, 2015; Colgecen & Aday, 2015; Wu *et al.*, 2015) ed è stata comprovata la notevole efficacia sulla conservazione dei frutti e sulla riduzione dello sviluppo di patogeni degli alimenti (Chen *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2000).

Gli oli essenziali, invece, sono sostanze note fin dall'antichità per le proprietà antibatteriche (Boatto *et al.*, 1994; Panizzi *et al.*, 1993), antivirali (Sivropoulou *et al.*, 1997) e antifungine (Kumar *et al.*, 2008) soprattutto nei confronti dei microrganismi degli alimenti (Smitt Palmer *et al.*, 1998; Tassou *et al.*, 1995; Angelini *et al.*, 2006). Negli ultimi anni l'interesse verso queste sostanze si è molto amplificato grazie alla sensibilizzazione dei consumatori verso alimenti trattati con prodotti naturali, anziché pesticidi convenzionali (Cindi *et al.*, 2015) e grazie alle osservazioni effettuate sulla non nocività sulla salute umana a basse concentrazioni. In particolare gli oli essenziali non hanno mostrato tossicità anche per periodi lunghi di esposizione (assenza di tossicità cronica) (Licciardello, 2012) mentre mantengono le loro proprietà antimicrobiche invariate grazie al loro alto potere antimicrobico nei confronti dei microrganismi degli alimenti.

## Scopo del lavoro

Il presente lavoro di tesi di dottorato, sviluppato nel triennio 2015-2017, è uno studio su alcune metodologie innovative di gestione post raccolta di frutta maggiore e minore. L'obiettivo è stato quello di considerare l'efficacia dei sistemi utilizzati attraverso prove di simulazione di conservazione. Gli effetti delle differenti soluzioni sui parametri qualitativi e nutrizionali dei frutti sono stati oggetto di rilievo, considerando anche, seppur con minore approfondimento, lo sviluppo di microrganismi che limitano la vita post raccolta del prodotto.

I metodi indagati, innovativi o sperimentali, sono stati:

- Atmosfere modificate su nettarine *fresh cut* utilizzando materie plastiche compostabili.
- Utilizzo di Oli essenziali di timo e santoreggia a differenti concentrazioni finalizzato al miglioramento della conservazione post raccolta di pesche, nettarine e ciliegie.
- Efficacia di trattamenti a base di diossido di cloro, acqua elettrolizzata ed estratti di bamboo sulla conservazione post raccolta di fragola, mirtillo gigante americano e lampone.
- Utilizzo di luce pulsata nella conservazione post raccolta di uva da tavola (programma svolto durante il periodo presso l'Università di Lleida – Spain).
- Utilizzo di un sistema di sanificazione ambientale industriale per la purificazione di ambienti alimentari e industriali su prodotti interi (uva da tavola) e *fresh cut* (mele) sia in ambiente di lavorazione che in ambiente di conservazione.

- Valutazione di sistemi EMAP per il confezionamento di frutta che impiega vaschette in r-PET, *Pad* attivi e film laserperforati per aumentare la *shelf life* dei prodotti (fragole, ciliegie, macedonia *fresh cut*).

Alla luce delle ricerche effettuate e dei risultati conseguiti, la tesi di dottorato è stata organizzata attraverso una collezione di articoli scientifici, pubblicati su riviste internazionali durante i tre anni di formazione e ricerca. In particolare il lavoro è stato organizzato in capitoli, secondo tre macro argomenti:

1. Utilizzo di atmosfere modificate associate a film plastici compostabili.

In tale sezione si è valutato l'utilizzo della tecnologia MAP associata a un film compostabile su due cultivar di nettarine *fresh cut*, per evidenziare gli effetti del confezionamento sulla qualità finale del prodotto.

2. Utilizzo di sistemi di diffusione di ClO<sub>2</sub> in forma gassosa mediante *pad*.

Sono stati valutati gli effetti del trattamento con diossido di cloro gassoso applicato mediante diffusori applicati sulle vaschette destinate alla vendita. In tale ricerca sono state utilizzate due differenti tipologie di frutta, lamponi e fragole, caratterizzate da elevata perdita di peso e sensibilità all'attacco di muffe.

3. Valutazione dell'efficacia di trattamenti a base di oli essenziali sulla conservazione di frutta in celle frigorifere.

Nell'ultimo studio è stato preso in esame l'utilizzo di oli essenziali per la conservazione di pesche, nettarine e ciliegie. Sono stati valutati due differenti oli essenziali, timo e santoreggia, applicati a concentrazione differente dopo la raccolta, mediante un sistema di "fumigazione" direttamente nella cella di conservazione.

Ogni capitolo è stato organizzato in una prima parte, contenente una breve introduzione riguardante lo stato di avanzamento di ciascuna tecnologia studiata, e una seconda parte contenente le prove condotte attraverso gli articoli scientifici prodotti.

## **BIBLIOGRAFIA**

Aday, M. S., Buyukcan, M. B., & Caner, C. (2013). Maintaining the quality of strawberries by combined effect of aqueous chlorine dioxide with modified atmosphere packaging. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37(5), 568-581.

Angelini, P., Pagiotti, R., Menghini, A., & Vianello, B. (2006). Antimicrobial activities of various essential oils against foodborne pathogenic or spoilage moulds. *Annals of microbiology*, 56(1), 65-69.

Boatto, G., Gpintore, G. P., Mpalomba, M. P., Simone, F. D., Eramundo, E. R., & Ciodice, C. I. (1994). Composition and antibacterial activity of Inula helenium and Rosmarinus officinalis essential oils. *Fitoterapia*, 65, 279-280.

Chang, C. Y., Hsieh, Y. H., Hsu, S. S., Hu, P. Y., & Wang, K. H. (2000). The formation of disinfection by-products in water treated with chlorine dioxide. *Journal of hazardous materials*, 79(1), 89-102.

Chen, Z., Zhu, C., Zhang, Y., Niu, D., & Du, J. (2010). Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on enzymatic browning and shelf-life of fresh-cut asparagus lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 58(3), 232-238.

Cindi, M. D., Shittu, T., Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2015). Chitosan boehmite-alumina nanocomposite films and *T. vulgaris* oil vapour control brown rot in pesche (*Prunus persica* L.) during postharvest storage. *Crop protection*, 72, 127-131.

Colgecen, I., & Aday, M. S. (2015). The efficacy of the combined use of chlorine dioxide and passive modified atmosphere *packaging* on sweet cherry quality. *Postharvest Biology and Technology*, 109, 10-19.

Enciclopedia Treccani <http://www.treccani.it/enciclopedia/>

- Fortis, M., & Carminati, M. (2014). *The Automatic Packaging Machinery Sector in Italy and Germany*. Springer.
- Han, Y., Linton, R. H., Nielsen, S. S., & Nelson, P. E. (2001). Reduction of *Listeria monocytogenes* on green peppers (*Capsicum annuum* L.) by gaseous and aqueous chlorine dioxide and water washing and its growth at 7 C. *Journal of food protection*, 64(11), 1730-1738.
- Hine, T. (1995) *The Total Package*. Boston: Little, Brown.
- Jedermann, R., Nicometo, M., Uysal, I., & Lang, W. (2014). Reducing food losses by intelligent food logistics.
- Kader, A. A. (2002). *Postharvest technology of horticultural crops* (Vol. 3311). University of California Agriculture and Natural Resources.
- Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Prasad, C. S., & Dubey, N. K. (2008). Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 575-580.
- Lampe, J. W. (1999). Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies—. *The American journal of clinical nutrition*, 70(3), 475s-490s.
- La Scalia, G., Nasca, A., Corona, O., Settanni, L., & Micalè, R. (2017). An innovative *shelf life/shelf life* model based on smart logistic unit for an efficient management of the perishable food supply chain. *Journal of Food Process Engineering*, 40(1).
- Licciardello, F. (2012). Nuove prospettive di impiego di oli essenziali per la salvaguardia di prodotti alimentari confezionati.
- McMillin, K. W. (2008). Where is MAP going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat science*, 80(1), 43-65.
- Melikoglu, M., Lin, C., & Webb, C. (2013). Analysing global food waste problem: pinpointing the facts and estimating the energy content. *Open Engineering*, 3(2), 157-164.

- Panizzi, L., Flamini, G., Cioni, P. L., & Morelli, I. (1993). Composition and antimicrobial properties of essential oils of four Mediterranean Lamiaceae. *Journal of ethnopharmacology*, 39(3), 167-170.
- Phillips, C. A. (1996). Modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce. *International journal of food science & technology*, 31(6), 463-479.
- Robertson, G. L., & *Packaging*, I. F. (2013). Principles and Practice; Robertson, GL, Ed.
- Sharma, R. R., Singh, D., & Singh, R. (2009). Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review. *Biological control*, 50(3), 205-221.
- Siddiqui, M. W. (Ed.). (2015). Postharvest Biology and Technology of Horticultural Crops: Principles and Practices for Quality Maintenance. *CRC Press*.
- Singh, R. P., & Heldman, D. R. (2001). *Introduction to food engineering*. Gulf Professional Publishing.
- Sivropoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1997). Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *Salvia fructicosa* essential oil. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 45(8), 3197-3201.
- Tassou, C. C., Drosinos, E. H., & Nychas, G. J. E. (1995). Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 and 10 C. *Journal of Applied Bacteriology*, 78(6), 593-600.
- Thorne, S. (1986). The history of food preservation. Barnes and Noble Books.
- UCIMA, Italian *Packaging Machinery Manufacturers' Association*
- Wu, B., Guo, Q., Wang, G. X., Peng, X. Y., & Che, F. B. (2015). Effects of different postharvest treatments on the physiology and quality of 'Xiaobai' apricots at room temperature. *Journal of food science and technology*, 52(4), 2247-2255.

Zhang, L., Yan, Z., Hanson, E. J., & Ryser, E. T. (2015). Efficacy of chlorine dioxide gas and freezing rate on the microbiological quality of frozen blueberries. *Food Control*, 47, 114-119.

# **1.Utilizzo di atmosfere modificate associate a film plastici compostabili**

La produzione di ortaggi e frutta *fresh cut*, il cui interesse da parte dei consumatori è tutt'ora in crescita, ha visto la necessità di sviluppare sistemi di *packaging* atti a preservare per tutto il periodo di vendita le caratteristiche qualitative e di sicurezza alimentare dei prodotti.

Le atmosfere modificate, MAP, sono state il risultato di questa ricerca..

Sviluppate prevalentemente nella seconda metà del XX secolo (Sandhya, 2010; Kader, 2002), tali tecnologie sono state applicate con successo per la prima volta nel 1927 sulle mele e hanno consentito un notevole sviluppo sia a livello di ricerca sia a livello commerciale (Phillips, 1996).

L'atmosfera modificata (MAP) di prodotti frutticoli consiste nell'alterazione dell'atmosfera all'interno della confezione attraverso la quale avvengono gli scambi gassosi tra interno ed esterno, in funzione della permeabilità dei materiali utilizzati e dell'attività respiratoria del prodotto conservato (Oliveira *et al.*, 2015).

L'azione principale dell'atmosfera modificata è quella di agire sul metabolismo respiratorio e sull'attività dell'acqua del prodotto (per i trasformati in cui non si verifica respirazione cellulare) e quindi sulla sua microbiologia finale e sul suo deterioramento (Singh e Heldman, 2001). E' ampiamente dimostrato che l'efficacia delle atmosfere modificate dipende da molti fattori, tra cui la temperatura di conservazione, la composizione dell'atmosfera, la tipologia di prodotto che si intende conservare, il materiale plastico utilizzato (Zhang *et al* 2016; Sandhya, 2010; Phillips, 1996; Kerry *et al* 2006).

Sono possibili due differenti condizioni:

- MAP passiva: l'atmosfera è modificata passivamente dalla respirazione dei prodotti conservati.
- MAP attiva: l'atmosfera è modificata attivamente tramite introduzione di una miscela di gas: CO<sub>2</sub> e O<sub>2</sub> oltre a N<sub>2</sub>, in funzione degli alimenti che si vogliono



conservare. E' possibile utilizzare anche altri gas (come CO, O<sub>3</sub> o gas nobili) (Farber *et al.*, 2003; Sandhya, 2010).

E' stato osservato che, in generale, un'atmosfera composta da 3-6% O<sub>2</sub> e 2-10% CO<sub>2</sub> permette di mantenere sotto controllo la crescita microbica ed estendere la *shelf life* di una grande varietà di prodotti (Oliveira *et al.*, 2015). Anche atmosfere con alti livelli di ossigeno possono inibire l'attività enzimatica, i processi fermentativi e influenzare la crescita microbica (Van der Steen *et al.*, 2002); in generale però, per la maggior parte dei casi, sono stati individuati range di temperatura e concentrazione di gas intermedi che permettono un allungamento della *shelf life* soprattutto dei prodotti *fresh cut* (Da Oliveira *et al.*, 2015):

| Prodotto                      | Temperatura (°C) | Atmosfera          |                     |
|-------------------------------|------------------|--------------------|---------------------|
|                               |                  | O <sub>2</sub> (%) | CO <sub>2</sub> (%) |
| Fette di mela                 | 0-5              | <1                 | -                   |
| Cubetti di melone (Cantalupe) | 0-5              | 3-5                | 6-15                |
| Fette di kiwi                 | 0-5              | 2-4                | 5-10                |
| Fette di arancia              | 0-5              | 14-21              | 7-10                |
| Fette di pesca                | 0-5              | 1-2                | 5-12                |
| Fette di pera                 | 0-5              | 0.5                | <10                 |
| Fette di cachi                | 0-5              | 2                  | 12                  |
| Arilli di melograno           | 0-5              | -                  | 15-20               |
| Fette di fragole              | 0-5              | 1-2                | 5-10                |

Oltre alla composizione dell'atmosfera all'interno delle confezioni un aspetto fondamentale è quello della permeabilità che regola lo scambio gassoso tra l'interno e l'esterno. La preferenza va verso materiali con media/bassa permeabilità e permeabilità selettiva (Farber *et al.*, 2003). E' questa caratteristica che agisce sulle concentrazioni gassose interne e pertanto modifica le reazioni metaboliche del prodotto e la crescita microbica (Zhang *et al.*, 2016).

Negli ultimi decenni, la ricerca scientifica e industriale si sta concentrando su sistemi innovativi di modificazione dell'atmosfera mediante lo sviluppo di nuove tecnologie e materiali (Zhang *et al.*, 2016).

Tali sistemi prevedono ad esempio l'utilizzo di film contenenti sostanze antiossidanti per contrastare le reazioni di ossidazione (Lopez de Dicastillo *et al.*, 2011; Nerin *et al.*, 2008), l'utilizzo di film biodegradabili (Karnnet *et al.*, 2005; Avella *et al.*, 2005; Marcos *et al.*, 2007; Gomez Estaca *et al.*, 2010) o film microperforati (Kartal *et al.*, 2012; Nath *et al.*, 2011).

Uno dei problemi che possono verificarsi nelle MAP è quello della produzione di sostanze volatili responsabili dell'alterazione di sapore e aroma. Fra queste acetaldeide, etanolo e acido acetico (Kader 2008). La causa della produzione di tali sostanze volatili, *off flavour*, è imputabile principalmente alle alte percentuali di CO<sub>2</sub> a cui il prodotto confezionato è esposto ed al basso livello di ossigeno che causano una alterazione del metabolismo cellulare e l'inizio di processi fermentativi.

Per raggiungere l'obiettivo di aumentare la *shelf life* senza alterare negativamente il metabolismo del prodotto la ricerca si è concentrata, fin dall'inizio, sullo studio dei materiali plastici idonei per gli alimenti. Le proprietà delle plastiche sono determinate dalla natura chimica e fisica dei polimeri che le costituiscono. Le proprietà dei polimeri, in particolare, sono dipendenti dalla loro struttura molecolare, peso e densità, grado di cristallizzazione e composizione chimica (Sperling, 2006; Cowie 2007; van Krevelen e Nijenhuis, 2009; Carraher, 2010).

Per definizione, con polimeri plastici si intendono materiali molecolari in cui ciascuna molecola è composta da una lunga catena o da una rete di unità ripetute. L'esempio più comune è quello del polietilene (PE) la cui molecola è composta da molte molecole del monomero etilene (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) collegate fra di loro.

A livello chimico i polimeri si possono dividere in due tipi: omopolimeri o eteropolimeri a seconda che la macromolecola ripetuta sia sempre la stessa oppure cambi nella catena che compone il materiale.

Il numero di ripetizioni di unità in una singola molecola di un polimero è conosciuto come grado di polimerizzazione. All'aumentare del grado di polimerizzazione la sostanza cambia lo stato fisico passando da uno stato liquido (5-25) ad un solido cristallino (25-50) e a solidi plastici e fibre (>50). (Carraher, 2010)

Per quanto riguarda la densità, invece, essendo una funzione della composizione chimica, cambia in funzione degli elementi con cui le materie plastiche vengono integrate.

A livello di struttura chimica le catene polimeriche si allineano in strutture ordinate e questo stato ordinato determina le proprietà meccaniche ed elettriche ma è la composizione chimica che ne determina le proprietà di stabilità ad agenti esterni (acqua, temperature, luce, solventi).

Questo fa delle materie plastiche uno dei materiali più utilizzati in tutti i campi tecnologici, tuttavia solo pochi polimeri possono esser utilizzati in campo alimentare. Tra le materie plastiche più utilizzate nel campo del *packaging* si annoverano le seguenti: (da Robertson, 2016; Carraher, 2010; Cruciani, 2013).

## **Poliolefine**

Sono un'importante classe di materie plastiche i polimeri composti da monomeri di olefine, basati sulla struttura ( $C_nH_{2n}$ ). In questa classe vi sono il polipropilene (PP) e il polietilene (PE). Sono materiali con elevata resistenza agli agenti chimici. In particolare in questa classe sono inclusi il polietilene (PE) a bassa, molto bassa, lineare, media e alta densità.

La classificazione in funzione della densità prevede 5 sottogruppi:

HDPE ( $\rho = 940\text{--}975 \text{ kg m}^{-3}$ )

MDPE ( $\rho = 926\text{--}940 \text{ kg m}^{-3}$ )

LDPE ( $\rho = 915\text{--}940 \text{ kg m}^{-3}$ )

LLDPE ( $\rho = 915\text{--}925 \text{ kg m}^{-3}$ )

VLDPE ( $\rho = 880\text{--}915 \text{ kg m}^{-3}$ )

### **Polietilene ad alta densità (HDPE)**

HDPE è un polimero non polare molto utilizzato in campo alimentare prodotto per la prima volta dalla polimerizzazione dell'etilene a bassa pressione e a temperatura ambiente. La pellicola HDPE è più rigida e dura di LDPE. Le resistenze di trazione e di rottura sono più alte del LDPE, ma il materiale risulta più fragile se viene sollecitato da impatti con forze anche lievi. La resistenza chimica del HDPE è anche superiore a quella di LDPE e, in particolare, ha una migliore resistenza agli oli e ai grassi. Il film offre un'eccellente protezione dall'umidità, una ridotta permeabilità ai gas rispetto al film LDPE, ma è molto più opaco. La sigillatura termica è notevolmente più difficile rispetto alla pellicola LDPE.

### **Polietilene a bassa densità (LDPE):**

E' una delle materie plastiche più utilizzate in campo alimentare. E' il polimero dell'etilene prodotto mediante la deidratazione catalitica dell'etanolo. La caratteristica di tale prodotto è data dalla relativa bassa densità. I suoi vantaggi sono: l'ottimo grado di macchinabilità, l'elevata resistenza chimica e all'acqua e al vapor acqueo, l'essere traslucido. Lo svantaggio principale è invece rappresentato dal basso effetto barriera nei confronti dei gas come ossigeno e anidride carbonica.

### **Polietilene lineare a bassa densità (LLDPE):**

Si tratta di un polimero del PE che contiene poche ramificazioni. Il polimero presenta una struttura molecolare molto simile al HDPE ma con catene molto più corte. Questa linearità conferisce al LLDPE una miglior resistenza alle forature, una maggior resistenza allo strappo ma i materiali a base di LLDPE sono più costosi e maggiormente opachi.

### **Polietilene a densità molto bassa (VLDPE):**

E' una sottoclasse del LLDPE con una densità inferiore a  $915 \text{ kg m}^{-3}$ . Questo materiale presenta elevate prestazioni in campo di elasticità e proprietà meccaniche, in particolare resistenza a rottura e urti. Può essere utilizzato per

la produzione di pellicole multistrato e di film compositi e può esser miscelato con altre resine PE e PP. Il VLDPE è utilizzato principalmente per l'imballaggio di prodotti freschi, latte, carne e formaggio.

### **Polipropilene**

E' un polimero semiplastico con un elevato carico di rottura e una bassa densità ( $900 \text{ kg m}^{-3}$ ). I diversi tipi di polimerizzazione possono originare materiali diversi in funzione dell'orientamento dei monomeri. Le caratteristiche di tale materiale sono legate a un'elevata resistenza meccanica e per tale ragione risulta essere un materiale molto utilizzato. Per aumentare la resistenza agli agenti ossidanti (quali l'ossigeno) è opportuno miscelare ossidanti ai polimeri o altri additivi.

### **Copolimeri dell'etilene**

Sono copolimeri dell'etilene i polimeri che contengono oltre all'etilene anche altre specie differenti ripetute come l'acetato di vinile, l'acido acrilico, etil acetato, metil acrilato.

### **Etil vinil acetato (EVA)**

E' un materiale plastico copolimerico di etilene e vinil acetato, possiede ottime proprietà isolanti, resistenza alle basse temperature, resistenza alla rottura sotto stress, alle radiazioni ultraviolette. Tale materiale, relativamente recente, si sta diffondendo sempre di più a livello industriale. Presenta tre vantaggi rispetto a LDPE: la temperatura di saldatura è più bassa, le proprietà barriera sono migliori e ha anche eccellenti proprietà elastiche.

### **Etilene vinil alcol (EVOH)**

È un materiale opaco e rigido, utilizzato per gli imballaggi, e usato con materiali strutturali come il polietilene, il polipropilene o il polistirene. E' impermeabile all'ossigeno, all'anidride carbonica e agli aromi. Al medesimo tempo le sue prestazioni sono fortemente compromesse dagli effetti dell'umidità

## **Sostituti delle olefine**

### **Polistirene**

E' il polimero dello stirene dalle caratteristiche rigide. Pertanto è utilizzato nell'industria alimentare per la produzione d'imballaggi e involucri rigidi.

### **Polivinilcloruro (PVC)**

È un polimero del vinile largamente utilizzato in tutti i settori, compresi quello alimentare. Le proprietà di questo materiale dipendono dai tipi di sostanze plasticizzanti cui è addizionato. E' possibile ottenere film molto trasparenti utilizzando stabilizzatori e plastificanti. Il PVC è inerte chimicamente, con un'elevata trasmissione del vapor acqueo.

### **Poliesteri**

Sono polimeri basati su gruppo funzionale degli esteri lungo la catena carboniosa principale. Il polimero più utilizzato in tale classe è il PET.

#### **- Polietilene Tereftalato (PET)**

I film a base di PET sono fragili e opachi e pertanto poco utilizzati. Il PET è preferibilmente impiegato per produrre materiale per imballaggio alimentare rigido grazie alla resistenza alla trazione, ai prodotti chimici e all'adattabilità ad un ampio *range* termico (da -60° a 220°C). E' possibile ottenere proprietà diverse in base allo stato fisico che esso assume durante la produzione (Amorfo, orientato amorfo, cristallino, cristallino orientato).

### **Policarbonati**

I policarbonati sono poliesteri dell'acido carbonico. Presentano caratteristiche molto simili ai poliesteri e pertanto sono utilizzati per la produzione di contenitori di plastica sostituti al PVC e PET.

### **Poliammidi**

Sono plastiche caratterizzate da un gruppo ammidico (CO-NH). I film derivati da questa macromolecola sono prodotti con alte caratteristiche di resistenza meccanica, bassa permeabilità ai gas e resistenza all'azione di raggi UV e composti chimici ma al medesimo tempo hanno alti costi e pertanto la loro diffusione è molto limitata.

## **Acrilonitrile**

A questo gruppo appartengono plastiche costituite dal polimero acetonitrile come il poliacrilonitrile (PAN) e resine come l'acrinitrile stirene e il metacrilato acrilonitrile. La loro importanza è limitata per la produzione di contenitori termoformati.

## **Acido polilattico (PLA)**

Infine negli ultimi anni sono stati sviluppati nuovi polimeri biodegradabili, in grado di rispondere maggiormente ai criteri di sostenibilità, fra questi l'acido polilattico (PLA) (Ramos *et al.*, 2014; Cruciani, 2013) e suoi copolimeri (CPLA) (Siracusa *et al.*, 2008). Il PLA appartiene alla famiglia dei poliesteri alifatici comunemente ottenuti da idrossiacidi, come ad esempio l'acido poliglicolico (PGA) ed è il polimero dell'acido lattico (Jamshidian *et al.*, 2010). L'acido polilattico risulta esser un materiale con una elasticità inferiore al PE, e una resistenza meccanica che dipende molto dalla formulazione del materiale (presenza di plastificanti, altri componenti polimerici, altri componenti in compositi, ecc.) e dalle esigenze di utilizzo (Cruciani, 2013).

Rispetto alla permeabilità il PLA mostra coefficienti di permeabilità all'anidride carbonica e all'ossigeno più o meno simili a quelli del polistirene, ma inferiori a quelli del PET. Infine tale materiale è compostabile nell'ambiente perché il PLA può essere degradato in natura per semplice idrolisi dei legami esterei e non richiede la presenza di enzimi per catalizzare la reazione (Cruciani, 2013). Naturalmente la velocità di degradazione dipende dalle dimensioni e dalla forma del packaging ma le sue caratteristiche rendono ugualmente il PLA un materiale molto importante per lo sviluppo futuro del *food packaging* in quanto estremamente versatile e soprattutto sostenibile.

Il lavoro presentato nel seguente capitolo è la traduzione dell'articolo pubblicato:

Maghenzani, M., Chiabrando, V., & Giacalone, G. (2016). The effect of different MAP on quality retention of fresh-cut nectarines. *International Food Research Journal*, 23(5), 1872-1878

## **BIBLIOGRAFIA**

Avella, M., De Vlieger, J. J., Errico, M. E., Fischer, S., Vacca, P., & Volpe, M. G. (2005). Biodegradable starch/clay nanocomposite films for food packaging applications. *Food chemistry*, 93(3), 467-474.

Carraher Jr, C. E. (2010). *Carraher's polymer chemistry*. CRC Press.

Cruciani L., “Sintesi, modifica e caratterizzazione di polimeri da fonti rinnovabili”, Dottorato di ricerca in ingegneria dei materiali, Università di Bologna, (2013)

Farber, J. N., Harris, L. J., Parish, M. E., Beuchat, L. R., Suslow, T. V., Gorney, J. R., ... & Busta, F. F. (2003). Microbiological safety of controlled and modified atmosphere packaging of fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2(s1), 142-160.

Gómez-Estaca, J., De Lacey, A. L., López-Caballero, M. E., Gómez-Guillén, M. C., & Montero, P. (2010). *Biodegradable gelatin–chitosan films incorporated with essential oils as antimicrobial agents for fish preservation*. *Food Microbiology*, 27(7), 889-896.

Jamshidian, M., Tehrany, E. A., Imran, M., Jacquot, M., & Desobry, S. (2010). Poly-Lactic Acid: production, applications, nanocomposites, and release studies. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5), 552-571.

Kader, A. A. (2002). *Postharvest technology of horticultural crops* (Vol. 3311). University of California Agriculture and Natural Resources.

Kader, A. A. (2008). Flavor quality of fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(11), 1863-1868.

Karnnet, S., Potiyaraj, P., & Pimpan, V. (2005). Preparation and properties of biodegradable stearic acid-modified gelatin films. *Polymer degradation and stability*, 90(1), 106-110.



- Kartal, S., Aday, M. S., & Caner, C. (2012). Use of microperforated films and oxygen scavengers to maintain storage stability of fresh strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, *71*, 32-40.
- López de Dicastillo, C., Nerin, C., Alfaro, P., Catalá, R., Gavara, R., & Marcos, B., Aymerich, T., Monfort, J. M., & Garriga, M. (2007). Use of antimicrobial biodegradable packaging to control *Listeria monocytogenes* during storage of cooked ham. *International Journal of Food Microbiology*, *120*(1-2), 152-158.
- Nath, A., Bagchi, B., Misra, L. K., & Deka, B. C. (2011). Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. *Food Chemistry*, *127*(4), 1510-1514.
- Nerin, C., Tovar, L., & Salafranca, J. (2008). Behaviour of a new antioxidant active film versus oxidizable model compounds. *Journal of food Engineering*, *84*(2), 313-320.
- Oliveira, M., Abadias, M., Usall, J., Torres, R., Teixidó, N., & Viñas, I. (2015). Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables—A review. *Trends in Food Science & Technology*, *46*(1), 13-26.
- Phillips, C. A. (1996). Modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce. *International journal of food science & technology*, *31*(6), 463-479.
- Ramos, M., Jiménez, A., Peltzer, M., & Garrigós, M. C. (2014). Development of novel nano-biocomposite antioxidant films based on poly (lactic acid) and thymol for active packaging. *Food chemistry*, *162*, 149-155.
- Robertson, G. L. (2016). *Food packaging: principles and practice*. CRC press.
- Singh, R. P., & Heldman, D. R. (2001). *Introduction to food engineering*. Gulf Professional Publishing.
- Sandhya. (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT-Food Science and Technology*, *43*(3), 381-392.

Siracusa, V., Rocculi, P., Romani, S., & Dalla Rosa, M. (2008). Biodegradable polymers for food packaging: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 19(12), 634-643.

Van der Steen, C., Jacxsens, L., Devlieghere, F., & Debevere, J. (2002). Combining high oxygen atmospheres with low oxygen modified atmosphere packaging to improve the keeping quality of strawberries and raspberries. *Postharvest Biology and Technology*, 26(1), 49-58.

Zhang, M., Meng, X., Bhandari, B., & Fang, Z. (2016). Recent developments in film and gas research in modified atmosphere *packaging* of fresh foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 56(13), 2174-2182.

# **Effetti di differenti confezionamenti in atmosfera protettiva sulla persistenza della qualità di nettarine *fresh cut*.**

## **SOMMARIO**

*Il lavoro si è concentrato sugli effetti di atmosfere povere di O<sub>2</sub> ed arricchite in CO<sub>2</sub>, associate a diversi packaging (tradizionale e compostabile) sulla shelf life di pesche *fresh cut*. La bassa permeabilità del film ha un'influenza positiva sulla perdita di peso e sulla consistenza della polpa, dato che i film meno permeabili permettono una maggiore ritenzione idrica, che a sua volta causa una minore perdita di peso dei campioni. Il confezionamento in atmosfera protettiva ha ridotto il metabolismo respiratorio con effetti positivi su colore, solidi solubili totali, acidità titolabile, consistenza e attività della PPO, anche se l'efficacia è stata diversa nelle due cultivar considerate. La comparazione tra diversi film ha mostrato che i film biodegradabili possono essere una buona alternativa all'uso di film di polietilene, anche se la maggiore permeabilità risulta essere un limite notevole. L'uso di confezionamenti in atmosfera protettiva per brevi periodi è stato positivo, agendo sul metabolismo respiratorio, e su tutti i parametri considerati.*

Keywords: *shelf life*, consistenza, Sweet Red, Orion, confezioni in acido polilattico,

## **INTRODUZIONE**

Le Pesche sono frutti estivi, molto apprezzati dai consumatori per il sapore e la succosità, che possono essere utilizzati come prodotti *fresh cut*. Tuttavia le pesche *fresh cut* hanno una *shelf life* breve, e questo è il principale fattore limitante della loro diffusione commerciale. I problemi più importanti sono l'imbrunimento della superficie tagliata e la rapida perdita di consistenza (Gorny *et al.*, 1999). La variazione di colore è una conseguenza diretta

dell'attività delle polifenolossidasi e perossidasi (Richard-Forget e Gauillard, 1997) mentre il rammollimento dei tessuti è collegato al processo di maturazione. Durante la maturazione dei frutti avvengono forti cambiamenti sia nelle pectine che nei glicani della matrice, infatti le pectine perdendo il gruppo metilico e idrolizzandosi, determinano la perdita dell'integrità delle pareti cellulari e la diminuzione dell'adesione fra le cellule con conseguente crescita degli spazi intercellulari da cui il cambiamento della struttura dei tessuti (Ortiz *et al.*, 2011).

Il decadimento della qualità dipende dal metabolismo respiratorio, lo scopo del confezionamento in atmosfera protettiva è quindi di ridurre il tasso di respirazione e il calo peso, e conseguentemente di prolungare il periodo di conservazione. Atmosfere povere di O<sub>2</sub> e ricche in CO<sub>2</sub> possono estendere la *shelf life* di numerose derrate alimentari (Kader, 1986) ma possono anche essere utili per frutta minimamente processata. Studi su pere, (Gorny *et al.*, 2002), mele (Soliva-Fortuny *et al.*, 2004), mango (González-Aguilar *et al.*, 2000) e pesche (Gorny *et al.*, 1999) *fresh cut* hanno mostrato l'effetto del confezionamento in atmosfera protettiva nel mantenimento di elevate caratteristiche organolettiche. Gli effetti desiderati sono stati il rallentamento nella riduzione dell'acidità titolabile e il mantenimento della consistenza, del contenuto in solidi solubili totali (TSS) e del contenuto in vitamina C (Saltveit, 2003).

Tradizionalmente per il confezionamento si utilizzano film plastici ottenuti dall'industria petrolchimica, ma, attualmente, nel campo del confezionamento alimentare è possibile considerare materiali compostabili e biodegradabili come alternativi ai materiali plastici tradizionali poiché essi offrono una parziale soluzione al problema dell'accumulo di rifiuti solidi. L'obiettivo di questo lavoro è stato investigare gli effetti di atmosfere a basso contenuto di O<sub>2</sub> ed arricchite in CO<sub>2</sub> associate a differenti confezionamenti, tradizionale e compostabile, sulla *shelf life* di fette di nettarine *fresh cut* conservate (1°C) per 7 giorni.

## MATERIALI E METODI

### *Frutta*

Nello studio sono state utilizzate nettarine delle cultivar ‘Orion’ e ‘Sweet red’. I frutti, uniformi e senza difetti, sono stati raccolti allo stadio di maturazione commerciale (Orion: TSS 9.4 °Brix; TA 138 meq/L; Sweet Red: TSS 9.2; TA 86.96) da un impianto in Piemonte (Italia). Prima del confezionamento le pesche sono state conservate a 4°C per 24 h. I frutti sono stati denocciolati e tagliati in 8 fette utilizzando un coltello in acciaio inossidabile.

### *Metodologie di lavorazione*

I frutti minimamente lavorati sono stati confezionati con due differenti atmosfere (Atmosfera passiva e protettiva attiva) e con 2 differenti film (Film 1 e Film 2).

I film utilizzati per il confezionamento sono stati:

Film 1 – polietilene multistrato + etilene vinilalcol, 33 µm di spessore, O<sub>2</sub> TR 60 ml m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>, WVTR 1,2 g m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>

Film 2 – acido polilattico (PLA), 40 µm di spessore, O<sub>2</sub> TR 480 ml m<sup>-2</sup> day<sup>-1</sup> atm<sup>-1</sup>, WVTR 15,3 g g m<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup>

L’atmosfera modificata attiva è stata applicata insufflando una miscela di gas contenente il 5% di O<sub>2</sub> e il 5% di CO<sub>2</sub>. Sono state ottenute 30 confezioni di ciascuna cultivar (15 con atmosfera modificata attiva, 15 con atmosfera modificata passiva) (sistemi di confezionamento UNIMEC, Italia). Ciascuna confezione era una unità campione ed era composta da 8 fette provenienti da diversi frutti. Le confezioni sigillate sono state pesate e conservate a 1°C per 7 giorni.

## *Analisi*

I frutti sono stati analizzati per quanto riguarda: concentrazione gassosa, perdita di peso, consistenza della polpa, colore, qualità interna, attività della polifenolossidasi (PPO).

### *Monitoraggio del gas*

Allo scopo di misurare la cinetica dei processi di respirazione, si è effettuato un controllo quotidiano delle concentrazioni di ossigeno e diossido di carbonio all'interno delle confezioni utilizzando l'analizzatore CANAL 121 (Vizag, Gas Analysis, France) che misura le concentrazioni dei due gas su campioni di atmosfera (0.5 mL) prelevati automaticamente dallo spazio di testa delle confezioni. Il livello di CO<sub>2</sub> è stato misurato con un sensore infrarosso mentre la concentrazione di ossigeno è stato misurato con un sensore elettrochimico. Lo strumento è stato calibrato con l'aria. Le variazioni nella composizione dell'atmosfera sono state misurate ad 1, 4 e 7 giorni di conservazione.

### *Perdita di peso*

La perdita di peso è stata determinata pesando le confezioni all'inizio della prova e durante la frigoconservazione (4, 7 giorni). I valori sono riportati come percentuale di perdita di peso rispetto al peso iniziale della frutta.

### *Consistenza della polpa*

La consistenza dei frutti è stata testata utilizzando un TA-XT2i Texture Analyzer® (Stable Micro System) equipaggiato con una cella di carico da 5 kg. La misura è stata effettuata a 0, 4 e 7 giorni di permanenza in cella ad 1°C (20 fette per trattamento). Le fette sono state prelevate dalla cella e lasciate a temperatura ambiente (20°C) per 3 ore, successivamente si sono realizzate le misure utilizzando una sonda da 3 mm (SMS P/3) che penetrava 3 mm nella polpa ad una velocità di penetrazione di 3 mm s<sup>-1</sup> (Cocci *et al.*, 2006). La misura rilevata è stata la forza massima di penetrazione (N).

### *Misure colorimetriche*

L'analisi del colore è stata condotta a 0, 2, 4 e 7 giorni di frigoconservazione ad 1°C (20 fette per trattamento). I valori di L\*, a\* e b\* sono stati determinati in due punti per lato della superficie di taglio utilizzando un colorimetro Minolta (CR400, Minolta, Tokyo, Giappone) calibrato con una piastra bianca standard (Y = 92.80, x = 0.3132, y = 0.3193). I valori numerici dei parametri a\* e b\* sono stati utilizzati per calcolare il valore di tinta ( $h^\circ = \tan^{-1} (b^*/a^*)^2$ ). I valori riportati sono la media  $\pm$  SD di 40 misure.

### *Qualità interna*

I solidi solubili totali (°Brix) e l'acidità titolabile (meq/L) sono stati misurati al giorno 0 e a fine conservazione (tre ripetizioni) utilizzando succo estratto da 24 fette di campione per ciascun trattamento. Il contenuto di solidi solubili è stato determinato con un rifrattometro digitale (Atago modello PR-32; Atago Italia, Milano, Italia). L'acidità titolabile è stata misurata con un titolatore automatico (Compact 44-00; Crison Instruments, Modena, Italia) sul succo diluito (1:10) utilizzando NaOH (0.1 M).

### *Attività della polifenolossidasi*

#### *Estrazione dell'enzima*

50 g ottenuti dalle differenti fettine di pesca sminuzzate sono stati miscelati con una soluzione buffer (1:1) a pH = 6.5 contenente NaCl 1 M (Sigma-Aldrich Co.) e 5% polivinilpirrolidone (Sigma-Aldrich Co). La miscela è stata omogeneizzata utilizzando un Ultra Turrax T25 (IKAs WERKE) e poi centrifugata a 12,500 giri/min per 30 min a 4°C (Centrifuga AVANTITM J-25, Beckman Instruments Inc.). Il supernatante è stato raccolto e filtrato attraverso carta filtro Whatman 1 (Whatman Intl.), la soluzione risultante costituiva l'estratto enzimatico, che è stato usato per la determinazione dell'attività enzimatica.

### *Misura dell'Attività della PPO*

L'attività della polifenolossidasi è stata determinata secondo il metodo di Soliva-Fortuny *et al.*, (2002). L'attività enzimatica è stata misurata spettrofotometricamente ponendo 3 mL di catecolo 0.05 M e 75 mL di estratto in una cuvetta in quarzo da 4.5-mL (1 cm path length). Utilizzando uno spettrofotometro Beckman Du 530, sono state registrate le variazioni di assorbanza a 400 nm ogni 5 s fino a 3 min dal momento in cui è stato aggiunto l'estratto enzimatico. Una unità di attività in polifenolossidasi è stata definita come una variazione di assorbanza di 0.001 per minuto e millilitro di estratto enzimatico dall'aggiunta dell'estratto. Per tutte le determinazioni sono state effettuate tre ripetizioni.

### *Analisi statistica*

I dati sono stati analizzati mediante l'analisi della varianza usando il software STATISTICA ver. 6.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA); le sorgenti della varianza erano il trattamento o la durata della conservazione. Per determinare le differenze significative tra le medie dei trattamenti è stato utilizzato il test HSP di Tukey (honest significant differences). I valori medi sono stati considerati significativamente differenti a  $p \leq 0.05$ .

## **RISULTATI E DISCUSSIONE**

### *Concentrazione di gas*

Nelle pesche confezionate con il film 1 si è verificata una diminuzione nella concentrazione di O<sub>2</sub> in associazione con un aumento della concentrazione di CO<sub>2</sub>. Al contrario i campioni confezionati con il film in PLA hanno mostrato un valore di O<sub>2</sub> più alto e una minore concentrazione di CO<sub>2</sub>. È possibile osservare che alla fine della frigoconservazione la concentrazione di O<sub>2</sub> era più alta che all'inizio della prova e che il contenuto in CO<sub>2</sub> era leggermente più alto di quello iniziale (Figura 1). Questo comportamento è stato circa il medesimo per entrambe le cultivar. La composizione dell'atmosfera deve essere messa in relazione con la permeabilità del film, infatti il PLA è



caratterizzato da una alta permeabilità all' O<sub>2</sub> (Chonhenchob *et al.*, 2007) e da una relativamente bassa permeabilità a CO<sub>2</sub> mentre la permeabilità del film 1 è minore ad entrambi i gas.

Lo scopo del confezionamento in atmosfera modificata, attiva e passiva, è di ridurre il metabolismo respiratorio e, di conseguenza, di ritardare il decadimento qualitativo della frutta. Nella cultivar Orion è stata osservata una concentrazione minore in O<sub>2</sub> nel campione con atmosfera controllata passiva, associata ad un contenuto in CO<sub>2</sub> più alto per entrambi i film, suggerendo un metabolismo respiratorio più intenso comparato con i campioni confezionati in atmosfera controllata attiva. Nella cultivar Sweet Red invece l'efficacia dell'atmosfera controllata attiva è stato abbastanza limitata.

### *Perdita di peso*

I prodotti *fresh cut* sono spesso interessati da elevate percentuali di perdita di peso, poichè i tessuti interni sono esposti come conseguenza del taglio della cuticola e buccia. Uno degli scopi dell'utilizzo del confezionamento in atmosfera modificata è quello di mantenere un'alta umidità relativa nella confezione, cosicché la tipica disidratazione non costituisca un problema, tuttavia è determinante nell'influenzare la perdita di peso la permeabilità all'acqua del *packaging*. È nota l'elevata permeabilità al vapore acqueo del film in PLA (Koide e Shi, 2007), maggiore di quella del film in PE. Nel nostro lavoro le perdite di peso osservate sono state limitate in tutti i campioni, tra lo 0.1 e l'1.8% (Figura 2). In entrambe le cultivar le pesche confezionate col film 2 hanno mostrato maggiori perdite di peso delle pesche confezionate col film 1, in accordo con diversi autori (Guilbert *et al.*, 1997; Koide e Shi, 2007; Giacalone e Chiabrando, 2013). L'atmosfera modificata attiva è stata efficace nel ridurre la perdita di peso in quasi tutti i campioni. Solo per la cultivar Sweet red il film 1 associato con l'atmosfera modificata attiva non ha dato risultati efficaci

### *Consistenza della polpa*

Il rammollimento della polpa nella frutta durante la frigoconservazione è dipendente dalla temperatura di conservazione, dai giorni di conservazione, dalla variabilità genetica, dal grado di maturazione e dall'entità della respirazione (Fernandez-Trujillo e Artes, 1997; Toivonen e Brummell, 2008). La causa della perdita di consistenza è l'aumento dell'entità della respirazione e l'elevata produzione di etilene endogeno, che sono una diretta conseguenza della lavorazione. La produzione di etilene può promuovere il processo di maturazione e i cambiamenti degradativi delle membrane e della parete cellulare. Lo stress attiva la sintesi di ACC e la produzione di etilene (Yu e Yang, 1980), nei frutti pre-climaterici i tagli inducono un'accelerazione nei processi coinvolti nella maturazione (Starrett e Laties, 1993), e la velocità di rammollimento della frutta *fresh cut* è spesso molto elevata rispetto a quella degli analoghi frutti interi (O'Connor-Shaw *et al.*, 1994).

Tuttavia nella frutta *fresh cut* può accadere che la consistenza aumenti, ma si tratta unicamente di un aumento apparente dovuto alla perdita d'acqua per traspirazione del frutto. Nei prodotti di frutta *fresh cut* tale perdita è rapida a causa dell'assenza di cuticola. Quando la perdita è particolarmente rilevante, la consistenza della polpa diventa piuttosto elastica (Giacalone e Chiabrando, 2013). Nella cultivar Sweet Red è stato possibile osservare una perdita di consistenza in quasi tutti i trattamenti. Nelle pesche confezionate col film 1 (atmosfera modificata passiva) e col film 2 (atmosfera modificata attiva e passiva) la consistenza della polpa al termine della conservazione era significativamente più bassa rispetto all'inizio, inoltre la consistenza era circa uguale dopo 4 e 7 giorni di conservazione (figura 3). Per contro l'associazione di film 1 e atmosfera modificata attiva è risultata efficace, infatti in queste confezioni le pesche hanno mostrato una elevata consistenza della polpa durante tutta la conservazione.

La cultivar Orion ha mostrato un comportamento diverso, in questo caso tutti i trattamenti sono risultati efficaci e la consistenza si è mantenuta alta per entrambi i film e le atmosfere modificate (Figura 3).

### *Colore*

Nella cultivar Sweet Red la MAP attiva, associata col film 1 ha mostrato, alla fine della conservazione, valori di luminosità e tinta ( $h^\circ$ ) significativamente più alti rispetto agli altri trattamenti. Questo significa che le nettarine hanno mantenuto il colore iniziale durante l'intera conservazione. Il medesimo film associato con atmosfera modificata passiva non è stato ugualmente efficace e i frutti erano più scuri dopo 4 giorni di conservazione. Il film 2 associato con MAP passiva ha fornito buoni risultati fino al quarto giorno di conservazione, mentre l'associazione con atmosfera modificata attiva non è stata sufficientemente efficace (tabella 1).

Nella cultivar Orion invece i migliori risultati si sono ottenuti per i frutti confezionati con il film 2 associato con atmosfera modificata passiva, mentre il film 1 associato con MAP passiva ha mostrato frutti con minor luminosità e valori di tinta inferiori. L'atmosfera modificata attiva non è stata efficace e non ha migliorato il colore. In definitiva, sembra che, per brevi periodi di conservazione, le atmosfere modificate attive influiscano poco sul risultato finale e che il trend generale sia principalmente dovuto al *packaging*.

### *Solidi solubili totali, acidità titolabile*

I solidi solubili totali ( $^\circ$ Brix) e l'acidità titolabile (meq/L) sono stati analizzati dopo la conservazione evidenziando che la maggior differenza osservata era legata alla durata della conservazione. Nella cultivar Orion si è verificata una diminuzione dei valori di SST e TA, e alla fine della prova entrambi i valori erano significativamente più bassi che all'inizio. Mentre nella cultivar Sweet Red non si è verificata una significativa perdita delle caratteristiche qualitative (tabella 2). La differenza tra le due cultivar potrebbe essere attribuita al diverso stadio di maturazione (la cultivar Orion era più matura di Sweet red).

Nella cultivar Sweet Red l'associazione con atmosfera modificata attiva e passiva è stata efficace nel ridurre le perdite qualitative. I valori osservati lungo il periodo di conservazione non sono stati statisticamente differenti, mentre nelle pesche Orion si è avuta una riduzione fisiologica nel contenuto di zucchero e di acidità. I risultati ottenuti sono in accordo con Akbudak e Eris (2004) che hanno attribuito alla atmosfera modificata una inibizione della maturazione dei frutti in pesche meno mature.

### *Attività delle Polifenolossidasi*

Una conseguenza della lavorazione minima dei frutti è la perdita dell'integrità dei tessuti; la compartimentazione della cellula viene compromessa e i composti fenolici, solitamente contenuti nei vacuoli, vengono in contatto con l'enzima PPO, questo causa un imbrunimento nel colore dei frutti poiché le reazioni di imbrunimento enzimatico dei frutti sono catalizzate dalla PPO. L'intensità dell'imbrunimento è influenzato dalla quantità di forme attive dell'enzima e dal contenuto fenolico dei tessuti del frutto. Nella maggior parte dei frutti i livelli di sostanze fenoliche sono dipendenti da numerosi fattori, quali la varietà, lo stato di maturazione o fattori ambientali (Macheix, *et al.*, 1990). Nella cultivar Orion l'attività della PPO è diminuita durante la conservazione in tutti i trattamenti, e il valore finale osservato è stato tra il 20% e il 40% di quello iniziale (Tabella 2) il che è in accordo con Murata *et al.*, 1995. Si è verificata una differenza significativa tra i trattamenti: le pesche confezionate col film 1 + atmosfera modificata passiva hanno mostrato, alla fine della conservazione, una attività enzimatica più alta rispetto agli altri trattamenti, per i quali sono stati trovati valori abbastanza simili. Diversi autori (Gorny *et al.*, 1999; Day, 1994) riportano l'efficacia dell'atmosfera modificata attiva nel ridurre l'attività di PPO e l'inattivazione dell'attività enzimatica è stata associata con una riduzione nell'imbrunimento della superficie tagliata. In questo caso abbiamo osservato solo un debole effetto della atmosfera modificata attiva in relazione col film 1, mentre per il film 2 la atmosfera modificata attiva non ha avuto effetto. Un comportamento diverso è stato

osservato nella cultivar Sweet Red per la quale non si sono trovate differenze tra i trattamenti e durante la conservazione (Tabella 2).

## **CONCLUSIONI**

Una atmosfera povera di O<sub>2</sub> e arricchita in CO<sub>2</sub> associata a diversi tipi di *packaging* ha modificato la qualità di nettarine *fresh cut* frigoconservate (1°C) per 7 giorni. La bassa permeabilità del film 1 ha avuto una influenza positiva sul parametro perdita di peso e sulla consistenza poichè essendo un film meno permeabile al vapore acqueo ha determinato minori perdite di acqua con conseguente minore perdita ponderale dei campioni. La perdita di peso osservata tuttavia è stata molto limitata in tutti i campioni, tra lo 0.1 e l'1.8%.

Nella cultivar Sweet Red durante la conservazione i solidi solubili totali e l'acidità titolabile non sono cambiati significativamente; l'effetto dell'atmosfera modificata attiva e passiva è stato l'inibizione della maturazione determinata dalla riduzione dell'attività respiratoria delle fette. La misura del colore ha mostrato che i migliori risultati di tinta e luminosità si sono registrati con il film 1 + atmosfera modificata attiva per Sweet Red mentre per Orion è risultato migliore il film 2 + atmosfera modificata passiva. I valori di attività della PPO sono stati molto bassi in tutti i test e questo in accordo con diversi autori, che hanno attribuito al confezionamento in atmosfera modificata una riduzione nell'attività della PPO. Mentre in Sweet Red non si sono avute differenze significative tra i campioni, in Orion è stato osservato un effetto della atmosfera modificata attiva in relazione al film 1 (giorno 1).

In conclusione il confronto tra il film 1 e il film 2 mostra che i film basati su sostanze biodegradabili possono essere una buona alternativa all'uso del film in polietilene, e che l'ostacolo principale alla diffusione è l'alta permeabilità, che causa una maggiore perdita di peso del prodotto. L'uso del confezionamento in atmosfera modificata per un breve periodo di conservazione è risultato positivo, agendo sul metabolismo respiratorio in tutti i parametri considerati. Un ulteriore effetto positivo del confezionamento in

atmosfera modificata attiva è stato osservato per la cultivar Orion più che per la cultivar Sweet Red probabilmente a causa dei differenti stadi di maturazione dei frutti.

## **BIBLIOGRAFIA**

Akbudak, B., & Eris, A. (2004). Physical and chemical changes in peaches and nectarines during the modified atmosphere storage. *Food control*, 15(4), 307-313.

Chonhenchob, V., Chantarasomboon, Y., & Singh, S. P. (2007). Quality changes of treated fresh-cut tropical fruits in rigid modified atmosphere packaging containers. *Packaging Technology and Science*, 20(1), 27-37.

Cocci, E., Rocculi, P., Romani, S., & Dalla Rosa, M. (2006). Changes in nutritional properties of minimally processed apples during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 39(3), 265-271.

Day, B. (1994). Modified atmosphere packaging and active packaging of fruits and vegetables. In *VTT SYMPOSIUM* (Vol. 142, pp. 173-173). VALTION TEKNILLINEN TUTKIMUSKESKUS..

Fernández-Trujillo, J. P., & Artés, F. (1997). Quality improvement of peaches by intermittent warming and modified-atmosphere packaging. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 205(1), 59-63.

Giacalone, G., & Chiabrando, V. (2013). Modified atmosphere packaging of sweet cherries with biodegradable films. *International Food Research Journal*, 20(3).

González-Aguilar, G. A., Wang, C. Y., & Buta, J. G. (2000). Maintaining quality of fresh-cut mangoes using antibrowning agents and modified atmosphere packaging. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9), 4204-4208..

Gorny, J. R., Hess-Pierce, B., Cifuentes, R. A., & Kader, A. A. (2002). Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3), 271-278..

- Gorny, J. R., Hess-Pierce, B. and Kader, A. A. 1999. Quality Changes in Fresh-cut Peach and Nectarine Slices as Affected by Cultivar, Storage Atmosphere and Chemical Treatments. *Journal of Food Science* 64(3): 429-432.
- Guilbert, S., Cuq, B., & Gontard, N. (1997). Recent innovations in edible and/or biodegradable *packaging* materials. *Food Additives & Contaminants*, 14(6-7), 741-751.
- Kader, A. A. (1986). Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food technology (USA)*.
- Koide, S., & Shi, J. (2007). Microbial and quality evaluation of green peppers stored in biodegradable film *packaging*. *Food Control*, 18(9), 1121-1125.
- Macheix, J. J., Fleuriet, A. and Billot J. (1990). Fruit phenolics. CRC press. Boca Raton, Florida, p. 379
- O'connor-Shaw, R. E., Roberts, R., Ford, A. L., & Nottingham, S. M. (1994). *Shelf life* of minimally processed honeydew, kiwifruit, papaya, pineapple and cantaloupe. *Journal of Food Science*, 59(6), 1202-1206.
- Ortiz, A., Graell, J., & Lara, I. (2011). Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening 'Golden Reinders' apples: A comparison between calcium dips and ULO storage. *Food Chemistry*, 128(4), 1072-1079.
- Richard-Forget, F. C., & Gaillard, F. A. (1997). Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*Pyrus communis* cv. Williams) polyphenol oxidase and peroxidase: a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(7), 2472-2476..
- Saltveit, M. E. (2003). Is it possible to find an optimal controlled atmosphere?. *Postharvest Biology and Technology*, 27(1), 3-13.
- Soliva-Fortuny, R. C., Elez-Martínez, P., & Martín-Belloso, O. (2004). Microbiological and biochemical stability of fresh-cut apples preserved by

modified atmosphere *packaging*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(2), 215-224.

Soliva-Fortuny, R. C., Biosca-Biosca, M., Grigelmo-Miguel, N., & Martín-Belloso, O. (2002). Browning, polyphenol oxidase activity and headspace gas composition during storage of minimally processed pears using modified atmosphere *packaging*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(13), 1490-1496.

Starrett, D. A., & Laties, G. G. (1993). Ethylene and wound-induced gene expression in the preclimacteric phase of ripening avocado fruit and mesocarp discs. *Plant physiology*, 103(1), 227-234.

Toivonen, P. M., & Brummell, D. A. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 1-14.

Yu, Y. B., & Yang, S. F. (1980). Biosynthesis of wound ethylene. *Plant Physiology*, 66(2), 281-285.



## TABELLE E FIGURE

**Tabella 1** Evoluzione di luminosità (L\*) e tinta (h°) di nettarine Sweet Red e Orion durante la conservazione a 7 giorni (1°C)

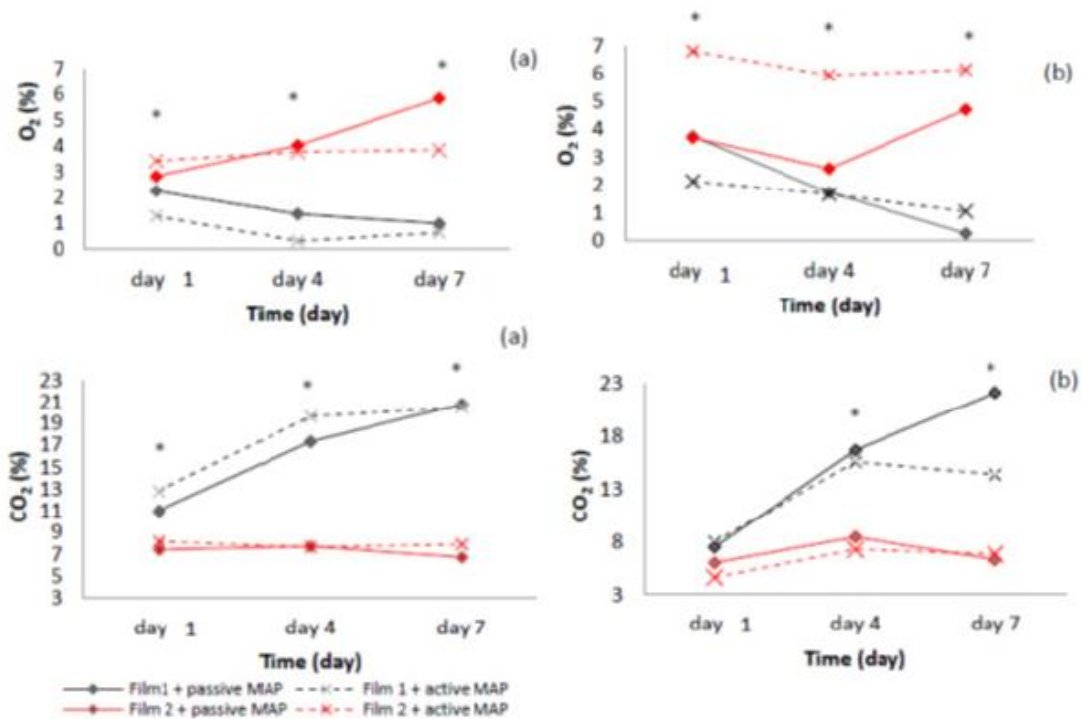
| Cultivar  | Trattamento          | L*                    |                    |                     |                    | h°                    |                     |                       |                     |
|-----------|----------------------|-----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
|           |                      | Giorno 0              | Giorno 2           | Giorno 4            | Giorno 7           | Giorno 0              | Giorno 2            | Giorno 4              | Giorno 7            |
| Sweet red | Film1 + MAP Passiva  | 73.6 <sup>n.s.</sup>  | 66.23 <sup>b</sup> | 68.18 <sup>b</sup>  | 71.53 <sup>b</sup> | 96.08 <sup>n.s.</sup> | 91.2 <sup>c</sup>   | 91.54 <sup>bc</sup>   | 93.08 <sup>b</sup>  |
|           | Film 1 + MAP attiva  | 73.6 <sup>n.s.</sup>  | 72.54 <sup>a</sup> | 73.7 <sup>a</sup>   | 74.03 <sup>a</sup> | 96.08 <sup>n.s.</sup> | 95.67 <sup>a</sup>  | 95.51 <sup>a</sup>    | 95.56 <sup>a</sup>  |
|           | Film 2 + MAP Passiva | 73.6 <sup>n.s.</sup>  | 72.31 <sup>a</sup> | 72.28 <sup>a</sup>  | 71.53 <sup>b</sup> | 96.08 <sup>n.s.</sup> | 94.1 <sup>ab</sup>  | 92.68 <sup>ab</sup>   | 92.35 <sup>b</sup>  |
|           | Film 2 + MAP attiva  | 73.6 <sup>n.s.</sup>  | 71.68 <sup>a</sup> | 68.0 <sup>b</sup>   | 70.19 <sup>b</sup> | 96.08 <sup>n.s.</sup> | 93.15 <sup>bc</sup> | 88.56 <sup>c</sup>    | 92.56 <sup>b</sup>  |
| Orion     | Film1 + MAP Passiva  | 69.36 <sup>n.s.</sup> | 72.04 <sup>b</sup> | 71.61 <sup>b</sup>  | 70.79 <sup>c</sup> | 98.03 <sup>n.s.</sup> | 95.28 <sup>b</sup>  | 95.45 <sup>n.s.</sup> | 93.62 <sup>c</sup>  |
|           | Film 1 + MAP attiva  | 69.36 <sup>n.s.</sup> | 72.79 <sup>b</sup> | 73.99 <sup>ab</sup> | 72.1 <sup>bc</sup> | 98.03 <sup>n.s.</sup> | 96.14 <sup>b</sup>  | 96.53 <sup>n.s.</sup> | 95.82 <sup>bc</sup> |
|           | Film 2 + MAP Passiva | 69.36 <sup>n.s.</sup> | 75.83 <sup>a</sup> | 74.14 <sup>a</sup>  | 76.29 <sup>a</sup> | 98.03 <sup>n.s.</sup> | 98.58 <sup>a</sup>  | 96.47 <sup>n.s.</sup> | 98.31 <sup>a</sup>  |
|           | Film 2 + MAP attiva  | 69.36 <sup>n.s.</sup> | 70.75 <sup>b</sup> | 73.5 <sup>ab</sup>  | 73.55 <sup>b</sup> | 98.03 <sup>n.s.</sup> | 97.9 <sup>a</sup>   | 96.11 <sup>n.s.</sup> | 96.62 <sup>ab</sup> |

Le medie con lettere differenti indicano differenze significative ( $P < 0.05$ ) durante la conservazione tra i trattamenti per ciascun periodo di conservazione. Medie di 40 letture.

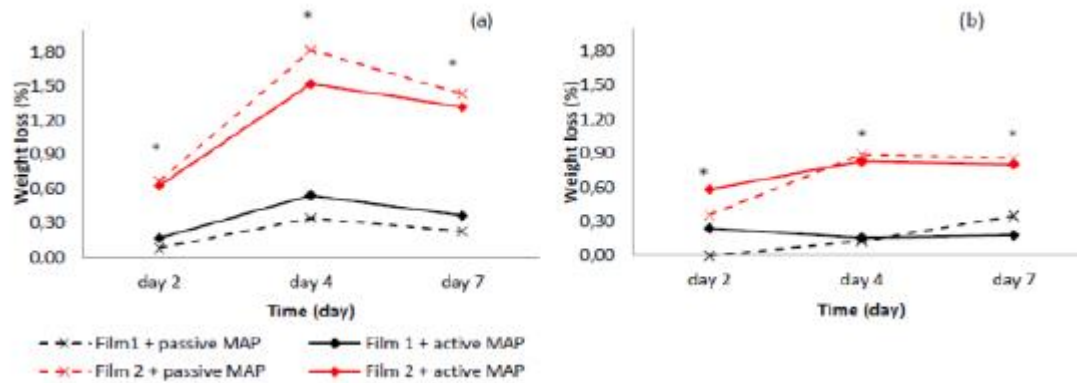
**Tabella 2** Cambiamenti nel contenuto di solidi solubili totali ( $^{\circ}$ Brix), acidità titolabile ( $\text{meq l}^{-1}$ ) e attività di PPO di pesche *fresh-cut* in differenti MAP e conservate 7 giorni ( $1^{\circ}\text{C}$ )

| Cultivar  | Trattamento          | Solidi solubili totali ( $^{\circ}$ Brix) |                     | Acidità titolabile ( $\text{meq l}^{-1}$ ) |                       | Attività PPO ( $\text{uPPO g}^{-1}$ ) |                       |
|-----------|----------------------|---|---------------------|--|-----------------------|---------------------------------------|-----------------------|
|           |                      | Giorno 0                                  | Giorno 7            | Giorno 0                                   | Giorno 7              | Giorno 1                              | Giorno 7              |
| Sweet red | Film1 + MAP Passiva  | 9.20 <sup>n.s.</sup>                      | 9.8 <sup>n.s.</sup> | 86.96 <sup>n.s.</sup>                      | 93.92 <sup>n.s.</sup> | 0.012 <sup>n.s.</sup>                 | 0.017 <sup>n.s.</sup> |
|           | Film 1 + MAP attiva  | 9.20 <sup>n.s.</sup>                      | 8.5 <sup>n.s.</sup> | 86.96 <sup>n.s.</sup>                      | 89.16 <sup>n.s.</sup> | 0.023 <sup>n.s.</sup>                 | 0.053 <sup>n.s.</sup> |
|           | Film 2 + MAP Passiva | 9.20 <sup>n.s.</sup>                      | 9.4 <sup>n.s.</sup> | 86.96 <sup>n.s.</sup>                      | 86.35 <sup>n.s.</sup> | 0.007 <sup>n.s.</sup>                 | 0.028 <sup>n.s.</sup> |
|           | Film 2 + MAP attiva  | 9.20 <sup>n.s.</sup>                      | 9.7 <sup>n.s.</sup> | 86.96 <sup>n.s.</sup>                      | 93.65 <sup>n.s.</sup> | 0.02 <sup>n.s.</sup>                  | 0.019 <sup>n.s.</sup> |
| Orion     | Film1 + MAP Passiva  | 9.45 <sup>aA</sup>                        | 9.3 <sup>bA</sup>   | 138.05 <sup>aA</sup>                       | 109.44 <sup>bA</sup>  | 0.012 <sup>aB</sup>                   | 0.051 <sup>bA</sup>   |
|           | Film 1 + MAP attiva  | 9.45 <sup>aA</sup>                        | 8.8 <sup>bA</sup>   | 138.05 <sup>aA</sup>                       | 101.30 <sup>bB</sup>  | 0.149 <sup>aA</sup>                   | 0.031 <sup>bB</sup>   |
|           | Film 2 + MAP Passiva | 9.45 <sup>aA</sup>                        | 9.0 <sup>bA</sup>   | 138.05 <sup>aA</sup>                       | 94.54 <sup>bB</sup>   | 0.112 <sup>aB</sup>                   | 0.032 <sup>bB</sup>   |
|           | Film 2 + MAP attiva  | 9.45 <sup>aA</sup>                        | 9.3 <sup>bA</sup>   | 138.05 <sup>aA</sup>                       | 96.86 <sup>bB</sup>   | 0.109 <sup>aB</sup>                   | 0.027 <sup>bB</sup>   |

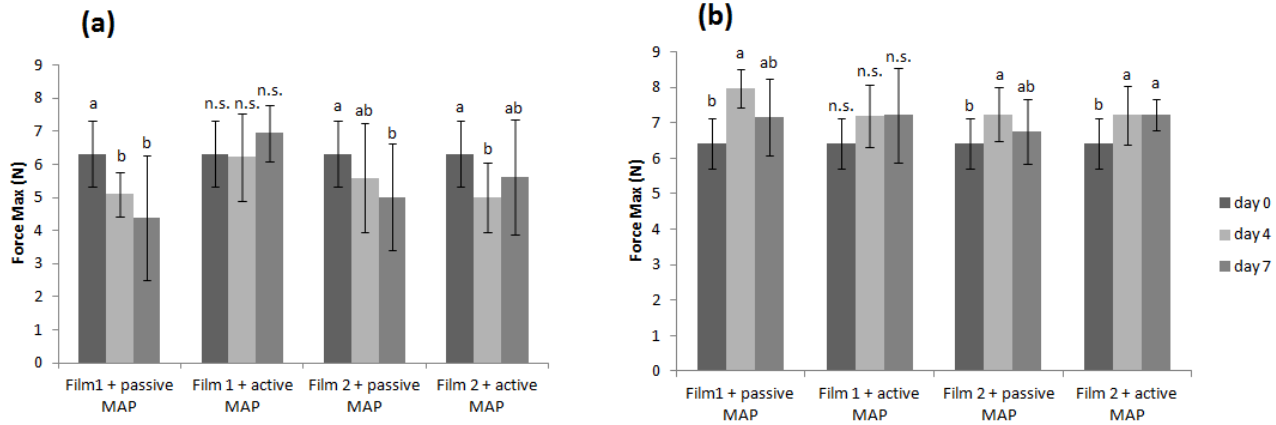
Lettere minuscole e maiuscole indicano differenze significative ( $P < 0.05$ ) durante la conservazione per ciascun trattamento e tra i trattamenti per ciascun periodo di conservazione, rispettivamente. Medie di 3 repliche.



**Figura 1** Cambiamenti delle concentrazione di gas nei differenti *packaging* di Sweet Red (a, c) e Orion (b, d) durante la conservazione (1°C). I valori con \* indicano differenze significative ( $P < 0.05$ ).



**Figure 2** Calo peso in Sweet Red (a) e Orion (b) durante la conservazione (7 giorni a 1°C). I valori con \* indicano differenze significative ( $P < 0.05$ ).



**Figura 3** Cambiamenti nella consistenza delle pesche *fresh cut* Sweet Red (a) e Orion (b) durante la conservazione (7 giorni a 1 ° C) in MAP attiva / passiva. Le medie seguite dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05\%$ . medie di 15 misure  $\pm$  SD

## **2.Utilizzo di sistemi di diffusione di gas (*padpad*) con ClO<sub>2</sub>**

Il diossido di cloro è un agente sanitizzante ben conosciuto e utilizzato nei prodotti agroalimentari per la sua efficacia nei confronti di batteri e muffe. L'utilizzo del ClO<sub>2</sub> è comune nell'industria agroalimentare come agente sanitizzante per le acque di lavaggio di molti prodotti, quali ad esempio ortaggi a foglia, poiché limita lo sviluppo di agenti microbiologici, soprattutto funghi, responsabili del rapido deperimento del prodotto. Tale tecnologia può presentare alcuni svantaggi legati alla produzione di sottoprodotti, cloriti e clorati, che rimangono abbondanti sulla superficie dei frutti a causa delle elevate concentrazione disciolte nelle acque di lavaggio (Keskinen *et al.*, 2009). Pertanto negli ultimi anni l'interesse verso questa sostanza si è rivolta anche alla sua forma di rilascio. Il diossido di cloro è comunemente presente a temperatura ambiente come un gas incolore e pertanto è possibile effettuare trattamenti mediante le formulazioni gassose e non esclusivamente attraverso le acque di lavaggio. Tale pratica è stata presa in considerazione in particolare su prodotti come carne (EFSA Journal 2015), uova (Khanna *et al.* 2016) e pesce. L'utilizzo di questo agente sanitizzante su frutta è stato indagato negli ultimi anni su mirtilli, ciliegie e albicocche (Zhanga *et al.*, 2015; Colgecen & Aday, 2015; Wu *et al.*, 2015) ed è stata comprovata la notevole efficacia sulla conservazione dei frutti e sulla riduzione dello sviluppo di patogeni degli alimenti. Il trattamento con gas di diossido di cloro presenta minori residui clorati nel prodotto finale (Tasi *et al.*, 2001; Trinetta *et al.*, 2010) rispetto ad altri sanitizzanti e una attività letale più alta in relazione al trattamento con le acque di lavaggio a causa della maggiore permeabilità del gas nelle strutture cellulari (Gómez-López, 2012; Han *et al.*, 2001).

L'azione letale sui microrganismi è connessa in particolare all'interruzione del trasporto delle sostanze nutrienti attraverso la parete cellulare. Il diossido di cloro è estremamente selettivo in quanto reagisce con i composti solforati ridotti, le ammine secondarie e terziarie ed altri prodotti ridotti altamente reattivi. In tal modo viene compromessa la permeabilità di membrana (USDA, 2006) ed interrotta la sintesi delle proteine. L'azione letale diretta, causata dall'interruzione della sintesi delle proteine è stata identificata la prima volta da Berg *et al.*, (1986). Le ricerche hanno dimostrato che il diossido di cloro ha una capacità di ossidazione 2.5 volte maggiore della clorina ed è meno reattivo nei confronti di composti organici (Beuchat *et al.*, 2004). Infine è stato osservato che, tra i vari meccanismi d'azione, il clorato, sottoprodotto del diossido di cloro, può avere degli effetti mutageni sul DNA di cellule batteriche e fungine (Alvarez e O'Brian, 1982), ma tale azione risulta avere un'importanza marginale nell'azione biocida del diossido di cloro rispetto alle alterazioni provocate nell'interazione con la membrana cellulare e i relativi meccanismi di trasporto.

Contemporaneamente i rischi potenziali di questo prodotto sono associati all'utilizzo di dosi eccessive che provocano formazione di sottoprodotti come i clorati che risultano essere delle sostanze con un alto potere ossidativo e tossico nei confronti degli esseri umani. I prodotti secondari di scissione del diossido di cloro, clorito e clorato, possono infatti creare complessi tossici con altre sostanze (Aggazzotti, 2007; Righi *et al.*, 2012; Gopal *et al.*, 2007). Dal punto di vista della tossicità, tuttavia, su questo prodotto non sono stati registrati effetti sulla salute umana rispetto agli ioni clorito e clorato (JECFA, 2008) e pertanto nelle acque di lavaggio di prodotti freschi ne è stato autorizzato l'utilizzo negli Stati Uniti con una dose massima di  $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Il diossido di cloro è autorizzato nella Repubblica Popolare cinese e negli Stati Uniti, mentre nell'Unione Europea il legislatore affida la regolamentazione ai singoli stati, sebbene l'Autorità Europea per la sicurezza alimentare (EFSA 2015) abbia espresso parere positivo al suo utilizzo. Numerose ricerche sono

state effettuate su questa sostanza, in particolare per il suo utilizzo nel campo della depurazione delle acque.

I lavori presentati nel seguente capitolo sono le traduzioni degli articoli pubblicati:

Maghenzani, M., Chiabrando, V., Giuggioli, N., Peano, C., and Giacalone, G. (2017). Chlorine dioxide gas treatment on postharvest quality of raspberry. *Italian Journal of Food Science*, 29(3), 476-486.

Chiabrando V., Giuggioli N., Maghenzani M., Peano C. and Giacalone G. (2018). Improving storability of strawberries with gaseous chlorine dioxide in perforated clamshell packaging. *Polish Journal of food and nutrition science*, 68 (2), 141-148.

## **BIBLIOGRAFIA**

Aggazzotti, G. (2007) Effetti del biossido di cloro sulla salute umana, Università di Modena e Reggio Emilia; Genova, 26 Ottobre 2007 (<http://www.fondazioneamga.it/public/Aggazzotti26ottobre2007.pdf>)

Alvarez, M. E., & O'Brien, R. T. (1982). Mechanisms of inactivation of poliovirus by chlorine dioxide and iodine. *Applied and Environmental Microbiology*, 44(5), 1064-1071.

Berg, J. D., Roberts, P. V., & Matin, A. (1986). Effect of chlorine dioxide on selected membrane functions of *Escherichia coli*. *Journal of Applied Bacteriology*, 60(3), 213-220.

Beuchat, L. R., Adler, B. B., & Lang, M. M. (2004). Efficacy of chlorine and a peroxyacetic acid sanitizer in killing *Listeria monocytogenes* on iceberg and romaine lettuce using simulated commercial processing conditions. *Journal of Food Protection*, 67(6), 1238-1242.



- Colgecen, I., & Aday, M. S. (2015). The efficacy of the combined use of chlorine dioxide and passive modified atmosphere *packaging* on sweet cherry quality. *Postharvest Biology and Technology*, *109*, 10-19.
- EFSA publication (2015). EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), 2015.
- Gómez-López (Ed.), Decontamination of Fresh and Minimally Processed Produce, Wiley-Blackwell, Ames, Iowa (2012), pp. 165–175
- Gopal, K., Tripathy, S. S., Bersillon, J. L., & Dubey, S. P. (2007). Chlorination byproducts, their toxicodynamics and removal from drinking water. *Journal of hazardous materials*, *140*(1), 1-6.
- Keskinen, L. A., Burke, A., & Annous, B. A. (2009). Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate Escherichia coli O157: H7 from lettuce leaves. *International journal of food microbiology*, *132*(2), 134-140.
- Han, Y., Linton, R. H., Nielsen, S. S., & Nelson, P. E. (2001). Reduction of *Listeria monocytogenes* on green peppers (*Capsicum annuum* L.) by gaseous and aqueous chlorine dioxide and water washing and its growth at 7 C. *Journal of food protection*, *64*(11), 1730-1738.
- Khanna, G., Chauhan, A. K., & Kang, S. C. (2016). Development of chlorine dioxide gas generation chamber to prevent spoilage of eggs. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, *28*(5), 348.
- Righi, E., Bechtold, P., Tortorici, D., Lauriola, P., Calzolari, E., Astolfi, G., ... & Aggazzotti, G. (2012). Trihalomethanes, chlorite, chlorate in drinking water and risk of congenital anomalies: a population-based case-control study in Northern Italy. *Environmental research*, *116*, 66-73.
- Trinetta, V., Morgan, M. T., & Linton, R. H. (2010). Use of high-concentration-short-time chlorine dioxide gas treatments for the inactivation of *Salmonella enterica* spp. inoculated onto Roma tomatoes. *Food Microbiology*, *27*(8), 1009-1015.

USDA (2006) <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/Chlorine%203%20TR.pdf>

Wu, B., Guo, Q., Wang, G. X., Peng, X. Y., & Che, F. B. (2015). Effects of different postharvest treatments on the physiology and quality of 'Xiaobai' apricots at room temperature. *Journal of food science and technology*, 52(4), 2247-2255.

Zhang, L., Yan, Z., Hanson, E. J., & Ryser, E. T. (2015). Efficacy of chlorine dioxide gas and freezing rate on the microbiological quality of frozen blueberries. *Food Control*, 47, 114-119.

# **Trattamento con Diossido di cloro sulla qualità post raccolta di lamponi**

## **SOMMARIO**

*Lo studio ha riguardato gli effetti del trattamento gassoso con diossido di cloro (ClO<sub>2</sub>) sulla qualità post raccolta dei lamponi (cv Grandeur) durante la conservazione. Sono stati valutati la perdita di peso, il colore, il contenuto totale in solidi solubili (TSSC), l'acidità titolabile (TA), il pH, la vitamina C, i polifenoli totali, gli antociani e la capacità antiossidante. Il ClO<sub>2</sub> ha influenzato positivamente la perdita di peso, il colore, TA, TSSC e capacità antiossidante. Inoltre, il trattamento con ClO<sub>2</sub> ha ridotto il contenuto totale di lieviti e muffe. Al contrario il contenuto in vitamina C, in antociani e in polifenoli totali non è stato influenzato dal trattamento con ClO<sub>2</sub>.*

Keywords: diossido di cloro, qualità dei frutti, *pad*, postharvest, lamponi, conservazione

## INTRODUZIONE

I lamponi (*Rubus idaeus* L.) sono ricchi di acido ascorbico, polifenoli e antocianine. Di conseguenza il consumo di questi frutti è un'importante fonte di composti antiossidanti con un ruolo significativo per quanto riguarda la conservazione e la promozione della salute, ad esempio prevenendo il diabete, agendo sui fattori di rischio cardiovascolare e sullo stress ossidativo (Atienza *et al.*, 2015; Sen e Chakraborty, 2016). I lamponi sono un prodotto altamente deperibile nel quale le modificazioni delle componenti qualitative sono in relazione alla crescita di microorganismi e al decadimento naturale (Giacalone e Chiabrandò, 2012). La raccolta e la conservazione dei lamponi sono operazioni complesse e possono avere effetto sulla qualità e sulle componenti aromatiche dei frutti (Giuggioli, 2014). Di conseguenza la gestione del post raccolta per i lamponi è critica per mantenere la qualità della frutta, in particolare lungo la catena di distribuzione (Briano *et al.*, 2015a; Haffner *et al.*, 2002). Molte tecnologie, come *active packaging*, atmosfera modificata, coating edibili, Difolatan, esanale, vapori di olii essenziali o trattamenti sanificanti, come il diossido di cloro (ClO<sub>2</sub>) e l'ozono sono state studiate per ridurre la crescita dei microorganismi, controllare il decadimento post-raccolta e mantenere la qualità e la freschezza dei frutti (Appendini e Hotchkiss, 2002; Briano *et al.*, 2015b; Chiabrandò e Giacalone, 2008; Chiabrandò e Giacalone, 2015a; Hajizadeh e Kazemi, 2012; Sun *et al.*, 2014). Il diossido di cloro è un disinfettante alternativo, approvato dalla U.S. Food and Drug Administration (FDA) e dalla U.S. Environmental Protection Agency (EPA). Il ClO<sub>2</sub> è utilizzato legalmente in Cina ed USA per sanitizzare frutta e vegetali (Ministry of Health of the People's Republic of China, 2008; USFDA, 2010). In particolare il ClO<sub>2</sub> è autorizzato negli USA per il lavaggio di frutta fresca intera, vegetali, fagioli e piselli sgucciati ad una concentrazione al di sotto delle 5ppm. Nell'Unione Europea, invece, non esistono chiari regolamenti per l'uso di ClO<sub>2</sub> sui prodotti freschi. Di conseguenza, come soluzione provvisoria, è stata data ai singoli Stati membri la possibilità di stabilire livelli

di applicazione a livello nazionale finché il livello di rischio non sarà stabilito in base all'opinione scientifica della European Food Safety Authority (EFSA) e al monitoraggio dei (Banach *et al.*, 2015). Si è ipotizzato l'uso di ClO<sub>2</sub> come alternative all'ipoclorito di sodio (NaClO) per la sanitizzazione di prodotti freschi e *fresh cut*. CORDIS (Community Research and Development Information Service), nell'ideare nuovi approcci per la decontaminazione di prodotti *fresh cut* e strategie di disinfezione, ha incluso il ClO<sub>2</sub> tra i metodi di disinfezione più promettenti.

Nell'Unione Europea il ClO<sub>2</sub> può essere utilizzato in altre forme, come *packaging* attivo e come pad diffusori di gas (Dukan *et al.*, 1999). Le sostanze attive del pad sono molecole di HClO (Acido ipocloroso), di cui è imbibito un gel di silice ed è tossico per i microorganismi. Il diossido di cloro gassoso è anch'esso un notevole disinfettante per il cibo a bassa concentrazione (Chen *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2000). Il vantaggio principale del ClO<sub>2</sub> gassoso è la sua alta penetrabilità (Han *et al.*, 2001). Diversi studi (Chen *et al.*, 2010; Chang *et al.*, 2000) hanno mostrato gli effetti positive del ClO<sub>2</sub> gassoso sul mantenimento della qualità durante la conservazione di lattuga, more, susine e fragole.

L'obiettivo di questo studio è stato di valutare l'impatto dei trattamenti a base di ClO<sub>2</sub>, introdotto mediante un pad rilasciante gas applicato sul coperchio superiore delle confezioni, sulla qualità post raccolta e sugli aspetti nutraceutici di lamponi nonchè sullo sviluppo dei microorganismi, in quattro diverse condizioni di conservazione.

## **MATERIALI E METODI**

### *Campioni e trattamenti*

I lamponi (*R. idaeus* L.) cv. Grandeur sono stati raccolti manualmente da un frutteto commerciale di Agrifrutta Soc. Coop. SRL (Piemonte, Italia) a piena maturazione e collocati direttamente in confezioni plastiche, del tipo *clamshell* (13.5 x 9.0 x 2.5 cm, perforate, in PET, 120 g di frutta). I campioni sono stati

trasportati immediatamente al laboratorio del DISAFA presso l'Università di Torino, e solo i frutti privi di difetti visibili sono stati selezionati per l'esperimento. Le confezioni sono state divise casualmente in due gruppi. In un gruppo un *pad* diffusore di diossido di cloro (CDP) (Oplon Pure Science, Ltd., Ness Tsiyona, Israele) è stato posizionato sul coperchio superiore della confezione (la metodologia è approvata dalla U.S. Food and Drug Administration) . Il secondo gruppo è stato usato come controllo. È stato misurato quindi l'effetto del CDP sulla qualità dei frutti e sulla attività antimicrobica durante la conservazione. Ciascun trattamento ha avuto tre repliche.

#### *Trattamenti di conservazione*

I campioni sono stati conservati al buio a temperatura controllata, e sono state valutate quattro diverse condizioni di stoccaggio:

S1: 4 giorni a 1 °C (conservazione breve)

S2: 8 giorni a 1 °C (conservazione lunga)

S3: 4 giorni a 1 °C e 3 giorni a 4 °C (conservazione breve + trasporto internazionale a corto raggio)

S4: 8 giorni a 1 °C e 3 giorni a 4 °C (conservazione lunga + trasporto internazionale a corto raggio)

Il tempo di trasporto ipotizzato è stato di 3 giorni, simulando un trasporto refrigerato dall'Italia al Nord Europa. Tutte le analisi chimiche sono state ripetute tre volte.

#### *Perdita di peso*

La Perdita di peso è stata determinate pesando le confezioni numerate all'inizio dell'esperimento (tempo 0) e alla fine delle quattro diverse condizioni di conservazione. I valori sono stati riportati come percentuale di Perdita di peso in rapporto al peso iniziale della confezione, come mostrato nell'equazione (1).

$$(1) \quad \% \text{ weight losses} = \frac{\text{initial weight} - \text{final weight}}{\text{initial weight}} * 100$$

### *Parametri qualitativi*

I parametri fisico-chimici di qualità dei frutti sono stati misurati all'inizio del test (tempo 0) e al termine delle quattro diverse condizioni di conservazione.

#### *Colore*

Il colore dei frutti è stato misurato utilizzando un colorimetro tristimolo CR-400 Chroma Meter (Konica Minolta Sensing, Inc. Osaka, Giappone) con lampata D65 e un angolo di osservazione di 2°. Lo strumento è stato calibrato mediante una piastra bianca standard ( $Y = 93.7$ ,  $x = 0.3158$ ,  $y = 0.3321$ ) prima dell'analisi. Sono state effettuate 30 misure (30 frutti) per ciascun trattamento e epoca di campionamento. I risultati sono espressi nello spazio di colore CIELAB ( $L^*a^*b^*$ ). I valori  $L^*$  descrivono la luminosità e i valori  $a^*$  e  $b^*$  esprimono il rosso-verde e il blu-giallo, rispettivamente. Il colore dei frutti è stato espresso anche come  $C^*$  (croma o saturazione). Questo parametro indica la variazione di colore  $C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$  (Francis, 1980). I valori riportati sono la media  $\pm$  SD di 30 letture.

#### *Contenuto in solidi solubili totali (TSSC), acidità titolabile (TA) e pH*

Per ciascun trattamento si è utilizzato un rifrattometro digitale (Atago refractometer model PR-32; Atago Italia, Milano, Italia) per determinare TSSC (°Brix) da tre campioni di succo filtrato non diluiti, ciascuno succo è stato estratto da 30 frutti. Lo strumento è stato calibrato contro acqua distillata. TA e pH sono stati determinati aggiungendo 50 mL di acqua distillata a 10 ml di succo filtrato poi titolato con 0.1 N NaOH fino a pH 8.2, con un titolatore automatico (Titration Workstation TitrLab AT1000 Series, Hach, Milano, Italia). I dati di titolazione sono stati espressi come  $\text{meq L}^{-1}$ .

#### *Contenuto di antocianine totali, fenoli totali e capacità antiossidante totale*

Antocianine, fenoli e capacità antiossidante sono stati determinati sugli estratti di frutta, ottenuti utilizzando 12.5 ml di solvente (500 ml di metanolo, 28.3 ml

di acqua nanopura e 1.4 ml 37% HCl) e 5 g di frutta fresca. Dopo 60 min a 25 °C in condizioni di luce ridotta, gli estratti sono stati omogeneizzati a 24000 giri/min per un minuto con un omogeneizzatore Ultra-Turrax T-25 (Janke and Kunkel, IKA®-Labortechnik, Saufen, Germania) e centrifugati a 3000 giri/min per 15 min (Centrifuga AVANTITM J-25, Beckman Instruments Inc.). Il surnanante è stato raccolto e conservato a -26 °C. Sono state eseguite tre repliche per ciascun trattamento al giorno 0 e alla fine delle quattro diverse condizioni di conservazione. Le antocianine sono state determinate utilizzando il metodo del pH differenziale di Cheng e Breen(1991) misurando l'assorbanza della fase acquosa a 515 e 700 nm utilizzando uno spettrofotometro UV-visible (U-5100, Hitachi, Tokyo, Giappone). Le antocianine sono state stimate attraverso la differenza in assorbanza a 515 e a 700 nm in buffer a pH 1.0 e 4.5, dove  $A = (A_{515} - A_{700})_{pH1} - (A_{515} - A_{700})_{pH4.5}$ . I risultati sono stati espressi come mg di cianidina-3-glucoside per 100 g di frutto fresco. Il contenuto fenolico totale è stato quantificato utilizzando il protocollo di Slinkard e Singleton (1977) con il reagente Folin-Ciocalteu. L'assorbanza è stata misurata a 765 nm. I risultati sono stati calcolati come mg equivalenti di acido gallico ( $mg_{GAE} 100 g^{-1}$  di frutto fresco).

L'attività antiossidante dei frutti è stata misurata con il metodo FRAP, come descritto da Benzie e Strain (1996), con alcune modifiche (Pellegrini *et al.*, 2003). I risultati sono stati espressi come mmol  $Fe^{2+} kg^{-1}$  di frutta fresca.

### *Contenuto in vitamina C*

Il contenuto di vitamina C è stato misurato in accordo con Sanchez-Moreno *et al.*, (2003) e Gonzalez Molina *et al.*, (2008) al giorno 0 e dopo 4 ed 8 giorni di conservazione. La polpa (10 g) è stata omogeneizzata in 10 ml di soluzione metanolo/acqua (5:95 v/v) utilizzando un Ultra-Turrax T-25 per 3 min. Quindi il pH è stato regolato a 2.2–2.4, e l'estratto è stato filtrato attraverso un C18 Sep-Pak (Waters Associates, Milford, MA, USA). La soluzione risultante è stata addizionata a 1,2-o-fenilendiamina dicloridrato (Fluka Chemika, Neu-Ulm, Svizzera) per 37 min prima dell'analisi con HPLC. Per ciascuna data di



analisi e per ciascun trattamento sono state effettuate tre replicate utilizzando 10 frutti per ciascuna. Il sistema cromatografico (Agilent) è stato equipaggiato con un rivelatore a serie di diodi e una colonna Kinetex-C18 (4.6 x 150 mm, 5 µm, Phenomenex., Torrance, CA, USA) e controllato attraverso un software HPLC online (Agilent). La fase mobile (isocratica) consisteva di 50 mM di fosfato di potassio monobasico e di 5 mM di cetrimide (Sigma-Aldrich Corporation, Saint Louis, USA) in metanolo:acqua (v/v) 5:95. Il flusso era di 0.9 ml min<sup>-1</sup>. La temperatura era di 40 °C, e il rivelatore è stato regolato a 261 nm per l'acido ascorbico (AA) e a 348 nm per l'acido deidroascorbico (DHAA). Il contenuto in vitamina C (contenuto di AA e DHAA) è stato espresso come mg 100 g<sup>-1</sup> di peso fresco. Tutti gli standard e i reagenti utilizzati sono stati acquistati da Sigma Italiana SRL (Ozzano Emilia, Italia).

#### *Valutazione di lieviti e muffe*

Il contenuto in lieviti e muffe è stato valutato al giorno 0 e dopo 4 e 8 giorni di conservazione secondo il metodo descritto in *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (Vanderzant e Spletstoeser, 1992). Un campione di 30 g di frutti freschi è stato mescolato con 270 mL di acqua peptonata (Sigma Italiana SRL, Italia) per 1 min utilizzando un omogenizzatore (Stomacher®400 Circulator, Seward, Worthing, UK). Per la valutazione di lieviti e muffe è stato utilizzato Rose bengal agar (Sigma Italiana SRL, Italia). Tutte le piastre sono state incubate a 30 °C per 5 giorni. Il conto dei microorganismi è stato espresso come logaritmo del numero di unità formanti colonie (CFU) g<sup>-1</sup>.

#### *Analisi statistica*

Sui dati è stata utilizzata l'analisi della varianza (ANOVA) e le medie sono state comparate con il Tukey's honestly significant differences test. La sorgente della variazione sono stati i trattamenti (controllo e CDP) e il tempo di conservazione. Le differenze tra i valori medi sono state considerate significativamente differenti quando  $p \leq 0.05$ . Per analizzare tutti i dati è stato utilizzato *SPSS software* (SPSS Statistics version 22 IBM).

## RISULTATI E DISCUSSIONE

### *Perdita di peso*

In generale, i lamponi sono affetti da una perdita di peso considerabile perché i tessuti sono soggetti ad un alto livello di respirazione e traspirazione (Krüger *et al.*, 2011). In questo studio, sono stati osservati bassi valori di perdita di peso in tutti i campioni se comparati a precedenti studi (Krüger *et al.*, 2011; Haffner *et al.*, 2009). Dopo 4 giorni di conservazione (S1), la perdita di peso del campione CDP è stata di 0.71%, significativamente più bassa del controllo (0.98%). Nelle condizioni di conservazione utilizzate, il *pad* CDP ha influenzato positivamente il calo peso dei lamponi, mantenendolo più basso rispetto al controllo, in accordo con gli studi di Aday e Caner (2011). Lo stesso risultato è stato ottenuto nelle condizioni di conservazione S3 e S4, con una perdita di peso di 1.16 e 2.13% rispettivamente, dei campioni trattati con CDP, mentre i valori corrispondenti del controllo sono stati di 1.52 e 2.61%. L'effetto del ClO<sub>2</sub> sulla perdita di peso dipende dall'inattivazione della popolazione microbica, dall'inibizione dell'attività di enzimi come la polifenolossidasi, e dalla riduzione del tasso respiratorio e della sintesi dell'etilene (Aday e Caner 2011; Guo *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2014).

### *Misure di qualità*

#### *Colore*

Il cambiamento di colore è un fattore importante che influisce sull'aspetto e la qualità post raccolta dei lamponi freschi. I parametri L\* e C\* dei lamponi dopo 4 e 8 giorni di conservazione sono riportati nella tabella 1. I valori di L\* dopo 4 e 8 giorni di conservazione hanno evidenziato una diminuzione significativa in entrambi i trattamenti (controllo e trattamento CDP), comparati al giorno 0. Differenze significative sono state osservate tra i trattamenti dopo 4 giorni di conservazione a 1 °C, con più alti valori L\* nei frutti trattati con CDP (frutti con maggiore luminosità). Come descritto da Krüger *et al.*, (2011) e Shin *et*

*al.*, (2008), una diminuzione in luminosità durante la conservazione, indica che i frutti diventano più scuri per l'avanzare della maturazione. Nel presente lavoro, i campioni trattati con il CDP hanno mantenuto il colore originale dei frutti, in accordo con lo studio di Aday e Caner (2011) sulle fragole.

Il gas ClO<sub>2</sub> non ha influenzato la luminosità durante le condizioni di stoccaggio S3 e S4. In questi casi non sono state osservate differenze significative ( $p \geq 0.05$ ) nel valore L\* tra il trattamento CDP (L\* 27.9 e 29.4 in S3 e S4 rispettivamente) e il controllo (L\* 28.4 e 29.2 in S3 e S4 rispettivamente).

I valori C\* inizialmente sono aumentati e poi sono diminuiti durante lo stoccaggio come mostrato nella Tabella 1.

Considerando il breve periodo di stoccaggio (S1), i risultati hanno mostrato valori significativamente più alti per i campioni CDP rispetto al controllo. In questo caso, il trattamento CDP ha migliorato significativamente l'intensità del colore rosso dei frutti durante lo stoccaggio. In studi precedenti, il trattamento CDP non ha causato degradazioni del pigmento e, di conseguenza, nessun cambiamento nel colore esterno dei frutti (Zheng *et al.*, 2008; Gomez Lopez *et al.*, 2009). Lo stesso risultato è stato ottenuto anche nella condizione di stoccaggio S4, dove i campioni CDP hanno mostrato valori C\* pari a 23,3, significativamente più elevati rispetto al controllo (C\* 20,8).

### *TSSC, TA e pH*

I valori di TSSC, TA e pH dopo 4 (S1) e 8 (S2) giorni di stoccaggio sono mostrati nella Tabella 2. I valori TSSC sono stati significativamente differenti tra i trattamenti dopo 4 e 8 giorni di stoccaggio a + 1 °C, mentre non sono state osservate differenze significative in S3 e S4 (dati non presentati). I livelli più elevati di TSSC nel controllo rispetto ai frutti trattati con CDP possono essere dovute alla maggiore entità della respirazione e alla perdita di peso e, di conseguenza, un succo più concentrato nei frutti di controllo. Wu *et al.*, (2011) hanno dimostrato che il trattamento con ClO<sub>2</sub> ha mantenuto il valore di TSSC simile al valore registrato alla raccolta, e più elevato rispetto al frutto non

trattato, ciò probabilmente dovuto alla riduzione delle infezioni post raccolta. La TA è diminuita significativamente durante lo stoccaggio per entrambi i trattamenti, ma senza significative differenze. Cioè i valori TA diminuiscono in modo significativo per tutti i campioni. Nei campioni di controllo, il valore di acidità più basso si è rilevato in condizioni S4 e mentre nel campione CDP in condizioni S3. La diminuzione della TA e l'aumento del TSSC durante lo stoccaggio sono stati associati all'aumento della temperatura da 1 a 4 °C in S3 e S4 che hanno causato un aumento del tasso respiratorio e il naturale consumo di acidi organici per il metabolismo (Haffner *et al.*, 2009). Le variazioni in TA probabilmente sono dipese maggiormente dalla temperatura che all'effetto di ClO<sub>2</sub>, in accordo con lo studio di Aday e Caner (2011) sulle fragole (Tabella 2).

Il valore del pH è aumentato nei campioni di controllo in accordo con il risultato di TA, mentre nei campioni trattati con CDP non sono state osservate differenze significative durante lo stoccaggio. Aday e Caner (2011) hanno riferito che il trattamento con ClO<sub>2</sub> mantiene stabili i valori del pH nei campioni durante lo stoccaggio, probabilmente ciò è dovuto all'attività antimicrobica di ClO<sub>2</sub> su lieviti e muffe che determina, di conseguenza, una riduzione del decadimento naturale.

### *Antociani totali*

Il contenuto di antociani è uno dei componenti funzionali dei lamponi a cui è associato il loro colore rosso brillante. Il contenuto di antociani è aumentato durante lo stoccaggio a 1 °C (S1 e S2) (Tabella 3) e poi diminuito durante la conservazione a 4 °C (S3 e S4).

Questa tendenza può essere dovuta alla decomposizione di procianidine all'inizio dello stoccaggio (Chun *et al.*, 2013). I risultati del presente studio sono in accordo con la ricerca di Haffner *et al.*, (2002) che ha riportato un aumento simile del contenuto di antocianine dopo 7 giorni di frigoconservazione (1.7 °C), ma in contrasto con lo studio di Mullen *et al.*, (2002) in cui non vi è stato un aumento significativo durante la conservazione

a freddo. Inoltre, i risultati hanno indicato che il contenuto di antociani è aumentato allo stesso modo del pH dopo 8 giorni di stoccaggio a in cella frigorifera a 1 °C. Secondo Orak (2007), esiste una correlazione tra antociani e pH nell'uva. Quindi, questi risultati suggeriscono una tendenza simile nei lamponi. Considerando il trattamento, ClO<sub>2</sub> non sembra influenzare direttamente il livello degli antociani perché non sono state trovate differenze significative tra i trattamenti.

### *Polifenoli totali*

Come mostrato nella Tabella 3, in parziale accordo con i risultati del contenuto totale di antociani, non sono state osservate differenze significative nel contenuto fenolico totale durante la conservazione o tra i trattamenti. In generale, è stato osservato un aumento dei fenoli totali per tutto il periodo di conservazione (ma non statisticamente significativo). Un risultato simile è stato osservato anche nei lamponi (Krüger *et al.*, 2011) nelle fragole (Cheng e Breen, 1991) e nei mirtilli (Chiabrando e Giacalone, 2015b) e sembra dipendere dalla perdita di peso. In questo lavoro, la mancanza di differenze significative tra i campioni trattati CDP e controlli è probabilmente dovuta al basso livello di ClO<sub>2</sub>. Gomez Lopez *et al.*, (2009) e Napolitano *et al.*, (2005) hanno evidenziato che un alto livello di ClO<sub>2</sub> può reagire con i composti fenolici, diminuendo il loro contenuto negli alimenti. Considerando lo stoccaggio a 4 ° C (S3 e S4), il ClO<sub>2</sub> non ha influenzato il contenuto fenolico totale. Infatti, non sono state osservate differenze significative ( $p \geq 0.05\%$ ) tra il trattamento CDP (202.24 e 232.26 mg<sub>GAE</sub> 100 g<sup>-1</sup> rispettivamente in S3 e S4) e il controllo (216.31 e 240.95 mg<sub>GAE</sub> 100 g<sup>-1</sup> rispettivamente in S3 e S4).

### *Capacità totale antiossidante*

Come mostrato nella Tabella 3, la capacità totale antiossidante aumenta lentamente durante lo stoccaggio (anche se non in maniera significativa). L'analisi statistica ha mostrato differenze significative tra i campioni dopo 8 giorni di stoccaggio, con un valore più elevato nel controllo rispetto al campione trattato con CDP. Questo risultato è in accordo con Mullen *et al.*,

(2002) e Kalt *et al.*, (1999). Considerando lo stoccaggio a 4 ° C (S3 e S4), il ClO<sub>2</sub> non ha influenzato la capacità antiossidante e non vi è stata alcuna differenza significativa ( $p \geq 0.05$ ) tra il trattamento CDP (28.54 e 28.27 mmol Fe<sup>2+</sup> kg<sup>-1</sup> in S3 e S4, rispettivamente) e il controllo (29.68 e 31.03 mmol Fe<sup>2+</sup> kg<sup>-1</sup> rispettivamente in S3 e S4).

#### *Contenuto della vitamina C.*

La Tabella 3 riporta i valori di vitamina C dei campioni non trattati e trattati dopo 4 e 8 giorni di stoccaggio. Il contenuto in vitamina C è diminuito nel tempo in entrambi i trattamenti, ma senza differenze statistiche tra le tesi confrontate. Un'evoluzione simile è stata osservata nello studio di Haffner *et al.*, (2002) e Kalt *et al.*, (1999) durante la conservazione a 0 °C. In accordo con Krüger *et al.*, (2011), il contenuto di AA dipende principalmente dalle condizioni di conservazione e dal genotipo.

#### *Valutazione di lieviti e muffe*

I lamponi sono altamente deperibili e suscettibili al decadimento dovuto alla proliferazione microbica durante la fase post raccolta. Pertanto, lo sviluppo microbico è un fattore primario nella perdita di qualità nel post raccolta dei lamponi ed è necessario utilizzare strategie per migliorare la qualità della *shelf life*. Durante questo studio non è stata osservata visivamente la presenza di muffe. Al giorno 0, lieviti e muffe erano presenti in quantità relativamente basse, rispettivamente a 2.9 e 4.2 log CFU / g<sup>-1</sup> (Tabella 4). Dopo 4 e 8 giorni di stoccaggio a 1 ° C, sono stati osservati una riduzione di lieviti e muffe nei campioni trattati con CDP comparati al controllo. L'incidenza delle muffe e dei lieviti sui lamponi è aumentata gradualmente con il tempo di stoccaggio solo nei campioni di controllo. Quindi, in questo studio, il trattamento CDP è stato efficace contro la crescita di lieviti e muffe durante la frigoconservazione. Questo risultato è in accordo con lo studio di Sun *et al.*, (2014) sui mirtilli. La stessa tendenza è stata riscontrata anche in lattuga, carota, mele, pesche, pomodori e prodotti *fresh cut* (Sy *et al.*, 2005).

## CONCLUSIONI

Il lavoro svolto ha mostrato l'efficacia del ClO<sub>2</sub> contro il decadimento naturale dei lamponi e la sua validità nel conservare la qualità dei frutti in diverse condizioni di conservazione post raccolta. I risultati suggeriscono che il trattamento con ClO<sub>2</sub> in *packaging* attivi è utile per ridurre le perdite di prodotto e mantenere la qualità dei lamponi durante la conservazione. In particolare, il trattamento con ClO<sub>2</sub> ha rallentato il metabolismo e, di conseguenza, sono state riscontrate minori perdite di peso rispetto ai frutti non trattati. Inoltre, il trattamento con ClO<sub>2</sub> ha migliorato notevolmente l'intensità della colorazione dei frutti durante la loro conservazione, ma, al medesimo tempo, non sono stati osservati effetti significativi sulla componente nutraceutica. In sintesi, il CDP può essere un sanitizzante alternativo con un'azione positiva contro lieviti e muffe senza ridurre la qualità finale del prodotto. Questo trattamento ha inoltre migliorato la qualità della *shelf life* riducendo la perdita di peso e il cambiamento di colore dei lamponi durante un periodo di conservazione breve.

## RINGRAZIAMENTI

Lo studio è stato sostenuto dall'Università di Torino - Ricerca locale.

## BIBLIOGRAFIA

- Aday, M. S., & Caner, C. (2011). The applications of 'active *packaging* and chlorine dioxide' for extended *shelf life* of fresh strawberries. *Packaging Technology and Science*, 24(3), 123-136..
- Appendini, P., & Hotchkiss, J. H. (2002). Review of antimicrobial food *packaging*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(2), 113-126.
- Atienza, L., Perez, E. G., & Noratto, G. (2015). Effects of Raspberry on Biomarkers of Diabetes, Cardiovascular Disease (CVD) and Oxidative Stress

in Obese Diabetic (db/db) Mice. *The FASEB Journal*, 29(1 Supplement), LB283..

Banach, J. L., Sampers, I., Van Haute, S., & van der Fels-Klerx, H. J. (2015). Effect of disinfectants on preventing the cross-contamination of pathogens in fresh produce washing water. *International journal of environmental research and public health*, 12(8), 8658-8677.

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.

Briano, R., Giuggioli, N. R., Girgenti, V., & Peano, C. (2015). Biodegradable and compostable film and modified atmosphere *packaging* in postharvest supply chain of raspberry fruits (cv. Grandeur). *Journal of food processing and preservation*, 39(6), 2061-2073.

Briano, R., Giuggioli, N. R., Baudino, C., & Peano, C. (2015, b). Influence of evolution of off-flavors and quality for raspberry'Grandeur'® storage with a modified atmosphere *packaging* in the supply chain management. In *XI International Rubus and Ribes Symposium 1133* (pp. 397-404).

Chang, C. Y., Hsieh, Y. H., Hsu, S. S., Hu, P. Y., & Wang, K. H. (2000). The formation of disinfection by-products in water treated with chlorine dioxide. *Journal of hazardous materials*, 79(1), 89-102.

Chiabrandò, V., & Giacalone, G. (2008). Studies on *Shelf life* of `Lateblue"Highbush Blueberries. *Revista de Agarquímica y Tecnología de Alimentos*, 14(3), 199-205.

Chiabrandò, V., & Giacalone, G. (2015a). Effects of alginate edible coating on quality and antioxidant properties in sweet cherry during postharvest storage. *Italian Journal of Food Science*, 27(2), 173.

Chiabrandò, V., & Giacalone, G. (2015). Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity after fresh storage of blueberry treated with edible coatings. *International journal of food sciences and nutrition*, 66(3), 248-253.



- Chen, Z., Zhu, C., Zhang, Y., Niu, D., & Du, J. (2010). Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on enzymatic browning and shelf-life of fresh-cut asparagus lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Postharvest Biology and Technology*, 58(3), 232-238.
- Cheng, G. W., & Breen, P. J. (1991). Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 116(5), 865-869.
- Chun, H. H., Kang, J. H., & Song, K. B. (2013). Effects of aqueous chlorine dioxide treatment and cold storage on microbial growth and quality of blueberries. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 56(3), 309-315.
- Dukan, S., Belkin, S., & Touati, D. (1999). Reactive oxygen species are partially involved in the bacteriocidal action of hypochlorous acid. *Archives of biochemistry and biophysics*, 367(2), 311-316.
- EFSA publication (2015). EFSA CONTAM Panel (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain), 2015.
- Giacalone, G., & Chiabrando, V. Problems and Methods to Improve the Market-Life of Berry Fruit. In "Berries: Properties, Consumption and Nutrition" C. Tuberoso (Ed.), p. 257, Nova Science Publishers Inc., Hauppauge, New York.
- Giuggioli, N. R., Girgenti, V., Baudino, C., & Peano, C. (2015). Influence of modified atmosphere *packaging* storage on postharvest quality and aroma compounds of strawberry fruits in a short distribution chain. *Journal of food processing and preservation*, 39(6), 3154-3164.
- Gómez-López, V. M., Rajkovic, A., Ragaert, P., Smigic, N., & Devlieghere, F. (2009). Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20(1), 17-26.
- González-Molina, E., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2008). Genotype and harvest time influence the phytochemical quality of Fino lemon juice

(Citrus limon (L.) Burm. F.) for industrial use. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(5), 1669-1675.

Guo, Q., Lv, X., Xu, F., Zhang, Y., Wang, J., Lin, H., & Wu, B. (2013). Chlorine dioxide treatment decreases respiration and ethylene synthesis in fresh-cut 'Hami'melon fruit. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(9), 1775-1782..

Haffner, K., Rosenfeld, H. J., Skrede, G., & Wang, L. (2002). Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*, 24(3), 279-289.

Hajizadeh, H. S., & Kazemi, M. (2012). Investigation of Approaches to Preserve Postharvest Quality and Safety in Fresh-cut Fruits and Vegetables. *Research Journal of Environmental Sciences*, 6(3), 93.

Han, Y., Linton, R. H., Nielsen, S. S., & Nelson, P. E. (2001). Reduction of *Listeria monocytogenes* on green peppers (*Capsicum annum* L.) by gaseous and aqueous chlorine dioxide and water washing and its growth at 7 C. *Journal of food protection*, 64(11), 1730-1738.

Kalt, W., Forney, C. F., Martin, A., & Prior, R. L. (1999). Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics, and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 47(11), 4638-4644.

Krüger, E., Dietrich, H., Schöpplein, E., Rasim, S., & Kürbel, P. (2011). Cultivar, storage conditions and ripening effects on physical and chemical qualities of red raspberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 60(1), 31-37.

Ministry of Health of the People's Republic of China, (2008). Hygienic Standards for Use of Food Additives.

Mullen, W., McGinn, J., Lean, M. E., MacLean, M. R., Gardner, P., Duthie, G. G., ... & Crozier, A. (2002). Ellagitannins, flavonoids, and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5191-5196.

- Napolitano, M. J., Green, B. J., Nicoson, J. S., & Margerum, D. W. (2005). Chlorine dioxide oxidations of tyrosine, N-acetyltyrosine, and dopa. *Chemical research in toxicology*, 18(3), 501-508.
- Orak, H. H. (2007). Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Scientia Horticulturae*, 111(3), 235-241.
- Pellegrini, N., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M., & Brighenti, F. (2003). Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *The Journal of nutrition*, 133(9), 2812-2819.
- Regulation (EU) No 852/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 on the hygiene of foodstuffs (including HACCP principles).
- Sen, S., & Chakraborty, R. (2016). Food in Health Preservation and Promotion: A Special Focus on the Interplay. *Exploring the Nutrition and Health Benefits of Functional Foods*, 265.
- Shin, Y., Ryu, J. A., Liu, R. H., Nock, J. F., & Watkins, C. B. (2008). Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 49(2), 201-209.
- Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American journal of enology and viticulture*, 28(1), 49-55.
- Sun, X., Bai, J., Ference, C., Wang, Z., Zhang, Y., Narciso, J., & Zhou, K. (2014). Antimicrobial activity of controlled-release chlorine dioxide gas on fresh blueberries. *Journal of food protection*, 77(7), 1127-1132.
- Sy, K. V., Murray, M. B., Harrison, M. D., & Beuchat, L. R. (2005). Evaluation of gaseous chlorine dioxide as a sanitizer for killing *Salmonella*, *Escherichia coli* O157: H7, *Listeria monocytogenes*, and yeasts and molds on fresh and fresh-cut produce. *Journal of food protection*, 68(6), 1176-1187.

USFDA (United States Food and Drug Administration), (2010). Secondary direct food additives permitted in food for human consumption. 21 CFR. Sec. 173. 300 Chlorine dioxide.

Vanderzant C. and Splittstoesser D.F. (1992). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food (Splittstoesser, Eds.) Washington, DC.

Wang, Y., Wu, J., Ma, D., & Ding, J. (2011). Preparation of a cross-linked gelatin/bacteriorhodopsin film and its photochromic properties. *Science China Chemistry*, 54(2), 405-409.

Wu, B., Li, X., Hu, H., Liu, A., & Chen, W. (2011). Effect of chlorine dioxide on the control of postharvest diseases and quality of litchi fruit. *African Journal of Biotechnology*, 10(32), 6030-6039.

Zheng, Y., Yang, Z., & Chen, X. (2008). Effect of high oxygen atmospheres on fruit decay and quality in Chinese bayberries, strawberries and blueberries. *Food Control*, 19(5), 470-474.

## TABELLE

Tabella 1. Effetto di ClO<sub>2</sub> sui parametri colorimetrici (luminosità e saturazione) dei lamponi dopo 4 (S1) e 8 (S2) giorni di stoccaggio a + 1 ° C. I dati sono ottenuti da medie di 30 letture ± SD.

| Color Parameters           | Treatments       | Tempo di conservazione (giorni) |                        |                         |
|----------------------------|------------------|---------------------------------|------------------------|-------------------------|
|                            |                  | 0                               | 4                      | 8                       |
| <b>Luminosità</b><br>(L*)  | Controllo        | 35.1±1.9 <sup>aA</sup>          | 29.1±3.0 <sup>bB</sup> | 29.8±1.74 <sup>aB</sup> |
|                            | ClO <sub>2</sub> | 35.1±1.9 <sup>aA</sup>          | 30.4±2.2 <sup>aB</sup> | 30.0±2.24 <sup>aB</sup> |
| <b>Saturazione</b><br>(C*) | Controllo        | 22.7±4.0 <sup>aB</sup>          | 25.9±4.5 <sup>bA</sup> | 25.4±4.1 <sup>aA</sup>  |
|                            | ClO <sub>2</sub> | 22.7±4.0 <sup>aB</sup>          | 28.9±5.3 <sup>aA</sup> | 25.9±5.7 <sup>aA</sup>  |

Le medie con le stesse lettere nelle righe (A,B) e nelle colonne (a, b) non sono significativamente diverse tra loro (Tukey's HSD test,  $p \leq 0.05$ )

Tabella 2. Effetto di ClO<sub>2</sub> sui parametri qualitativi dei lamponi dopo 4 (S1) e 8 (S2) giorni di stoccaggio a + 1 ° C.

Contenuto solido solido solido (TSSC), acidità titolabile (TA) e pH. I dati sono medie di 3 repliche ± SD.

| Trattamento |                  | Tempo di conservazione (giorni) |                            |                            |
|-------------|------------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|
|             |                  | 0                               | 4                          | 8                          |
| <b>TSSC</b> | Controllo        | 8.4±0.1 <sup> aB</sup>          | 9.0±0.3 <sup> aA</sup>     | 8.6±0.0 <sup> aB</sup>     |
| °Brix       | ClO <sub>2</sub> | 8.4±0.1 <sup> aA</sup>          | 8.3±0.2 <sup> bA</sup>     | 8.1±0.1 <sup> bA</sup>     |
| <b>TA</b>   | Controllo        | 447.65±17.1 <sup> aA</sup>      | 450.98±5.6 <sup> aA</sup>  | 390.83±17.6 <sup> aB</sup> |
| meq/L       | ClO <sub>2</sub> | 447.65±17.1 <sup> aA</sup>      | 447.06±12.0 <sup> aA</sup> | 402.03±8.1 <sup> aB</sup>  |
| <b>pH</b>   | Controllo        | 3.04±0.01 <sup> aB</sup>        | 3.07±0.01 <sup> aAB</sup>  | 3.10±0.04 <sup> aA</sup>   |
|             | ClO <sub>2</sub> | 3.04±0.01 <sup> aA</sup>        | 3.02±0.01 <sup> bA</sup>   | 3.16±0.12 <sup> aA</sup>   |

Le medie con le stesse lettere nelle righe (A,B) e nelle colonne (a, b) non sono significativamente diverse tra loro (Tukey's HSD test,  $p \leq 0.05$ )

Tabella 3. Effetto di ClO<sub>2</sub> sui parametri nutraceutici dei lamponi dopo 4 (S1) e 8 (S2) giorni di stoccaggio a + 1 ° C.

I dati sono medie di 3 repliche ± SD.

|   | Trattamento      | Tempo di conservazione (giorni) |                            |                            |
|---|------------------|---------------------------------|----------------------------|----------------------------|
|   |                  | 0                               | 4                          | 8                          |
| <b>Antociani totali</b>                   | Controllo        | 43.62±6.65 <sup>ab</sup>        | 54.5±5.24 <sup>aAB</sup>   | 78.11±7.66 <sup>aA</sup>   |
| mg <sub>C3G</sub> 100 g <sup>-1</sup> FW  | ClO <sub>2</sub> | 43.62±6.65 <sup>ab</sup>        | 52.24±5.71 <sup>aAB</sup>  | 68.22±7.47 <sup>aA</sup>   |
| <b>Polifenoli totali</b>                  | Controllo        | 198.3±16.55 <sup>aA</sup>       | 235.66±19.44 <sup>aA</sup> | 219.45±23.41 <sup>aA</sup> |
| mg <sub>GAE</sub> 100 g <sup>-1</sup> FW  | ClO <sub>2</sub> | 198.3±16.55 <sup>aA</sup>       | 217.65±17.33 <sup>aA</sup> | 204.21±9.87 <sup>aA</sup>  |
| <b>Capacità antiossidante totale</b>      | Controllo        | 27.81±2.35 <sup>aA</sup>        | 28.93±0.60 <sup>aA</sup>   | 30.96±1.25 <sup>aA</sup>   |
| mmol Fe <sup>2+</sup> kg <sup>-1</sup> FW | ClO <sub>2</sub> | 27.8±2.35 <sup>aA</sup>         | 28.11±1.42 <sup>aA</sup>   | 28.11±0.80 <sup>bA</sup>   |
| <b>Contenuto Vitamina C</b>               | Controllo        | 12.45±0.40 <sup>aA</sup>        | 12.97±1.09 <sup>aA</sup>   | 9.39±0.85 <sup>aB</sup>    |
| mg 100 g <sup>-1</sup> FW                 | ClO <sub>2</sub> | 12.45±0.40 <sup>aA</sup>        | 12.87±0.57 <sup>aA</sup>   | 8.76±1.30 <sup>aB</sup>    |

Le medie con le stesse lettere nelle righe (A,B) e nelle colonne (a, b) non sono significativamente diverse tra loro (Tukey's HSD test,  $p \leq 0.05$ )

Table 4. Effetto di ClO<sub>2</sub> su muffe e lieviti dopo 4 (S1) e 8(S2) giorni di conservazione a +1°C.

| Trattamento    |  | Tempo di conservazione (giorni) |                    |                    |
|----------------|--|---------------------------------|--------------------|--------------------|
|                |  | 0                               | 4                  | 8                  |
| <b>Lieviti</b> | Controllo                                | 2.85 <sup>aB</sup>              | 4.88 <sup>aA</sup> | 3.61 <sup>aA</sup> |
|                | Log CFU g <sup>-1</sup> ClO <sub>2</sub> | 2.85 <sup>aA</sup>              | 2.56 <sup>bA</sup> | 2.60 <sup>bA</sup> |
| <b>Muffe</b>   | Controllo                                | 4.20 <sup>aA</sup>              | 4.79 <sup>aA</sup> | 4.41 <sup>aA</sup> |
|                | Log CFU g <sup>-1</sup> ClO <sub>2</sub> | 4.20 <sup>aA</sup>              | 2.38 <sup>bB</sup> | 2.34 <sup>bB</sup> |

Le medie con le stesse lettere nelle righe (A,B) e nelle colonne (a, b) non sono significativamente diverse tra loro (Tukey's HSD test,  $p \leq 0.05$ )



# **Aumento della conservazione di fragole con diossido di cloro gassoso in imballaggi clamshell**

## **SOMMARIO**

*Un pad diffusore di diossido di cloro gassoso è stato utilizzato come trattamento post-raccolta per mantenere la qualità e la salubrità delle fragole in due diverse condizioni di conservazione. Durante il breve periodo di conservazione (3 giorni a 4 °C + 2 giorni a 20 °C), i frutti trattati con ClO<sub>2</sub> hanno mantenuto i migliori parametri qualitativi, come colore, acidità titolabile, solidi solubili totali, antociani, capacità antiossidante e perdite di peso inferiori. Durante la conservazione di lungo periodo (12 giorni a 2 °C), i parametri relativi alla qualità post-raccolta sono stati generalmente mantenuti e l'effetto del ClO<sub>2</sub> è stato positivo nel ridurre il quantitativo di muffe e lieviti complessivi, ad eccezione dell'ultimo periodo della prova quando probabilmente il diffusore di gas ClO<sub>2</sub> era esaurito. La valutazione sensoriale ha evidenziato che il trattamento con ClO<sub>2</sub> ha determinato un positivo grado di accettabilità totale in particolare durante il periodo di breve stoccaggio. I risultati suggeriscono che questo trattamento può essere adatto a mantenere la qualità durante un periodo di conservazione breve o lungo fino a 8 giorni e può essere un disinfettante alternativo grazie all'azione positiva contro i lieviti e le muffe, senza alterare la qualità delle fragole.*

Keywords: Fragola, diossido di cloro, trattamento gassoso, pad diffusore di gas

## INTRODUZIONE

La fragola (*Fragaria X ananassa Duch.*) è uno dei frutti estivi più diffusi ed è conosciuta per il suo sapore e aroma. È una ricca fonte di flavonoidi, in particolare antociani, così come di vitamine, minerali e aminoacidi che hanno un effetto benefico sulla salute (Bonarska-Kujawa *et al.*, 2012).

Tuttavia, le fragole sono frutti molto delicati e deperibili, caratterizzati da una breve *shelf-life* post-raccolta a causa di lesioni meccaniche, perdite d'acqua per traspirazione, alterazioni fisiologiche, elevati tassi respiratori, off-flavour e perdite di consistenza (Vargas *et al.*, 2006). Inoltre, la suscettibilità delle fragole ad alterazioni fungine da post-raccolta, come la muffa grigia causata da *Botrytis cinerea* e il marciume nero causato da *Rhizopus stolonifer*, è molto più elevata che in altri frutti. Le perdite post-raccolta possono raggiungere il 40-50% del prodotto durante il periodo di conservazione (Maas, 1998). Pertanto, i centri di lavorazione frutticola sono alla ricerca di tecnologie per minimizzare i cambiamenti fisico-chimici e fisiologici indesiderati e per mantenere la qualità della fragola durante la conservazione post-raccolta. Per estendere la durata della *shelf-life* delle fragole e limitare i danni causati dalla proliferazione fungina, sono stati studiati diversi trattamenti come l'applicazione di *coating* edibili, i trattamenti con calcio, le radiazioni UV, il trattamento a ultrasuoni e l'applicazione di atmosfere modificate (Cao *et al.*, 2010; Aday & Caner 2011; Peano *et al.*, 2014). Inoltre, possono essere utilizzati disinfettanti e fungicidi chimici (Lopez-Gomez *et al.*, 2009). Tuttavia, alcuni metodi sono poco applicabili, costosi, richiedono tempi lunghi e possono sviluppare off-flavour.

L'uso del lavaggio con derivati del cloro è probabilmente il metodo usato più comunemente per la decontaminazione di frutta e ortaggi freschi e per migliorarne la qualità, ma ha alcuni effetti negativi, come la generazione di sottoprodotti tossici (Sy *et al.*, 2005b). Pertanto, sono necessarie strategie alternative per mantenere la qualità della fragola per un periodo più lungo. Il diossido di cloro (ClO<sub>2</sub>) è un potente agente sanificante e decontaminante e non reagisce con i composti organici per produrre sottoprodotti tossici

clorurati. Al medesimo tempo ha una capacità ossidante più elevata del cloro. ClO<sub>2</sub> è una sostanza chimica promettente poiché è in grado di ridurre e ritardare la senescenza, incluso l'imbrunimento, e i marciumi in post raccolta, su una vasta gamma di prodotti, tra cui mirtilli, lamponi, fragole e albicocche (Aday *et al.*, 2013; Shin *et al.*, 2012; Sy *et al.*, 2005a; Zhong *et al.*, 2006). Inoltre, le molecole di ClO<sub>2</sub> possono essere integrate nella confezione sotto forma di *pad* contenenti agenti antimicrobici volatili (Appendini & Hotchiss, 2002). Il gas di ClO<sub>2</sub> è risultato essere più efficace della formulazione acquosa alla stessa concentrazione per la sua maggiore diffusività nei tessuti (Han *et al.*, 2001). Le applicazioni di ClO<sub>2</sub> gassoso hanno mantenuto una qualità di frutta superiore su longan (Saengnil *et al.*, 2014), mirtilli (Zhanga *et al.*, 2015), ciliegia dolce (Colgecen & Aday, 2015) e albicocca (Wu *et al.*, 2015). Pertanto, l'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare, durante il periodo di conservazione, l'efficacia del *pad* generatore di diossido di cloro gassoso sulla qualità post-raccolta delle fragole, sui componenti nutrizionali e sulla crescita microbica.

## **MATERIALI E METODI**

### *Preparazione del campione e condizioni di conservazione*

Le fragole (cv. Portola) sono state raccolte da un frutteto commerciale di Agrifrutta Soc. Coop. SRL (Piemonte, Italia) a piena maturazione e collocate direttamente in cestini di plastica commerciale (30), tipo *clamshell* (L13,5x9,0 x h2,5 cm, perforati (8 fori, Ø 1 mm di diametro), polietilentereftalato). I frutti con alterazioni fisiologiche o presenza di muffe sono stati scartati. I cestini sono stati suddivisi casualmente in due gruppi di 15 unità ciascuno. Nel primo gruppo è stato applicato internamente al coperchio un *pad* generatore di gas di diossido di cloro (CD) (Oplon Pure Science, Ltd., Ness Tsiyona, Israele) e il secondo gruppo è stato utilizzato come controllo.

Le fragole sono state conservate al buio e con temperatura controllata, per due periodi di conservazione di diversa lunghezza per simulare catene di

distribuzione logistica differenti. Per simulare una catena di distribuzione breve, simile alle condizioni del rivenditore, i cestini sono stati collocati in una cella di conservazione a  $4\pm 1$  °C per 3 giorni e dopo questa frigoconservazione i frutti sono stati posti per 2 giorni a  $20\pm 1$  °C. Per simulare la catena di distribuzione lunga, le fragole sono state mantenute a  $2\pm 1$  °C fino a 12 giorni. Tre cestini per ciascun trattamento (0.250 kg di frutti di fragole, 10-15 g ciascuna) sono stati selezionati casualmente ad ogni epoca di analisi, rispettivamente 0, 3 e 3+2 giorni per la conservazione breve e 0, 4, 8 e 12 giorni per la conservazione lunga.

### *Perdita di peso*

I cestini campione sono stati numerati all'inizio dell'esperimento e ad ogni rilievo è stato determinato il peso di ciascuno, rispettivamente a 0, 3 e 3+2 giorni per la conservazione breve e dopo 4, 8 e 12 giorni per la conservazione lunga. È stata utilizzata una bilancia elettronica (SE622, WVR Science Education, USA) con una precisione di  $10^{-2}$ . La perdita di peso è stata riportata come percentuale (%) rispetto al del peso iniziale per ogni cestino. I risultati sono una media di tre ripetizioni.

### *Colore*

Il colore esterno è stato misurato su 15 frutti per ogni trattamento, utilizzando un colorimetro Minolta CR-400 (Chroma Meter, Minolta, Giappone). Le analisi cromatiche sono state eseguite nello spazio colorimetrico CIELAB. Sono stati misurati i valori di  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$  per descrivere uno spazio di colore tridimensionale. Il colore dei frutti è stato espresso anche come  $h^\circ$  (hue angle). Prima di effettuare le letture, ogni giorno di campionamento, il colorimetro è stato tarato usando una piastrella bianca di calibrazione.

### *Analisi sensoriale*

Da ciascun trattamento sono state selezionate casualmente cinque fragole che sono state proposte a sei panelisti, precedentemente addestrati con campioni commerciali, per effettuare una valutazione sensoriale delle fragole conservate

La valutazione è avvenuta dopo 3 e 3+2 giorni per il periodo di breve conservazione e dopo 4, 8 e 12 giorni per il periodo di lunga conservazione. I descrittori considerati sono stati: presenza di muffa visibile, presenza di umidità/condensa, presenza di acqua nel cestino, presenza di odori anomali, colore del frutto e della foglia, aspetto complessivo e aroma. Durante ciascuna sessione, i campioni sono stati presentati in ordine casuale ai panelisti, che hanno valutato i parametri con una scala da 5 (eccellente/assenza) a 0 (inutilizzabile/presenza), seguendo il metodo descritto da Aday e Caner (2011) con alcune modifiche. I risultati sono stati espressi con un indice sensoriale calcolato come la somma di tutti i punteggi per ogni descrittore valutato.

#### *Contenuto solido solubile totale, acidità titolabile e pH*

Il contenuto di solidi solubili totali (TSSC) delle fragole è stato determinato utilizzando il succo di cinque fragole scelte casualmente per ciascun trattamento utilizzando un rifrattometro digitale portatile Atago PR-32 (Atago, Italia, Milano, Italia). L'acidità titolabile (TA) e il pH sono stati determinati titolando il succo a pH 8,1 con NaOH 0,1 M, utilizzando un titolatore automatico (Titration workstation Titralab AT1000 series, Radiometer Analytical, Villerbaunne, Francia). Sono state effettuate tre ripetizioni per ciascun trattamento e per ciascun periodo di conservazione e i risultati di TSSC e TA sono stati espressi come °Brix e meq L<sup>-1</sup>.

#### *Determinazione di antociani, polifenoli totali e capacità antiossidante*

I campioni di fragole sono stati estratti con metanolo (Chiabrando e Giacalone, 2015). Gli estratti sono stati conservati a -26 °C fino al momento dell'analisi. Gli antociani totali sono stati valutati con il metodo di Cheng e Breen (1991). I risultati sono stati espressi in mg di cianidina-3-O-glucoside equivalenti per 100 g di peso fresco e sono stati calcolati come segue:

$$TA \text{ (mg/100 g)} = A \times MW \times DF \times 10^{-3} / \epsilon \times l \times w$$

Dove:

$A = (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH } 4,5}$  ;

MW = peso molecolare (449,2 g / mol);

DF = fattore di diluizione;

l = lunghezza del percorso ottico (1 cm);

$\varepsilon$  = coefficiente di estinzione molare per standard (26.900 L / mol cm);

w = peso del campione.

Il valore ottenuto è la media di tre determinazioni per ciascun trattamento e per epoca di analisi. Il contenuto totale di fenoli è stato determinato con il metodo descritto da Waterhouse (2002) con il reagente Folin-Ciocalteu utilizzando l'acido gallico come standard. L'assorbanza è stata misurata a 765 nm. I risultati sono stati espressi in mg equivalenti di acido gallico (GAE)\*100 g<sup>-1</sup> di campione.

La capacità antiossidante delle fragole è stata misurata come la capacità di ridurre Fe<sup>3+</sup> mediante il metodo FRAP (Pellegrini *et al.*, 2003). I risultati sono stati espressi come mmol Fe<sup>2+</sup> per kg di peso fresco di frutta.

#### *Contenuto della vitamina C.*

Per la determinazione della vitamina C, in accordo con il metodo di Sanchez-Moreno *et al.*, (2003) e González-Molina *et al.*, (2008), 10 g di fragole sono stati unite con 10 ml di solvente di estrazione (metanolo:acqua 5:95 v/v). Il campione è stato omogeneizzato con l'omogenizzatore T-25 Tissue Ultra-Turrax (IKA®-Labortechnik, Saufen, Germania) per 1 min alla forza centrifuga relativa (RCF) 45158 g e poi centrifugata per 15 minuti a RCF 1254 g (centrifuga AVANTITM J- 25, Beckman Instruments Inc.). Il pH dei campioni è stato regolato a 2,2-2,4 e l'estratto è stato filtrato con C18 Sep-Pak (Waters Associates, Milford, MA, USA). La soluzione ottenuta è stata addizionata con 1,2-o-fenilendiamina dicloroidrato (Fluka Chemika, Neu-Ulm, Svizzera) e lasciata a riposo per 37 minuti prima dell'analisi mediante HPLC a temperatura ambiente. Il sistema cromatografico (Agilent) era dotato di una colonna Kinetex-C18 (4,6 x 150 mm, 5 µm, Phenomenex, Torrance, CA, USA), una pompa e un rilettore spettrofotometrico a serie di diodi (DAD). Il

sistema è stato controllato tramite il software HPLC online (Agilent) ed è stato impostato a 40 °C. La fase mobile (isocratica) comprendeva 50 mM di fosfato di potassio monobasico e 5 mM di cetrimide (SigmaAldrich Corporation, Saint Louis, USA) in metanolo:acqua (5:95 v/v). La velocità del flusso è stata di 0,9 mL min<sup>-1</sup>. Il tempo di esecuzione totale dell'analisi è stato di 15 minuti. Il DAD è stato impostato a 261 nm per AA (acido ascorbico) e 348 per DHAA (acido deidroascorbico). Per la quantificazione sono state utilizzate le curve di calibrazione esterne per l'acido ascorbico e per l'acido deididroascorbico. Il contenuto della vitamina C è stato ottenuto dalla somma del contenuto di acido ascorbico e deidroascorbico ed espresso in mg 100 g<sup>-1</sup> peso fresco. Sono state eseguite tre ripetizioni per ogni analisi.

### *Lieviti e muffe totali*

Lieviti e muffe complessivi sono stati valutati seguendo il metodo descritto dal “*Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*” (Vanderzant & Splittstoesser, 1992). A 30 g di campione di fragole fresche sono stati aggiunti 270 ml di acqua peptonata (Sigma Italiana SRL, Ozzano Emilia, Italia) in un omogenizzatore Stomacher® (Stomacher® 400 Circulator, Seward, Worthing, Regno Unito). Quindi, sono state preparate le opportune diluizioni. Per le valutazioni di muffe e lieviti è stata utilizzato Rose Bengal Agar (Sigma Italiana SRL, Ozzano Emilia, Italia). Tutte le piastre sono state incubate a 30 °C per 5 giorni. I conteggi microbici sono stati espressi come logaritmo di unità formanti colonia g<sup>-1</sup> (log CFU/g).

### *Analisi statistica*

Per l'analisi dei dati è stato utilizzato il programma di analisi statistica SPSS (versione 22 IBM). I dati sono stati trattati mediante ANOVA. L'analisi statistica è stata effettuata separatamente per i periodi di conservazione breve e lunga. Il periodo di *shelf life* (3+2) non è stato confrontato con la conservazione di 3 giorni perché le differenti condizioni di temperatura di conservazione non consentono di comparare i trattamenti. Le differenze significative per i trattamenti sono state rilevate utilizzando LSD (least

significant differences) a un livello di significatività di 0.05% e le medie sono state separate utilizzando il test di Tukey.

## **RISULTATI E DISCUSSIONE**

### *Perdita di peso*

La respirazione e la traspirazione superficiale nella frutta sono riconosciuti come i due fattori più importanti per la perdita di peso delle fragole (Hernandez-Munoz *et al.*, 2008). In questo lavoro, considerando il breve periodo non sono state osservate differenze significative tra i campioni trattati con ClO<sub>2</sub> (CD) e i campioni di controllo (Tabella 1). Al contrario, la perdita di peso dei campioni CD è stata significativamente più bassa rispetto ai campioni di controllo dopo 8 e 12 giorni di conservazione. Lo stesso risultato è stato osservato da Aday & Caner (2011), dove il peso più basso nei campioni CD è stato probabilmente causato dall'effetto di ClO<sub>2</sub> sui microrganismi. La bassa proliferazione di microrganismi sulla superficie dei frutti influenza l'attività enzimatica (Wang *et al.*, 2011), il tasso di respirazione e la biosintesi di etilene (Aday & Caner 2011; Guo *et al.*, 2013), con l'effetto di limitare l'evaporazione e i processi metabolici post-raccolta (Sun *et al.*, 2014).

### *Colore*

La degradazione del colore della fragola è di solito causata da due fattori: la degradazione del pigmento antocianico, che è la classe di pigmenti che contribuisce a dare il colore rosso al frutto, e l'aumento dei processi di respirazione enzimatica (Dervisi *et al.*, 2001). In questo studio, considerando il breve periodo di conservazione, non sono state osservate differenze significative, per tutti i parametri colorimetrici, tra i campioni CD e i frutti di controllo, tranne nei valori di a\* dopo 3 giorni di conservazione, quando il controllo ha mostrato valori più alti (Tabella 2). In questo caso, il valore più alto del parametro a\* nei campioni di controllo è probabilmente dovuto a una diminuzione del tasso respiratorio e ad una reazione enzimatica ritardata relativamente alla degradazione antocianica (Aday e Caner, 2011). Tuttavia



dopo 3 giorni di stoccaggio, i campioni dei CD hanno mostrato valori di luminosità significativamente più alti ( $P \leq 0.05$ ) rispetto ai campioni di controllo. La stessa tendenza è stata osservata anche dopo la *shelf life*. Pertanto, il trattamento con il diossido di cloro ha avuto un effetto positivo sulla luminosità del colore delle fragole.

Durante il lungo periodo di conservazione, i valori di  $a^*$  sono diminuiti significativamente ( $P \leq 0.05$ ) nel controllo e nel trattamento del CD, ma senza differenze significative tra i trattamenti ( $P > 0.05\%$ ). Questo risultato non è conforme ai risultati di Aday e Caner (2011) che hanno osservato effetti significativi del trattamento del diossido di cloro sul colore della fragola durante un periodo di lunga conservazione.

Inoltre, durante il periodo di lunga conservazione, i valori  $h^\circ$  e  $L^*$  non hanno mostrato cambiamenti significativi in entrambi i trattamenti. In generale nessun campione ha evidenziato un degrado generale dei pigmenti causati dal trattamento con  $\text{ClO}_2$ , in particolare per quanto riguarda la degradazione del pigmento rosso. Contrariamente a Gomez Lopez *et al.*, (2009) che hanno riferito che  $\text{ClO}_2$  agisce direttamente sulla degradazione dei pigmenti rossi.

#### *Valutazione sensoriale*

Come indicato nella Tabella 3, non sono state rilevate differenze durante il periodo di breve conservazione, invece, durante il periodo di lunga conservazione, i campioni dei CD hanno ottenuto una valutazione inferiore a partire da 8 giorni di conservazione. In particolare, il punteggio è stato influenzato negativamente per il colore della superficie del frutto e delle foglie. Infatti, dopo 8 e 12 giorni di conservazione a 2 °C sono stati osservate zone scolorite sulla superficie dei frutti trattati, probabilmente causati da gocce con elevata concentrazione di diossido di cloro cadute sui frutti. Questo danno ha peggiorato la qualità visiva delle fragole trattate in termini di colore e di aspetto globale. Lo sbiancamento a seguito di trattamenti con  $\text{ClO}_2$  è stato riportato da molti autori riguardo diversi frutti e ortaggi (Sy *et al.*, 2005b; Mahovic *et al.*, 2007; Popa *et al.*, 2007).

### *Solidi solubili, acidità titolabile e pH solubili*

Nell'esperimento di breve conservazione non sono state osservate differenze significative ( $P > 0.05\%$ ) in termini di contenuto in solidi solubili (TSSC) e acidità titolabile (TA) tra i campioni di controllo e quelli trattati con il CD (Tabella 4). I valori di TA dei campioni trattati con CD si sono anche mantenuti stabili nel tempo durante il lungo periodo di stoccaggio. Al contrario, nei campioni di controllo, i valori TA sono aumentati in modo significativo ( $P \leq 0.05$ ) durante la conservazione.

I risultati relativi ai TSSC non mostrano un andamento chiaramente definito durante il lungo periodo di conservazione (tabella 4), difficile attribuire influenze significative al trattamento CD. Ciò contrasta i risultati di Aday e Caner (2011), che riportano un'influenza significativa del trattamento con diossido di cloro sui parametri qualitativi.

Dopo 12 giorni di stoccaggio, i campioni di CD hanno mostrato valori significativamente superiori di pH ( $P \leq 0.05$ ) rispetto al controllo e ai valori di pH a 0 (Tabella 4). Aday e Caner (2011) hanno mostrato che un aumento del pH può essere dovuto al trattamento con il diossido di cloro.

### *Contenuto di antociani totali*

Il contenuto di antociani è rimasto stabile durante il periodo di breve conservazione mentre è diminuito durante il periodo di lunga conservazione (tabella 5) senza differenze significative tra i trattamenti. Questi risultati sono in accordo con Mullen *et al.*, (2002) che ha osservato un risultato simile durante la conservazione refrigerata.

Orak (2007) ha mostrato che il contenuto in antociani in uva rossa di diverse cultivar era strettamente correlato con il pH dei frutti. Nello studio presentato, i contenuti di antociani totali e i valori di pH non sono cambiati con il trattamento con il diossido di cloro, tranne dopo la *shelf life*.

### *Contenuto di composti fenolici totali*

Durante il periodo di conservazione breve a 4 °C non sono stati riscontrati cambiamenti significativi ( $P > 0.05\%$ ) del contenuto fenolico totale delle

fragole tra i campioni trattati con CD e quelli di controllo. Dopo 2 giorni a 20 °C, il controllo ha mostrato valori superiori ai campioni trattati con CD (Tabella 5). Non sono state ottenute differenze significative del contenuto fenolico totale ( $P > 0.05\%$ ) neanche durante il periodo di lunga conservazione a 2 °C né tra i trattamenti né durante il tempo di stoccaggio. Lo studio di Napolitano *et al.*, (2005) ha dimostrato che il diossido di cloro può favorire la reazione ossidativa con valori di pH superiore a 4 e causare così l'ossidazione dei fenoli presenti. Nel presente lavoro, è possibile che durante la conservazione il diossido di cloro non sia stato sufficiente ad aumentare la reazione ossidativa nei frutti. La ragione può essere il basso valore del pH dei campioni (Tabella 4). Quindi, l'uso di diossido di cloro non ha influenzato il contenuto fenolico totale.

#### *Capacità antiossidante*

Durante entrambi i periodi di conservazione non sono state osservate differenze significative ( $P > 0.05\%$ ) nella capacità antiossidante delle fragole tra i campioni trattati con CD e quelli di controllo (Tabella 5). Il valore della capacità antiossidante si è mantenuto stabile in accordo con Prior *et al.*, (1998) e in contrasto con gli studi di Mullen *et al.*, (2002) e Kalt *et al.*, (1999), dove è stato trovato un aumento della capacità antiossidante totale durante la conservazione. Il trattamento con il diossido di cloro non sembra avere avuto un impatto percepibile sulla capacità antiossidante totale (Napolitano *et al.*, 2005).

#### *Contenuto totale della vitamina C*

Il contenuto di vitamina C nelle fragole non ha mostrato differenze significative ( $P > 0.05\%$ ) tra i campioni trattati e di controllo nell'esperimento di breve conservazione (Tabella 5). È stata osservata una lieve diminuzione del contenuto di vitamina C dopo 3 giorni a 4 °C e dopo 2 giorni a 20 °C. Per quanto riguarda il periodo di lunga conservazione, il contenuto di vitamina C è diminuito leggermente in entrambi i campioni senza tuttavia differenze

significative né tra i campioni né durante lo stoccaggio, in accordo con gli studi di Kalt *et al.*, (1999) e Haffner *et al.*, (2002).

### *Valutazione del contenuto in lieviti e muffe*

Durante l'esperimento non è stata osservata nessuna proliferazione fungina visibile. A 0 giorni, il conteggio delle muffe e dei lieviti è stato rispettivamente 3,7 e 3,1 log CFU g<sup>-1</sup> (Tabella 6). In questo studio, l'effetto dei trattamenti con gas di ClO<sub>2</sub> è stato evidente sulla crescita della muffa dopo 4 e 8 giorni di stoccaggio. Dopo 4 giorni di stoccaggio refrigerato, la riduzione delle muffe nei campioni CD era di 1,5 log CFU g<sup>-1</sup> e dopo 8 giorni di 1,8 log CFU g<sup>-1</sup>, rispetto al giorno 0. Il trattamento CD riduce anche il numero di lieviti da 3,1 CFU g<sup>-1</sup> a 2,8 log CFU g<sup>-1</sup> dopo 4 giorni e a 2,3 log CFU g<sup>-1</sup> dopo 8 giorni. Dopo 12 giorni, il livello di muffe e lieviti aumenta, probabilmente per la fine dell'effetto del *pad* di CD.

Per quanto riguarda i campioni di controllo, il numero delle muffe è diminuito dopo 4 giorni e aumentato dopo 8 e 12 giorni di stoccaggio a freddo. Per il conteggio dei lieviti sono stati osservati gli stessi risultati.

Questo risultato è in accordo con quelli riportati da Sun *et al.*, (2014) secondo cui il trattamento con ClO<sub>2</sub> ha ridotto in modo significativo la popolazione totale di batteri e lieviti durante la conservazione a 10 ° C.

## **CONCLUSIONI**

Il diossido di cloro è noto per essere un forte agente ossidante usato per decontaminare frutta e ortaggi minimamente lavorati efficace contro un gran numero di microrganismi. Il presente studio ha mostrato l'azione di ClO<sub>2</sub> contro il decadimento naturale dei frutti e la crescita di microrganismi e il suo effetto sulla qualità in due diverse condizioni di conservazione. In particolare, l'effetto del trattamento è stato positivo sulla riduzione della perdita di peso e sulla proliferazione microbica e non è stato, in generale, negativo sui parametri di qualità considerati. Dopo 12 giorni di conservazione, abbiamo osservato che l'efficacia del trattamento con diossido di cloro è stata limitata, probabilmente

perché i *pad* diffusori di gas erano esauriti. In conclusione, il trattamento applicato a base di clorina gassosa può essere idoneo a preservare la qualità post-raccolta durante un breve periodo di conservazione (3 giorni a 4 °C + 2 giorni a 20 °C) e fino a 8 giorni in un lunga conservazione a 2 °C. Inoltre, tale tecnologia può essere considerata come sanitizzante alternativo grazie all'azione positiva contro la proliferazione di lieviti e muffe senza dover effettuare lavaggi in acqua del prodotto.

## **BIBLIOGRAFIA**

Aday M.S., Caner C., The applications of 'active *packaging* and chlorine dioxide' for extended *shelf life* of fresh strawberries. *Packag. Technol. Sci.*, 2011, 24 (3), 123–136.

Aday M.S., Büyükcan M.B., Caner C., Maintaining the quality of strawberries by combined effect of aqueous chlorine dioxide with modified atmosphere *packaging*. *J Food Proc. Preserv.*, 2013, 37, 568-581.

Appendini P., Hotchkiss J.H., Review of antimicrobial food *packaging*. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 2002, 3, (2), 113–126.

Bonarska-Kujawa D., Sarapuk J., Bielecki K., Oszmiański J., Kleszczyńska H., Antioxidant activity of extracts from apple, chokeberry and strawberry. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2012, 62 (4) 229–234.

Cao S., Hu Z., Pang B., Optimization of postharvest ultrasonic treatment of strawberry fruit. *Post. Biol. Technol.*, 2010, 55, 3, 150–153.

Cheng G.W., Breen P.J., Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *J. Am. Soc. Hort. Sci.*, 1991, 116, 5, 865–869.

Chiabrando V., Giacalone G., Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity after fresh storage of blueberry treated with edible coatings. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 2015, 66, 248–253.

Colgecen I., Aday M.S., The efficacy of the combined use of chlorine dioxide and passive modified atmosphere *packaging* on sweet cherry quality. *Post. Biol. Technol.*, 2015, 109, 10–19.

Dervisi, P., Lamb, J., & Zabetakis, I., High pressure processing in jam manufacture: effects on textural and colour properties. *Food Chem.* 2001, 73, 1, 85–91.

Gomez-Lopez V. M., Rajkovic A., Ragaert P., Smigic N. and Devlieghere F., Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation: a review. *Trends. Food Sci. Technol.*, 2009, 20, 17–26

Gonzalez-Molina E., Moreno D. A., García-Viguera C., Genotype and harvest time influence the phytochemical quality of Fino lemon juice (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) for industrial use. *J. Agric. Food Chem.*, 2008, 56, 5, 1669–1675.

Guo Q., Lv X., Xu F., Zhang Y., Wang J., Lin H., Wu B., Chlorine dioxide treatment decreases respiration and ethylene synthesis in fresh-cut ‘Hami’melon fruit. *International J. Food Sci. Technol.*, 2013, 48, (9) 1775–1782.

Haffner K., Rosenfeld H. J., Skrede G., and Wang L., Quality of red raspberry *Rubus idaeus* L. cultivars after storage in controlled and normal atmospheres. *Postharvest Biol. Technol.*, 2002, 24 (3), 279-289

Han Y., Linton R.H., Nielsen S.S., Nelson P.E., Reduction of *Listeria monocytogenes* on green peppers (*Capsicum annuum* L.) by gaseous and aqueous chlorine dioxide and water washing and its growth at 7 °C. *J. Food Prot.*, 2001, 64, 1730–1738.

Hernandez-Munoz P., Almenar E, Valle V.D., Velez D., Gavara R. Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chem.*, 2008, 110, 428–435.

Kalt W., Forney C.F., Martin A., Prior R.L., Antioxidant capacity, vitamin C, phenolics and anthocyanins after fresh storage of small fruits. *J. Agric. Food Chem.*, 1999, 47, (11) 4638–4644.

Lopez-Gomez P.S., Palop F.A., Periago P.M, Martinez-Lopez A., Marin-Iniesta F., Barbosa-Canovas G.V., Food safety engineering: an emergent perspective. *Food Eng. Rev.*, 2009, 1, 84–104.

Maas J.L., Compendium of Strawberry Diseases, APS Press, 1998, pp 44–46.

Mahovic M.J., Tenney J.D., Bartz J.A. Applications of chlorine dioxide gas for control of bacterial soft rot in tomatoes. *Plant disease*, 2007, 91 (10) 1316–1320.

Mullen W., McGinn J., Lean M.E., MacLean M.R., Gardner P., Duthie G.G., Crozier A., Ellagitannins, flavonoids and other phenolics in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50 (18) 5191–5196.

Napolitano M.J., Green B.J., Nicoson J.S., & Margerum D.W., Chlorine dioxide oxidation of tyrosine, N-acetyltyrosine and dopa. *Chem. Res. Tox.*, 2005, 18 (3), 501-508

Orak, H.H., Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities of selected red grape cultivars and their correlations. *Sci. Hortic.*, 2007, 111 (3) 235–241.

Peano, C., Girgenti, V., Giuggioli, N., Change in quality and volatile constituents of strawberries (cv. Evie2) under MAP storage. *J. Food, Agric. Environ.*, 2014, 12 (2) 93–100.

Pellegrini N., Serafini M., Colombi B., Del Rio D., Salvatore S., Bianchi M., Brighenti F., Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J. Nutr.*, 2003, 133 (9) 2812–2819.

Prior R.L., Cao G., Martin A., Sofic E., McEwen J., O'Brien C., Mainlan C. M., Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin

content, maturity and variety of *Vaccinium* species. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, 46, 2686–2693.

Popa, I., Hanson, E. J., Todd, E. C., Schilder, A. C., Ryser, E. T., Efficacy of chlorine dioxide gas sachets for enhancing the microbiological quality and safety of blueberries. *J Food Prot.* 2007, 70 (9) 2084–2088.

Saengnil K., Chumyam A., Faiyue B., Uthaibutra J., Use of chlorine dioxide fumigation to alleviate enzymatic browning of harvested 'Daw' longan pericarp during storage under ambient conditions. *Post. Biol. Technol.*, 2014, 91, 49–56.

Sanchez-Moreno C., Plaza L., De Ancos B., Cano M. P., Quantitative bioactive compounds assessment and their relative contribution to the antioxidant capacity of commercial orange juices. *J. Sci. Food Agric.*, 2003, 83, 430-439.

Shin Y.J., Song H.Y., Song B.K., Effect of a combined treatment of rice bran protein film *packaging* with aqueous chlorine dioxide washing and ultraviolet-C irradiation on the postharvest quality of 'Goha' strawberries. *J. Food Engineer.*, 2012, 113, 374-379.

Sun X., Bai J., Ference C., Wang Z., Zhang Y., Narciso J., Zhou K., Antimicrobial activity of controlled-release chlorine dioxide gas on fresh blueberries. *J. Food Protect.*, 2014, 77, 1127–1132.

Sy K.V., McWatters, K.H., Beuchat, L.R., Efficacy of gaseous chlorine dioxide as a sanitizer for killing *Salmonella*, yeasts, and molds on blueberries, strawberries, and raspberries. *J. Food Prot.*, 2005a, 68 (6) 1165–1175.

Sy K.V., Murray M.B., Harrison M.D., Beuchat L.R., Evaluation of gaseous chlorine dioxide as a sanitizer for killing *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and yeasts and molds on fresh and fresh-cut produce. *J. Food Prot.*, 2005b, 68 (6) 1176–1187.

Vanderzant C., Splittstoesser D.F., Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. Splittstoesser Eds., 1992, Washington, DC.



- Vargas M., Albors A., Chiralt A., González-Martínez C., Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan–oleic acid edible coatings *Post. Biol. Technol.*, 2006, 41 (2) 164–171.
- Wang Y., Wu J., Ma D., Ding J., Preparation of a cross-linked gelatin/bacteriorhodopsin film and its photochromic properties. *Sci. China Chem.*, 2011, 54,(2) 405–409.
- Waterhouse A.L., Polyphenolics: Determination of total phenolics. 2002. *in: Current protocols in food analytical chemistry*, (ed. R.E. Wrolstad). John Wiley & Sons, New York, U.S.A., pp. I1.1.1–I1.1.8.
- Wu B., Guo Q., Wang G., Peng W., Wang J., Che F., Effects of different postharvest treatments on the physiology and quality of ‘Xiaobai’ apricots at room temperature. *J. Food Sci. Technol.*, 2015, 52 (4) 2247–2255.
- Zhanga L., Yan Z., Hanson E.J., Ryser E.T., Efficacy of chlorine dioxide gas and freezing rate on the microbiological quality of frozen blueberries. *Food Control*, 2015, 47, 114–119.
- Zhong M., Wu B., Wang J., Wu J., Wei L., Effect of chlorine dioxide on ripening of ‘Xiaobai’ apricots. *Eur. Food Res. Technol.*, 2006, 223, 791–795.

## TABELLE E FIGURE

Tabella 1. Effetto del trattamento di ClO<sub>2</sub> sulla perdita di peso (%) durante conservazione lunga e corta.

| Perdita di peso (%) | Tempo di conservazione   |                          |                           |                           |                           |
|---------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                     | Conservazione breve      |                          | Conservazione lunga       |                           |                           |
| Trattamento         | 3                        | 3+2                      | 4                         | 8                         | 12                        |
| Controllo           | 0.12 ± 0.08 <sup>a</sup> | 1.00 ± 0.17 <sup>a</sup> | 0.27 ± 0.13 <sup>aC</sup> | 1.37 ± 0.17 <sup>aB</sup> | 1.97 ± 0.32 <sup>aA</sup> |
| Chlorine dioxide    | 0.13 ± 0.07 <sup>a</sup> | 1.54 ± 2.15 <sup>a</sup> | 0.16 ± 0.06 <sup>aC</sup> | 1.18 ± 0.23 <sup>bB</sup> | 1.62 ± 0.16 <sup>bA</sup> |

a-b Medie nella stessa colonna con lettere differenti sono statisticamente differenti (p ≤ 0.05)

A-B Medie nella stessa riga con lettere differenti sono statisticamente differenti (p ≤ 0.05)

Tabella 2. Effetto del trattamento ClO<sub>2</sub> sul colore (L\*, h°, a\* e b\*) durante breve e lungo periodo di conservazione.

|                  |                   | Tempo di conservazione (giorni) |                            |                           |                             |                             |                             |                             |  |
|------------------|-------------------|---------------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--|
|                  |                   | Conservazione breve             |                            |                           | Conservazione lunga         |                             |                             |                             |  |
| Parametro colore | Trattamento       | 0                               | 3                          | 3+2                       | 0                           | 4                           | 8                           | 12                          |  |
| L*               | Controllo         | 32.74 ± 3.04 <sup>aA</sup>      | 33.4 ± 3.06 <sup>aA</sup>  | 33.83 ± 3.58 <sup>a</sup> | 32.74 ± 3.04 <sup>aA</sup>  | 34.29 ± 3.63 <sup>aA</sup>  | 33.75 ± 2.94 <sup>aA</sup>  | 34.02 ± 3.96 <sup>aA</sup>  |  |
|                  | Diossido di cloro | 32.74 ± 3.05 <sup>aB</sup>      | 34.75 ± 3.59 <sup>aA</sup> | 35.53 ± 3.24 <sup>a</sup> | 32.74 ± 3.05 <sup>aA</sup>  | 33.07 ± 2.89 <sup>aA</sup>  | 34.48 ± 2.89 <sup>aA</sup>  | 33.68 ± 3.86 <sup>aA</sup>  |  |
| h°               | Controllo         | 33.30 ± 4.49 <sup>aA</sup>      | 32.67 ± 4.87 <sup>aB</sup> | 30.18 ± 4.20 <sup>a</sup> | 33.30 ± 4.49 <sup>aA</sup>  | 31.35 ± 4.68 <sup>aA</sup>  | 31.10 ± 4.03 <sup>bA</sup>  | 32.57 ± 4.91 <sup>aA</sup>  |  |
|                  | Diossido di cloro | 33.30 ± 4.49 <sup>aA</sup>      | 33.80 ± 5.18 <sup>aA</sup> | 29.70 ± 4.61 <sup>a</sup> | 33.30 ± 4.49 <sup>aA</sup>  | 30.90 ± 3.58 <sup>aA</sup>  | 31.42 ± 3.65 <sup>aA</sup>  | 32.26 ± 5.75 <sup>aA</sup>  |  |
| a*               | Controllo         | 35.79 ± 2.39 <sup>aA</sup>      | 36.27 ± 2.87 <sup>aA</sup> | 33.27 ± 5.39 <sup>a</sup> | 35.79 ± 2.39 <sup>aA</sup>  | 34.35 ± 3.27 <sup>aAB</sup> | 34.04 ± 3.03 <sup>aAB</sup> | 33.78 ± 3.05 <sup>aB</sup>  |  |
|                  | Diossido di cloro | 35.79 ± 2.39 <sup>aA</sup>      | 34.44 ± 3.42 <sup>bA</sup> | 31.38 ± 5.02 <sup>a</sup> | 35.79 ± 2.39 <sup>aAB</sup> | 36.03 ± 3.31 <sup>aA</sup>  | 33.80 ± 3.29 <sup>aBC</sup> | 33.30 ± 3.98 <sup>aC</sup>  |  |
| b*               | Controllo         | 23.67 ± 4.02 <sup>aA</sup>      | 23.46 ± 4.52 <sup>aA</sup> | 19.8 ± 5.80 <sup>a</sup>  | 23.67 ± 4.02 <sup>aA</sup>  | 21.1 ± 4.06 <sup>aB</sup>   | 20.66 ± 3.50 <sup>aB</sup>  | 21.64 ± 3.63 <sup>aAB</sup> |  |
|                  | Diossido di cloro | 23.67 ± 4.02 <sup>aA</sup>      | 23.17 ± 4.25 <sup>aA</sup> | 18.39 ± 5.54 <sup>a</sup> | 23.67 ± 4.02 <sup>aA</sup>  | 21.76 ± 4.07 <sup>aA</sup>  | 20.84 ± 4.18 <sup>aA</sup>  | 21.32 ± 5.52 <sup>aA</sup>  |  |

a-b Medie nella stessa colonna con lettere differenti sono statisticamente differenti (p ≤ 0.05)

A-B Medie nella stessa riga con lettere differenti sono statisticamente differenti (p ≤ 0.05)

Tabella 3. Indice di analisi sensoriale dei campioni di fragile durante breve e lungo periodo di conservazione (giorni).

| Trattamento       | Tempo di conservazione (giorni) |      |      |                     |      |      |      |
|-------------------|---------------------------------|------|------|---------------------|------|------|------|
|                   | Conservazione breve             |      |      | Conservazione lunga |      |      |      |
|                   | 0                               | 3    | 3+2  | 0                   | 4    | 8    | 12   |
| Controllo         | 39.0                            | 38.0 | 36.0 | 39.0                | 37.0 | 32.0 | 29.5 |
| Diossido di cloro | 39.0                            | 38.0 | 36.0 | 39.0                | 37.0 | 28.0 | 26.5 |

Tabella 4. Effetto del trattamento con Diossido di cloro sul contenuto dei solidi solubili (°Brix), acidità titolabile (meq/L) e pH durante conservazione lunga e breve (giorni).

| Parametri di qualità   |                   | Tempo di conservazione (giorni) |                              |                             |                               |                             |                              |                             |
|------------------------|-------------------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|
|                        |                   | Conservazione breve             |                              |                             | Conservazione lunga           |                             |                              |                             |
| Trattamento            |                   | 0                               | 3                            | 3+2                         | 0                             | 4                           | 8                            | 12                          |
| <b>TSSC</b><br>(°Brix) | Controllo         | 7.1 ± 0.1 <sup>aB</sup>         | 7.3 ± 0.5 <sup>aA</sup>      | 7.4 ± 0.1 <sup>a</sup>      | 7.1 ± 0.1 <sup>aAB</sup>      | 6.73 ± 0.1 <sup>bB</sup>    | 7.8 ± 0.7 <sup>aA</sup>      | 6.4 ± 0.4 <sup>bB</sup>     |
|                        | Diossido di cloro | 7.1 ± 0.1 <sup>aA</sup>         | 6.5 ± 0.2 <sup>aB</sup>      | 7.3 ± 0.1 <sup>a</sup>      | 7.1 ± 0.1 <sup>aB</sup>       | 7.63 ± 0.1 <sup>aA</sup>    | 7.0 ± 0.4 <sup>aB</sup>      | 7.3 ± 0.0 <sup>aAB</sup>    |
| <b>TA</b><br>meq/L     | Controllo         | 159.77 ± 11.66 <sup>aA</sup>    | 148.18 ± 22.78 <sup>aB</sup> | 172.65 ± 6.67 <sup>a</sup>  | 159.77 ± 11.66 <sup>aAB</sup> | 147.17 ± 3.51 <sup>aB</sup> | 175.11 ± 11.73 <sup>aA</sup> | 176.94 ± 3.09 <sup>aA</sup> |
|                        | Diossido di cloro | 159.77 ± 11.66 <sup>aA</sup>    | 147.95 ± 11.36 <sup>aB</sup> | 195.94 ± 17.24 <sup>a</sup> | 159.77 ± 11.66 <sup>aA</sup>  | 157.17 ± 5.66 <sup>aA</sup> | 165.17 ± 21.08 <sup>aA</sup> | 162.07 ± 8.01 <sup>bA</sup> |
| <b>pH</b>              | Controllo         | 3.29 ± 0.02 <sup>aA</sup>       | 3.40 ± 0.07 <sup>aA</sup>    | 3.35 ± 0.02 <sup>a</sup>    | 3.29 ± 0.02 <sup>aA</sup>     | 3.24 ± 0.06 <sup>aA</sup>   | 3.30 ± 0.01 <sup>aA</sup>    | 3.30 ± 0.03 <sup>bA</sup>   |
|                        | Diossido di cloro | 3.29 ± 0.02 <sup>aA</sup>       | 3.35 ± 0.04 <sup>aA</sup>    | 3.28 ± 0.03 <sup>b</sup>    | 3.29 ± 0.02 <sup>aB</sup>     | 3.24 ± 0.03 <sup>aB</sup>   | 3.27 ± 0.05 <sup>aB</sup>    | 3.39 ± 0.04 <sup>aA</sup>   |

a-b Medie nella stessa colonna con lettere differenti sono statisticamente differenti ( $p \leq 0.05$ )

A-B Medie nella stessa riga con lettere differenti sono statisticamente differenti ( $p \leq 0.05$ )

Tabella 5. Effetto del trattamento con Diossido di cloro sul contenuto totale di antociani, femoli totali, capacità antiossidante e vitamina C durante breve e lungo periodo di conservazione.

| aa   | Trattamento       | Tempo di conservazione (giorni) |                              |                             |                              |                              |                              |                              |  |
|--|-------------------|---------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|--|
|  |                   | Conservazione breve             |                              |                             | Conservazione lunga          |                              |                              |                              |  |
|  |                   | 0                               | 3                            | 3+2                         | 0                            | 4                            | 8                            | 12                           |  |
| <b>Antociani totali</b>                        | Controllo         | 24.85 ± 5.81 <sup>aA</sup>      | 21.30 ± 2.01 <sup>aB</sup>   | 24.09 ± 11.09 <sup>a</sup>  | 24.85 ± 0.51 <sup>aA</sup>   | 21.05 ± 0.88 <sup>aAB</sup>  | 20.04 ± 2.65 <sup>aAB</sup>  | 17.75 ± 2.20 <sup>aB</sup>   |  |
| mg cianidina 3-gluc*100 g <sup>-1</sup>        | Diossido di cloro | 24.85 ± 5.81 <sup>aA</sup>      | 21.60 ± 7.26 <sup>aB</sup>   | 24.85 ± 3.90 <sup>a</sup>   | 24.85 ± 0.51 <sup>aA</sup>   | 25.11 ± 2.64 <sup>aA</sup>   | 19.27 ± 1.58 <sup>aB</sup>   | 14.71 ± 6.47 <sup>aB</sup>   |  |
| <b>Polifenoli totali</b>                       | Controllo         | 195.70 ± 16.55 <sup>aA</sup>    | 185.58 ± 9.53 <sup>aB</sup>  | 224.46 ± 15.29 <sup>a</sup> | 195.70 ± 16.55 <sup>aA</sup> | 196.06 ± 17.89 <sup>aA</sup> | 219.80 ± 18.09 <sup>aA</sup> | 190.15 ± 17.56 <sup>aA</sup> |  |
| mg acido gallico eq. (GAE)*100 g <sup>-1</sup> | Diossido di cloro | 195.70 ± 16.55 <sup>aA</sup>    | 184.50 ± 29.61 <sup>aB</sup> | 189.25 ± 6.96 <sup>b</sup>  | 195.70 ± 16.55 <sup>aA</sup> | 166.49 ± 12.17 <sup>aA</sup> | 224.46 ± 16.10 <sup>aA</sup> | 202.33 ± 21.65 <sup>aA</sup> |  |
| <b>Capacità antiossidante</b>                  | Controllo         | 30.31 ± 0.59 <sup>aA</sup>      | 30.11 ± 1.65 <sup>aA</sup>   | 29.75 ± 1.88 <sup>a</sup>   | 30.31 ± 0.59 <sup>aA</sup>   | 30.90 ± 0.65 <sup>aA</sup>   | 30.11 ± 2.79 <sup>aA</sup>   | 30.93 ± 2.51 <sup>aA</sup>   |  |
| mmol Fe <sup>2+</sup> *kg <sup>-1</sup>        | Diossido di cloro | 30.31 ± 0.59 <sup>aA</sup>      | 30.01 ± 1.83 <sup>aA</sup>   | 30.76 ± 1.11 <sup>a</sup>   | 30.31 ± 0.59 <sup>aA</sup>   | 30.86 ± 0.71 <sup>aA</sup>   | 30.31 ± 2.44 <sup>aA</sup>   | 29.19 ± 1.34 <sup>aA</sup>   |  |
| <b>Vitamina C</b>                              | Controllo         | 41.03 ± 2.25 <sup>aA</sup>      | 41.59 ± 1.12 <sup>aA</sup>   | 32.57 ± 2.27 <sup>a</sup>   | 41.03 ± 2.25 <sup>aA</sup>   | 38.74 ± 0.86 <sup>aA</sup>   | 37.20 ± 8.34 <sup>aA</sup>   | 39.59 ± 3.30 <sup>aA</sup>   |  |
| mg Vit C* 100 g <sup>-1</sup>                  | Diossido di cloro | 41.03 ± 2.25 <sup>aA</sup>      | 40.16 ± 2.30 <sup>aA</sup>   | 33.82 ± 0.28 <sup>a</sup>   | 41.03 ± 2.25 <sup>aA</sup>   | 37.63 ± 2.72 <sup>aA</sup>   | 36.83 ± 3.49 <sup>aA</sup>   | 39.86 ± 2.16 <sup>aA</sup>   |  |

a-b Mean in the same column with different letters are significantly different ( $p \leq 0.05$ )

A-B Mean in the same row with different letters are significantly different ( $p \leq 0.05$ )

Tabella 6 . Effetto del trattamento con Diossido di cloro su muffe e lieviti durante periodo di lunga conservazione (giorni).

|                         |                   | Tempo di conservazione (giorni) |                        |                        |                        |
|-------------------------|-------------------|---------------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Trattamento             |                   | 0                               | 4                      | 8                      | 12                     |
| Muffe                   | Controllo         | 3.7±0.21 <sup>aB</sup>          | 3.1±0.34 <sup>aB</sup> | 4.4±0.51 <sup>aA</sup> | 4.4±0.42 <sup>aA</sup> |
| Log CFU g <sup>-1</sup> | Diossido di cloro | 3.7±0.21 <sup>aA</sup>          | 2.3±0.25 <sup>bB</sup> | 1.9±0.12 <sup>bB</sup> | 3.8±0.33 <sup>bA</sup> |
| Lieviti                 | Controllo         | 3.1±0.22 <sup>aB</sup>          | 2.6±0.15 <sup>aB</sup> | 4.0±0.12 <sup>aA</sup> | 4.4±0.34 <sup>aA</sup> |
| Log CFU g <sup>-1</sup> | Diossido di cloro | 3.1±0.22 <sup>aB</sup>          | 2.8±0.16 <sup>aB</sup> | 2.3±0.25 <sup>bB</sup> | 4.8±0.31 <sup>aA</sup> |

### **3.Valutazione dell'efficacia di trattamenti a base di oli essenziali sulla conservazione di frutta in celle frigorifere**

In condizioni naturali tutti i vegetali sono sottoposti a condizioni di stress ambientale. Tale stress causa all'interno della pianta una modulazione del metabolismo secondario e la produzione di sostanze, come terpeni e sostanze antiossidanti, per rispondere a questa condizione. I metaboliti secondari sono composti che si originano da precursori del metabolismo primario, sintetizzati in piccole quantità rispetto a questi e, contrariamente a loro, tendono ad essere sintetizzati da cellule specializzate in un determinato stadio di sviluppo. In particolare questi composti, fra cui quelli chiamati comunemente oli essenziali, iniziano generalmente ad essere prodotti nei tessuti verdi della pianta fin dai primi stadi di sviluppo della stessa e continuano ad accumularsi fino alla fioritura; dopo quest'ultima il processo rallenta progressivamente senza mai fermarsi del tutto. La differente concentrazione di tali sostanze, appartenenti soprattutto alla classe dei terpeni e dei fenoli, è unica per ciascuna specie vegetale e si accumula, all'interno dei tessuti, in particolari strutture. Ad esempio nelle specie appartenenti alla famiglia delle labiate queste sostanze si accumulano nei tricomi ghiandolari, presenti principalmente nelle foglie; all'interno di questi tessuti ghiandolari gli oli essenziali sono contenuti nei vacuoli e si trasferiscono, per diffusione, dalle foglie agli steli. Inoltre, in funzione della specie vegetale, però, gli oli essenziali si possono localizzare in diverse parti della pianta (fiori, frutti, semi, steli, radici ...) come per esempio nelle foglie (*Salvia officinalis* L., Lamiaceae), nei fiori (*Rosa* spp., Rosaceae), nei frutti (*Citrus aurantium* L. var. *dulcis* L., Rutaceae), nei semi (*Prunus amygdalus* Stok. var. *amara* Focke, Rosaceae) (Licciardello, 2012).

E' stato osservato che, in relazione all'ambiente, vi sono modifiche della composizione degli oli essenziali e della localizzazione all'interno delle parti



della pianta per migliorare le capacità di adattamento. Questo tipo di risposta fisiologica viene attuata poiché sono sostanze che vengono utilizzate come protezione contro piante e animali nocivi, repellenza o attrazione per gli insetti impollinatori, e possono essere altamente tossiche nei confronti di funghi, batteri e insetti (Taiz *et al.*, 2015).

Dal punto di vista chimico gli oli essenziali sono miscele complesse di composti organici volatili che possono comprendere più di 60 composti (Senatore 1996, Russo *et al.*, 1998) e che è possibile dividere in due gruppi (McMurry, 2005):

- Composti idrocarburi alifatici, aromatici e terpenici (alcani, alcheni, composti aromatici e terpenici come mono, sesqui e diterpenici).
- Composti alcoli, aldeidi, chetoni, acidi, eteri, fenoli,.. (delle serie alifatiche, aromatiche e terpeniche).

E' stato teorizzato che i composti maggiormente responsabili dell'azione antibatterica siano i composti fenolici ed in particolare il carvacrolo e il timolo, presenti in molti oli essenziali (Licciardello, 2012).

Rispetto alla loro scoperta e al loro utilizzo da parte dell'uomo, sono stati trovati reperti risalenti all'antichità: Guenther (1984), infatti, riscontrò l'utilizzo di oli essenziali in epoca romana, greca ed egiziana e individuò un metodo di distillazione molto rudimentale ma estremamente efficace per la loro estrazione risalente a 2000 anni fa. A partire dal XIII secolo le conoscenze sugli oli essenziali si svilupparono rapidamente, soprattutto per la produzione di profumi, medicinali e aromi. Solo a partire dal XIX e XX secolo il loro utilizzo in campo farmaceutico è stato progressivamente ridotto e sostituito dai prodotti di origine sintetica (Van de Braak e Leijten, 1999).

Negli ultimi anni è aumentato notevolmente l'interesse nei confronti di queste sostanze, in quanto ne sono state dimostrate le proprietà antibatteriche (Boatto *et al.*, 1994; Panizzi *et al.*, 1993), antivirali (Sivropoulou *et al.*, 1997) e

antifungine (Kumar *et al.*, 2008) soprattutto nei confronti dei microrganismi degli alimenti (Smitt Palmer , 1998; Tassou et al.*et al.*, 1995; Angelini *et al.*, 2006). Tale attenzione è stata incentivata, inoltre, dalla recente concentrazione dell'Unione Europea sulle sostanze ammesse in campo alimentare e sulla restrizione dei prodotti di sintesi.

Rispetto al meccanismo d'azione antibatterica, cioè il meccanismo con cui viene raggiunto l'effetto sui microrganismi, lo studio degli oli essenziali ha presentato notevoli difficoltà a causa del grande numero di sostanze presenti all'interno delle miscele di oli essenziali e alla loro azione sulle singole cellule microbiche. Attualmente la tesi maggiormente condivisa è legata ad una attività sulla membrana cellulare. Infatti la caratteristica idrofobicità degli oli essenziali ha effetto sulla membrana cellulare, ricca di lipidi, di batteri e dei mitocondri. Tale affinità idrofobica rende la membrana cellulare permeabile a questi composti e causa un disturbo alla permeabilità stessa della struttura cellulare (Burt, 2004). I composti presenti all'interno degli oli sembrerebbero provocare lesioni alla membrana e impedire l'uscita di sostanze ricche di composti fenolici, come carvacrolo, eugenolo e timolo (Farag *et al.*, 1989; Dorman e Deans, 2000; Juliano *et al.* 2000; Lambert *et al.*, 2001) potenzialmente tossiche, che si accumulano nella cellula (Denyer e Hugo, 1991; Gustafson *et al.*, 1998).

Al contempo è stato ipotizzato che maggiore è il numero di componenti che formano l'olio essenziale, maggiore è l'attività antagonistica sui batteri (Gill *et al.*, 2002; Mourey e Canillac, 2002) in quanto è stata osservata un'azione sinergica tra i diversi composti presenti.

Infine, rispetto alla loro tossicità, gli oli essenziali possono causare diverse conseguenze nell'organismo umano ad alti livelli di esposizione (Kumar *et al.*, 2008). D'altro canto a bassi livelli gli oli essenziali non hanno mostrato tossicità nei confronti della salute umana anche per periodi lunghi di esposizione (tossicità cronica) (Licciardello, 2012). Tali risultati hanno incoraggiato l'utilizzo degli oli essenziali in campo alimentare dove sono

impiegati comunemente come additivi alimentari. Il basso livello di tossicità a basse dosi, il loro alto potere antimicrobico nei confronti dei microrganismi degli alimenti e l'alta accettazione da parte del consumatore di un prodotto di origine "naturale" hanno orientato la ricerca scientifica nell'uso di questi prodotti per la sicurezza alimentare.

I lavori presentati nel seguente capitolo sono le traduzioni degli articoli:

Maghenzani M., Santoro K., Chiabrando V., Bosio P., Gullino M.L., Spadaro D., Giacalone G. (2018). Thyme and savory essential oil vapor treatments improve increase the storage quality of peaches and nectarines and controls brown rot, but favor grey mold. *Foods*, 7(1).

Chiabrando V., Maghenzani M., Santoro K., Spadaro D., Giacalone G., Essential Oil Vapor treatment (*Thymus vulgaris* and *Satureja montana*) on postharvest quality of sweet cherry (cv Ferrovia) *Journal of food and nutrition Research*

## **BIBLIOGRAFIA**

Angelini, P., Pagiotti, R., Menghini, A., & Vianello, B. (2006). Antimicrobial activities of various essential oils against foodborne pathogenic or spoilage moulds. *Annals of microbiology*, 56(1), 65-69.

Boatto, G., Gpintore, G. P., Mpalomba, M. P., Simone, F. D., Eramundo, E. R., & Ciodice, C. I. (1994). Composition and antibacterial activity of *Inula helenium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Fitoterapia*, 65, 279-280.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

Denyer, S. P., & Hugo, W. B. (1991). Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. In S. P. Denyer & W. B. Hugo (Eds.), *Mechanisms of*

- action of chemical biocides: Their study and exploitation (pp. 171–188). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
- Farag, R. S., Daw, Z. Y., & Abo-Raya, S. H. (1989). Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *Journal of Food Science*, 54(1), 74-76.
- Gill, A. O., Delaquis, P., Russo, P., & Holley, R. A. (2002). Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International journal of food microbiology*, 73(1), 83-92.
- Gustafson, J. E., Liew, Y. C., Chew, S., Markham, J., Bell, H. C., Wyllie, S. G., & Warmington, J. R. (1998). Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in applied microbiology*, 26(3), 194-198.
- Guenther, E. (1948). The essential oils, volume I.
- Juliano, C., Mattana, A., & Usai, M. (2000). Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia. *Journal of Essential Oil Research*, 12(4), 516-522.
- Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Prasad, C. S., & Dubey, N. K. (2008). Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 575-580.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology*, 91(3), 453-462.
- Licciardello, F. (2012). Nuove prospettive di impiego di oli essenziali per la salvaguardia di prodotti alimentari confezionati.
- McMurry, J. E. (2015). *Organic chemistry*. Cengage Learning.

- Mourey, A., & Canillac, N. (2002). Anti-*Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. *Food Control*, 13(4), 289-292.
- Russo, M., Galletti, G. C., Bocchini, P., & Carnacini, A. (1998). Essential Oil Chemical Composition of Wild Populations of Italian Oregano Spice (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart): A Preliminary Evaluation of Their Use in Chemotaxonomy by Cluster Analysis. 1. Inflorescences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(9), 3741-3746.
- Senatore, F. (1996). Influence of harvesting time on yield and composition of the essential oil of a thyme (*Thymus pulegioides* L.) growing wild in Campania (Southern Italy). *Journal of Agricultural and food chemistry*, 44(5), 1327-1332.
- Sivropoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lanaras, T., & Arsenakis, M. (1997). Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *Salvia fruticosa* essential oil. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 45(8), 3197-3201.
- Smith-Palmer, A., Stewart, J., & Fyfe, L. (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in applied microbiology*, 26(2), 118-122.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2015). *Plant physiology and development*. Sinauer Associates, Incorporated.
- Tassou, C. C., Drosinos, E. H., & Nychas, G. J. E. (1995). Effects of essential oil from mint (*Mentha piperita*) on *Salmonella enteritidis* and *Listeria monocytogenes* in model food systems at 4 and 10 C. *Journal of Applied Bacteriology*, 78(6), 593-600.
- Van de Braak, S.A.A.J., Leijten, G.C.J.J., 1999. Essential oils and oleoresins: a survey in The Netherlands and other major markets in the European Union. CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam. p. 116.



# **Il trattamento con vapori di oli essenziali di timo e santoreggia controlla il marciume bruno e migliora la qualità della conservazione delle pesche e delle nettarine ma potrebbe favorire la muffa grigia**

## **SOMMARIO**

*E' stato valutato l'effetto della biofumigazione, attraverso diffusori a lento rilascio, di oli essenziali (EO) di timo e santoreggia, sul controllo delle patologie e sulla qualità delle pesche e delle nettarine in fase post raccolta. La fumigazione EO è stata efficace nel controllo dei marciumi post raccolta. Le pesche e le nettarine, naturalmente contaminate, sono state esposte ai vapori EO per 28 giorni a 0 °C in cabinets di conservazione sigillati e poi per simulare la fase di vendita sono state poste in atmosfera normale a 20 °C per 5 giorni (shelf life).*

*Con una bassa presenza della malattia, la maggior parte dei trattamenti ha ridotto significativamente l'incidenza del marciume durante la shelf-life, mentre, con alta presenza della malattia, solo i vapori di olio essenziale di timo alla massima concentrazione testata (10% v / v nel diffusore) hanno ridotto significativamente i marciumi. L'applicazione di oli essenziali di timo e santoreggia ha favorito una riduzione dell'incidenza di marciume bruno, causata da *Monilinia fructicola*, ma ha aumentato la muffa grigia, causata da *Botrytis cinerea*. Test in vitro hanno confermato che *M. fructicola* risulta essere più sensibile ai vapori di EO rispetto a *B. cinerea*. I componenti volatili antifungini degli oli essenziali sono stati caratterizzati nelle celle di stoccaggio durante la fase post raccolta.*

*Questi sono aumentati durante la conservazione, ma erano comunque una bassa percentuale dei composti organici volatili presenti nei cabinet di*

conservazione. I vapori di EO non hanno influenzato negativamente la qualità complessiva del frutto, ma hanno mostrato un effetto positivo nel ridurre la perdita di peso e nel mantenere costante il contenuto di acido ascorbico e di carotenoidi. L'applicazione di vapori d oli essenziali di timo e santoreggia rappresenta uno strumento promettente per ridurre le perdite post-raccolta e per preservare la qualità delle pesche e delle nettarine.

## INTRODUZIONE

Le pesche e le nettarine (*Prunus persica* (L.) Batsch) sono frutti ricchi di vitamine, fibre e altri composti fitochimici come carotenoidi e polifenoli, importanti per una dieta sana (Di Vaio *et al.*, 2008; Gil *et al.*, 2002). Le pesche vengono consumate in tutto il mondo e rappresentano uno dei frutti più importante e diffusi. Negli ultimi anni la produzione di pesche e nettarine è cresciuta progressivamente (Munera *et al.*, 2017) e il principale produttore mondiale è la Cina con oltre 12 milioni di tonnellate, seguita da Spagna e Italia che producono 3 milioni di tonnellate l'anno (Food and Agricultural organisation of USA, 2017). Le pesche e le nettarine sono la terza produzione frutticola nell'Unione Europea dopo le mele e le pere (Garcia-Parra *et al.*, 2011). Durante lo stoccaggio, le caratteristiche di qualità e alcuni parametri commerciali di questi frutti possono diminuire, con una velocità dipendente dalle condizioni di stoccaggio, a causa delle malattie post raccolta e dei processi di senescenza. (Peano *et al.*, 2000) I più comuni patogeni post raccolta su drupacee sono *Monilinia* spp. (*M. fructigena* Honey, *M. fructicola* (G.Winter) Honey e *M. laxa* (Aderh & Ruhland) Honey), agenti di marciume bruno (*brown rot*), *Botrytis cinerea* Pers. agente di muffa grigia (*grey mold*), *Penicillium expansum* Link, agente di muffa blu (*blue mold*), *Alternaria* spp., agente di muffa nera (*black mold*) e *Rhizopus stolonifera*, Ehrenb., agente di marciume Rhizopus (*Rhizopus rot*) (Karabulut *et al.*, 2002; Zhang *et al.*, 2007). Sulle pesche, la perdita post raccolta può causare un danno maggiore



che le malattie in fase di pre raccolta (Larena *et al.*, 2005). La protezione delle colture in Europa deve essere eseguita nel frutteto perché solo un fungicida (fludioxonil) può essere utilizzato sulle drupacee dopo la raccolta e i canali di vendita al dettaglio in genere, richiedono che non vengano effettuati ulteriori trattamenti post raccolta e un basso numero di principi attivi, come residui, sul frutto. L'ultimo trattamento con fungicida deve essere applicato 1 o 2 settimane prima della raccolta, secondo il principio attivo, per garantire un elevato livello di protezione della frutta dagli agenti patogeni durante la conservazione e occorre osservare i limiti massimi di residui imposti dalla legislazione europea (Spadoni *et al.*, 2016). Inoltre, il consumatore è attento alle pratiche di produzione rispettose dell'ambiente, preferendo alimenti trattati con prodotti naturali, anziché pesticidi convenzionali (Cindi *et al.*, 2015). Attualmente, il controllo di *Monilinia* spp. dipende da una strategia integrata basata sui programmi di trattamento con fungicidi nei frutteti e il mantenimento delle adeguate condizioni di stoccaggio nel magazzino e durante la distribuzione (Spadoni *et al.*, 2016). Gli sforzi della ricerca, quindi, si concentrano sullo sviluppo di strategie innovative, non convenzionali e sostenibili per preservare la qualità della frutta e ridurre le perdite di cibo. Uno degli approcci più promettenti è lo sfruttamento di microrganismi e prodotti naturali con proprietà antimicrobiche intrinseche (Mari *et al.*, 2016; Spadaro *et al.*, 2008). Gli oli essenziali (EO) rappresentano un potente strumento per ridurre gli impatti ambientali della produzione e della protezione della frutta (Burt, 2004). L'efficacia degli EO vegetali è stata ampiamente valutata *in vitro* (Bakkali *et al.*, 2008), ma solo pochi studi sono stati eseguiti *in vivo* (Lopez Reyes *et al.*, 2013). Tuttavia, i trattamenti possono modificare le caratteristiche organolettiche dei frutti, alterando il sapore o gli aromi durante la conservazione post raccolta.

L'attività antifungina degli EO è determinata dalla loro composizione chimica. In particolare, aldeidi, fenoli e chetoni inibiscono notevolmente la crescita degli agenti patogeni. Timolo, carvacrolo e p-anisaldeide hanno un'attività

fungicida comprovata ed EO ricchi di questi componenti hanno dimostrato di avere la più alta attività inibitoria contro molti agenti patogeni post raccolta, come *Penicillium digitatum* (Daferera *et al.*, 2000), *Colletotrichum gloeosporioides* (Barrera Nacha *et al.*, 2008) e *R. stolonifer* (Spadaro *et al.*, 2014). EO di *Thymus vulgaris* e *Satureja montana* sono principalmente composti da timolo e carvacrolo (Lopez Reyes *et al.*, 2010), che sono molto efficaci nel controllo dei patogeni fungini. In generale, l'efficacia degli EO è stata indagata attraverso il contatto diretto dei prodotti con i frutti, applicandoli mediante spruzzatura o immersione (Elshafie e Camele, 2016). Tuttavia, questi metodi di applicazione mostrano alcuni inconvenienti, tra cui la fitotossicità e la modifica di tratti organolettici dei frutti trattati. Solo pochi studi hanno riportato l'efficacia dei trattamenti EO attraverso la biofumigazione, concentrandosi su aspetti fitopatologici (Mehra *et al.*, 2005). La ricerca scientifica ha recentemente iniziato a prestare particolare attenzione alla valutazione dell'attività antifungina dei vapori EO (Plaza *et al.*, 2004; Ziedan e Farrag., 2008). La fumigazione con EO di timo e santoreggia ha portato a un controllo efficace di diversi patogeni post-raccolta e ha mostrato attività antifungina contro *Colletotrichum* (Sarkhosh *et al.*, 2017), *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* e *Trichoderma* spp. (Segvic Klaric *et al.*, 2007). L'uso di EO tramite biofumigazione evita il contatto diretto con il prodotto, limitando la possibilità di influenzare il profilo sensoriale.

Lo scopo di questo studio è stato quello di indagare gli effetti di *T. vulgaris* e *S. montana* somministrati mediante biofumigazione con diffusori a lento rilascio, sia sui parametri di qualità sia sulle malattie post raccolta delle pesche e delle nettarine durante la frigoconservazione e durante la *shelf life*. I diffusori di timo e santoreggia sono stati preparati a due diverse concentrazioni e sono stati utilizzati per trattare le pesche e le nettarine naturalmente inoculate. Al fine di chiarire come gli oli essenziali si diffondono e persistono nelle celle frigorifere, la composizione dell'atmosfera dei cabinets di conservazione è stata analizzata durante la conservazione refrigerata. Allo stesso tempo,

l'attività antimicrobica dei vapori di oli essenziali è stata valutata in vitro sulla germinazione conidica di *M. fructicola* e *B. cinerea*, due dei principali patogeni post raccolta di pesche e nettarine.

## **MATERIALI E METODI**

Gli EO di timo (*Thymus vulgaris*) e di santoreggia (*Satureja montana*) utilizzati nella prova, sono stati prodotti da Soave (Torino, Italia). Le analisi sulla composizione sono state eseguite usando un gascromatografo Shimadzu GC-2010 Plus (Shimadzu, Kyoto, Giappone) equipaggiato con uno spettrometro di massa GCMS-QP 2010 Ultra (Shimadzu) e un iniettore *split-splitless*. Il gas cromatografo è stato dotato di una colonna capillare di silice fusa Zebron ZB-5MSi (Phenomenex, Torrance, CA, USA) di 30 m × 0.25 mm con film di 0.25 µm di spessore. Come gas di trasporto è stato usato Elio con una velocità lineare di 37 cm s<sup>-1</sup> con un flusso costante di 1.0 mL min<sup>-1</sup>. La pressione è stata di 55 kPa e il flusso totale è stato di 105 mL min<sup>-1</sup>. Gli spettri della ionizzazione elettronica a 70 eV sono stati registrati in modalità di scansione (30-700 m z<sup>-1</sup>).

Per le analisi dell'olio essenziale di santoreggia, il forno è stato programmato con una temperatura iniziale di 50 °C per 3 min, poi innalzata di 5°C/min fino a 70°C e mantenuta a 70°C per 5 minuti, poi la temperatura è stata aumentata 1 °C / min fino a 90 °C, quindi è stata aumentata 5 °C / min fino a 150 °C ed infine aumentata 40°C/ min fino a 270 °C mantenuti per 5 min. Per l'olio essenziale di timo è stato usato lo stesso protocollo, senza la fase isoterma a 70°C per 5 min. Per entrambi gli oli essenziali, la temperatura d'iniezione è stata impostata a 250 °C e la sorgente di ioni e l'interfaccia sono state entrambe impostate a 280 °C.

L'olio essenziale puro di santoreggia e quello di timo sono stati diluiti al 10% e all'1% in n-esano (VWR, Radnor, PA, USA) per l'iniezione diretta con modalità split (80%). Il campionamento nelle camere è stato eseguito utilizzando *SPME fiber assembly* 100 µm PDMS (Supelco Analytical,

Bellefonte, PA, USA) per 5 minuti in triplice ripetizione a 1, 14 e 28 giorni di incubazione quindi l'iniettore è stato impostato in modalità *splitless*. La quantificazione relativa (percentuale) di composti volatili è stata calcolata rapportando l'area di picco con l'area totale del cromatogramma (da 7.5 a 40 min). La quantificazione assoluta è stata calcolata per carvacrolo e timolo usando una curva di calibrazione standard tra 1 e 50 ppm (mg / L). La quantificazione relativa è stata determinata per gli altri composti, utilizzando la curva di calibrazione standard del timolo per l'olio essenziale di timo e la curva di calibrazione standard del carvacrolo per l'olio essenziale di santoreggia.

Le pesche (cv. Vista Rich) e le nettarine (cv. Sweet Red) sono state raccolte da due diversi frutteti situati a Lagnasco (Cuneo, Italia, 44 ° 37'33 "60 N, 07 ° 33'21" 24 E) e sono state immediatamente trasportate nel laboratorio del DISAFA dell'Università di Torino durante l'estate del 2015. Tutti i frutti sono stati calibrati. I frutti privi di difetti sono stati suddivisi casualmente in cinque lotti di 350 frutti ciascuno. Ogni lotto costituiva un trattamento diverso ed è stato ulteriormente suddiviso in 5 repliche di 70 frutti. Le ripetizioni, ciascuna in una cassa, sono state conservate in box refrigerati differenti, alla stessa temperatura ma con atmosfera diversa in base al trattamento.

I diffusori di EO sono stati ottenuti aggiungendo ad agar-agar (Merck) (15 g / L), EO (10% v/v), acqua deionizzata sterilizzata (88% v / v) e Tween 20 (2% v / v) (Merck, Darmstadt, Germania). Le concentrazioni più basse di EO sono state ottenute per diluizioni successive. 50 ml di composto sono stati versati in capsule di Petri e dopo la solidificazione dell'agar, i 5 diffusori sono stati installati nei box refrigerati sotto le casse di frutta. I frutti sono stati pertanto conservati in box frigoriferi (75 x 70 x 65 cm) a 0 °C e 98% di umidità relativa per 28 d. La biofumigazione è stata effettuata a concentrazioni di 1% e 10% di EO. I trattamenti valutati sono stati complessivamente quattro: *T. vulgaris* EO a 1% (T1), *T. vulgaris* EO a 10% (T10), *S. montana* EO a 1% (S1) e *S.*

*montana* EO a 10% (S10). È stato incluso un controllo non trattato. Le analisi sono state effettuate a 1, 14 e 28 giorni di frigoconservazione.

Dopo la raccolta, sono stati selezionati frutti visibilmente sani. Il numero di frutti colpiti da marciumi e la loro incidenza percentuale (%) sono stati rilevati, per ciascun trattamento, ogni 7 giorni fino a 28 giorni di stoccaggio e per i 5 giorni di *shelf life* a 20 °C. I patogeni sono stati isolati trasferendo parti di tessuti di frutta sintomatica, precedentemente lavati in ipoclorito di sodio 1% e sciacquati in acqua di deionizzazione sterile, su piastre di patate dextrose agar (PDA, Merck) con 25 mg / L di solfato di streptomicina (Merck). Una coltura di 7 giorni è stata usata per l'estrazione del DNA usando il kit EZNA Plant DNA kit (Omega Bio-Tek, Norcross, GA, USA). La regione di *internal transcribed spacer* (ITS) di rDNA di 50 isolati è stata amplificata utilizzando i primer ITS1 / ITS4 (Glass e Donaldson, 1995). La miscela per la PCR comprendeva 2 µl di 10 x PCR tampone, 1 µl di primer ITS1 a 10 mM, 1 µl di primer ITS4 a 10 mM, 1 µl di miscela di nucleotidi a 5 mM, 12 µl di acqua ultrapura MilliQ, 0.8 µL di MgCl<sub>2</sub> a 25 mM, 0.2 µl di Taq polimerasi e 2 µl di DNA di template. I cicli di PCR comprendevano una fase di denaturazione a 95 °C per 2 minuti e 35 cicli come segue: 94 °C per 30 s, 55 °C per 30 s, 72 °C per 1 min e una fase finale di allungamento a 72 °C per 7 min. Gli ampliconi ITS sono stati sequenziati da BMR Genomics (Padova, Italia) e le sequenze di DNA sono state confrontate con quelle presenti nel database NCBI e depositate con numeri di accesso.

L'effetto degli oli essenziali sullo sviluppo degli agenti patogeni post raccolta è stato studiato su due principali patogeni di pesca e nettarina, *B. cinerea* e *M. fructicola*. Due ceppi virulenti isolati da pesche sono stati conservati su agar slant a 4 °C fino all'uso. La sospensione conidica di *B. cinerea* è stata ottenuta da una coltura di 15 giorni su PDA + streptomicina 25 mg L<sup>-1</sup> a 25 °C. *M. fructicola* è stata coltivata su piastra di agar tomato (250 ml di purea di pomodoro, 750 ml di acqua deionizzata e 20 g di agar) addizionata con 25 mg di streptomicina, per 5 giorni. 5 ml di acqua sterile sono stati aggiunti alla

piastra e il micelio è stato raschiato delicatamente con spreader a L per staccare i conidi. La sospensione di conidi è stata filtrata attraverso quattro strati di garza sterile e 100 µl sono state diffusi su piastre PDA + streptomina. Le piastre PDA sono state sigillate con il diffusore dell'olio essenziale. Gli oli essenziali sono stati aggiunti al diffusore proporzionalmente alla quantità presente nel box considerando la concentrazione del diffusore di EO, il numero di diffusori per box e il volume del box e delle piastre. La germinazione dei conidi è stata valutata dopo 20 ore per *B. cinerea* e 36 ore per *M. fructicola* contando 100 conidi per piastra. Per ciascun trattamento sono state usate tre ripetizioni e la prova è stata ripetuta due volte. I conidi sono stati considerati germinati quando il tubo germinativo superava la lunghezza conidica.

La perdita di peso è stata determinata pesando 30 frutti per trattamento all'inizio della prova (tempo zero) e durante lo stoccaggio (7, 14, 21 e 28 d di stoccaggio e 5 d per la *shelf life*). I valori sono stati riportati come percentuale di perdita di peso per peso iniziale di frutta, come mostrato nell'equazione (1).

$$(1) \quad \% \text{ weight loss} = \frac{\text{initial weight} - \text{final weight}}{\text{initial weight}} * 100$$

I parametri colorimetrici sono stati misurati settimanalmente durante la frigoconservazione, con un colorimetro Minolta (CR400, Konica Minolta Sensing, Inc. Osaka, Giappone), tarato con una piastrella bianca standard, utilizzando la scala CIE L\* C\* h° (luminosità, cromaticità / saturazione e tinta). È stata valutata la superficie di 30 frutti (colore di fondo e sovracolori) per trattamento.

Il contenuto in carotenoidi è stato determinato ogni 14 giorni, utilizzando il metodo riportato da Talcott e Howard (Talcott e Howard, 1999). I carotenoidi sono stati estratti utilizzando 10 ml di solvente di estrazione (etanolo / acetone w/w con 0.2% butilidrossitoluene) e 2 g di campione fresco da 10 frutti, il campione è stato omogeneizzato a 24.000 rpm per 1 min utilizzando un

omogeneizzatore Ultra-Turrax T-25 Tissue homogeniser (IKA®-Labortechnik, Saufen, Germania). I campioni sono stati poi centrifugati a 2900 giri / min per 20 minuti a 2 °C (Avanti J-25 centrifuga, Beckman Instruments, Palo Alto, CA). Il supernatante ottenuto ed è stato unito con 30 ml di solvente di estrazione, 25 ml di esano e 12.5 ml di acqua ultrapura. I tubi sono stati lasciati al buio a 4 °C per 1 ora, quindi i campioni sono stati trasferiti in cuvette di quarzo. L'assorbanza è stata misurata usando uno spettrofotometro UV (DU 530, Beckman Coulter, Brea, California, USA) a  $\lambda$  450 nm, con  $\beta$ -carotene come standard esterno. I risultati sono stati espressi come  $\mu\text{g}$  equivalenti  $\beta$ -carotene per  $\text{kg}^{-1}$  peso di frutta e sono stati ottenuti da una media di tre misurazioni per trattamento e per epoca di analisi (0,14 e 28 giorni di conservazione).

La vitamina C è stata determinata secondo il protocollo di Sánchez-Moreno *et al.*, (Sanchez Moreno *et al.*, 2003) e González-Molina *et al.*, (Gonzalez Molina *et al.*, 2008) a 0, 14 e 28 giorni (tre misurazioni ripetute per trattamento e per epoca di analisi). L'acido ascorbico (AA) è stato estratto utilizzando 10 mL di solvente di estrazione (metanolo:acqua 5:95 v / v) e 10 g di frutta da 10 frutti per trattamento mediante omogeneizzazione con T-25 Ultra-Turrax per 3 min. Quindi, il pH è stato corretto a 2.2-2.4 e l'estratto è stato adsorbito su C18 Sep-Pak (Waters Associates, Milford, MA, USA). Alla soluzione risultante è stata aggiunta 1,2-o-fenilendiammina dicloroidrato (Fluka Chemika, Neu-Ulm, Svizzera) e la soluzione è stata lasciata riposare per 37 minuti prima dell'analisi all'HPLC. Il contenuto di AA e di acido deidroascorbico (DHAA) è stato espresso come  $\text{mg kg}^{-1}$  di peso fresco. Sono state eseguite tre ripetizioni per trattamento. Il sistema cromatografico (Agilent) è stato dotato di una colonna Kinetex-C18 (4.6 x 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ , Phenomenex, Torrance, CA, USA), una pompa e un rilettore a serie di diodi DAD. Il sistema è stato controllato tramite software HPLC online (Agilent) a 40 °C. La fase mobile (isocratica) comprendeva 50 mM fosfato monobasico di potassio e 5 mM di cetrimide (Sigma Aldrich Corporation, Saint Louis, USA) in metanolo: acqua

(5:95 v / v). La portata del flusso è stata di 0.9 mL min<sup>-1</sup>. Il rivelatore DAD è stato impostato a 261 nm per AA e 348 per DHAA. Curve di calibrazione esterne per AA e DHAA, rispettivamente, sono state utilizzate per la quantificazione. Il tempo di esecuzione totale di una corsa cromatografica è stato di 15 minuti. Il limite di rilevazione è stato di 0.5 mg·kg<sup>-1</sup> FW.

L'analisi della varianza (ANOVA) è stata eseguita sui dati utilizzando Statistica v. 6.0 (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA). Le differenze significative (LSD) con un livello significativo di 0.05 sono state utilizzate per confrontare le medie dei trattamenti mediante il test di Tukey. I valori medi sono stati considerati significativamente diversi a  $p \leq 0.05$ .

## **RISULTATI E DISCUSSIONE**

L'attività degli EO in forma di vapore li rende potenziali biofumiganti di frutta nelle celle di conservazione.

Per rilasciare gli EO in forma di vapore, durante la conservazione delle pesche e nettarine sono stati utilizzati diffusori a lento rilascio, basati su emulsioni di gel di EO. Gli agenti patogeni non sono stati inoculati, quindi poteva svilupparsi solo l'inoculo naturale del patogeno sia sulle pesche che sulle nettarine.

La fumigazione con EO è stata efficace nel controllare i marciumi post-raccolta di pesche e nettarine, ma l'efficacia è risultata essere differente nelle due condizioni sperimentali. Durante la frigoconservazione, non si sono sviluppati marciumi né sulle pesche "Vista Rich" né sulle nettarine "Sweet Red". L'incidenza di marciume sulle nettarine "Sweet Red" e sulle pesche "Vista Rich" è stata notevolmente differente durante la *shelf life* (5 giorni a 20 ° C). Dopo la *shelf life*, sulle nettarine l'incidenza di marciume sui frutti non trattati era del 23,3%, mentre la maggior parte delle pesche (99,3%) era marcita (Figura 1).

L'incidenza della malattia è stata influenzata dalle condizioni climatiche durante la crescita dei frutti. Un'alta incidenza di marciume bruno sulle pesche,



che sono state raccolte un mese prima delle nettarine, è stata favorita da condizioni climatiche fresche e umide, mentre le nettarine sono state raccolte ad agosto, dopo un periodo caratterizzato da alte temperature e scarse precipitazioni, che hanno limitato lo sviluppo di marciume bruno (Mari *et al.* 2012).

Il controllo non trattato ha comunque evidenziato la più alta percentuale di frutti colpiti da marciumi in entrambe le prove. I patogeni isolati dai frutti colpiti sono stati identificati utilizzando strumenti morfologici e molecolari. Sulle nettarine, i patogeni post raccolta isolati dai frutti non trattati sono stati *Monilinia fructicola*, *Botrytis cinerea* e *Alternaria* spp. (Tabella 1), con un'incidenza rispettivamente del 10,7%, 8,0% e 4,6%.

L'efficacia dei trattamenti con EO è stata influenzata dall'incidenza della malattia: con una bassa presenza della malattia, tre trattamenti su quattro hanno ridotto significativamente l'incidenza di marciumi, mentre con alta presenza della malattia, solo i vapori di timo al 10% hanno ridotto significativamente i marciumi rispetto al controllo.

Sulle nettarine, EO di santoreggia al 10% è risultato essere il trattamento più efficace, con solo il 4,0% dei frutti danneggiati dagli agenti patogeni post-raccolta. Tutti i trattamenti sono stati efficaci nel controllare le malattie post raccolta, tranne EO di santoreggia all'1%, che non è stato statisticamente differente dal controllo alla fine della *shelf life* (Figura 1a). Il timo EO è stato molto efficace nel controllare il *M. fructicola*. L'aumento della concentrazione di EO ha comportato una diminuzione di marciume bruno. *B. cinerea* è stata isolata con un'incidenza del 4,0% e del 6,8% per il trattamento con EO di timo all'1% e al 10% , rispettivamente.

Nelle nettarine *M. fructicola* è stato il principale agente patogeno nella frutta non trattata (47,2% dei frutti marci), mentre l'incidenza relativa è diminuita al 45,0% e al 26,8% nella frutta trattata con EO di timo all'1% e al 10%, rispettivamente. *B. cinerea* ha interessato il 34,3% (controllo), il 55,0% (EO

timo all'1%) e il 73,2% (EO timo al 10%) dei frutti colpiti da marciumi. Dopo la prima segnalazione di *M. fructicola* in Italia nel 2009 (Pellegrino *et al.*, 2009) questo agente patogeno ha sostanzialmente sostituito la specie endemica *M. laxa* nei frutteti italiani (Pellegrino *et al.*, 2009).

Inoltre, *Alternaria* spp. non è stata isolata nella frutta fumigata con EO di timo. I vapori di EO di santoreggia sono stati meno efficaci nel controllare questo agente perché solo la concentrazione del 10% ha inibito la crescita di *Alternaria* spp., mentre il 3,4% di frutti fumigati con il trattamento all'1% di EO di santoreggia ha mostrato marciume da *Alternaria* (*Alternaria rot*). Per l'olio essenziale di santoreggia, l'efficacia ridotta contro *Alternaria* spp. è già stata segnalata, e concentrazioni a 400 ppm hanno favorito il marciume da *Alternaria* (Babagoli *et al.*, 2012). *Alternaria* spp. è un agente patogeno secondario delle nettarine e la presenza sui campioni è principalmente dovuta alla lunga conservazione.

Sulle pesche, con un elevato inoculo, i frutti non trattati sono stati completamente danneggiati dal marciume bruno.

Sui frutti fumigati con EO, sono stati isolati *M. fructicola*, *B. cinerea* e *Penicillium* spp. (figura 1b).

L'efficacia dell'EO di timo rispetto a *M. fructicola* è dipesa dalla sua concentrazione. *M. fructicola* ha colpito solo il 30% (EO di timo 1%) e il 25% (EO di timo 10%) dei frutti colpiti da marciumi.

*B. cinerea*, l'agente di muffa grigia, è raro sulle pesche, ma la sua presenza può essere maggiore quando l'incidenza del marciume bruno è bassa (Fourie e Holz, 1995). L'applicazione di EO di timo o santoreggia, sia sulle nettarine che sulle pesche ha favorito una riduzione dell'incidenza di marciume bruno, ma un concomitante aumento di muffa grigia (Fourie e Holz, 1995).

Secondo la letteratura, *M. fructicola* è molto sensibile all'olio essenziale di timo (Lazar-Baker *et al.*, 1995). Le proprietà fungicide dell'olio essenziale di timo sono attribuibili principalmente al timolo, riconosciuto come il composto fenolico più attivo contro le muffe post raccolta (Chu *et al.*, 2001).

La composizione chimica degli oli essenziali utilizzati nella prova è stata determinata mediante iniezione diretta. I principali composti volatili presenti nell'olio essenziale di timo puro sono stati il timolo (26,0%), seguito dal p-cimene, dal  $\alpha$ -terpineolo e dal linalolo (Tabella 2).

Poiché i diffusori, basati su gel che emulsionano EO, sono stati utilizzati per rilasciare EO sotto forma di vapori durante la conservazione della frutta, si è voluta determinare la concentrazione dei composti degli EO nell'atmosfera dei box durante la conservazione refrigerata della frutta. Le analisi eseguite nei box con diffusori di EO di timo all'1% e al 10% hanno mostrato una quantità molto elevata di p-cimene, il principale composto organico volatile a 1, 14 e 28 giorni. Il timolo, invece, era in media il 2,0% nelle tre epoche di campionamento effettuati nel box con EO di timo al 10%, mentre era 0,40%, 3,66% e 3,67% rispettivamente al giorno 1, 14 e 28 nel box con EO di timo 1%. Il timolo nelle celle di conservazione è stato rilasciato lentamente e a una concentrazione inferiore, rispetto alla composizione pura dell'olio essenziale. Questo esperimento ha dimostrato che il timolo è rilasciato lentamente dai diffusori durante i 28 giorni di conservazione dei frutti e persiste aumentando in concentrazione assoluta durante la conservazione. Per quanto riguarda l'olio essenziale di santoreggia, l'analisi mediante iniezione diretta ha mostrato che il principale composto volatile è stato il linalolo (22,2%), seguito da carvacrolo (13,3%), timolo (10,7%) ed eucaliptolo (tabella 3).

Nell'atmosfera dei box in cui è stato posto il diffusore di santoreggia al 10%, nelle tre epoche di campionamento, i componenti principali rilevati sono stati linalolo ed eucaliptolo. Al contrario, il timolo e il carvacrolo hanno mostrato una diminuzione significativa rispetto all'EO puro, infatti sono stati rilevati quantitativi dallo 0,14% allo 0,63% per il carvacrolo e dallo 0,17% allo 0,60% per il timolo, rispettivamente all'inizio e alla fine della prova.

Questi risultati hanno mostrato che i componenti antifungini degli oli essenziali di timo e di santoreggia sono aumentati durante la conservazione, essendo tuttavia una bassa percentuale dei composti organici volatili presenti

nelle celle di conservazione rispetto alla loro concentrazione nell' EO puro. Per questo motivo, i diffusori potrebbero essere considerati efficaci nel lento rilascio di oli essenziali vaporizzati.

L'attività antifungina di oli essenziali di timo e di santoreggia vaporizzati è stata dimostrata eseguendo un test in vitro su piastra di agar, dove *M. fructicola* e *B. cinerea* potevano germinare in un'atmosfera con la stessa concentrazione di olio presente nel box (Figura 2).

Gli effetti antifungini sono dipesi dal tipo di olio essenziale, dalla sua concentrazione e dalla specie di patogeno (Lopez- Reyes *et al.*, 2013). *M. fructicola* è stata quasi completamente inibita dai vapori di santoreggia al 10%. I vapori di olio essenziale di timo hanno portato a una riduzione del 40% del tasso di germinazione conidica. Come previsto, i trattamenti con oli vaporizzati sono stati più efficaci in vitro, all'aumentare della concentrazione di EO. Tutti i trattamenti con EO hanno causato una diminuzione significativa della lunghezza del tubo germinale rispetto al controllo non trattato (Tabella 4).

Risultati precedenti hanno mostrato che i vapori di timolo inibivano la crescita miceliale di *M. fructicola* ed erano fatali per la vitalità dei conidi; le spore che avevano subito fumigazione sono risultate rimpicciolite e con protoplasti collassati (Liu *et al.*, 2002).

Il timolo è in grado di cristallizzare sulla superficie esterna delle pareti cellulari e le strutture fungine esposte sono state caratterizzate dalla distruzione delle membrane cellulari e dalla disgregazione degli organelli citoplasmatici, riducendo al 50% la vitalità conidica a 2 µg / mL e al 17-23% quando il timolo è stato applicato a 8 µg / mL (Svircev *et al.*, 2007).

*B. cinerea* è molto meno sensibile all'attività antimicrobica dell'olio essenziale (Arrebola *et al.*, 2010). Nei nostri esperimenti, il fungo ha confermato di essere meno sensibile ai vapori di EO, rispetto a *M. fructicola* e la massima riduzione della germinazione conidiale è stata del 40,1% per i vapori di santoreggia al 10%. La lunghezza del tubo germinale nella crescita di *B.*

*cinerea* è stata inibita solo dal trattamento con il timo 10%, mentre gli altri trattamenti non sono stati statisticamente differenti dal controllo non trattato. Test in vitro hanno confermato i risultati ottenuti sui frutti: l'attività antimicrobica dei vapori di EO non ha bisogno di un contatto diretto. Inoltre, la maggiore efficacia contro *M. fructicola*, rispetto a *B. cinerea* in vitro, spiega la maggiore riduzione del marciume bruno sui frutti, accompagnata da una maggiore incidenza di muffa grigia. Questo effetto è stato particolarmente evidente sulle pesche. I frutti non trattati sono stati affetti esclusivamente da *M. fructicola*, mentre altri patogeni avrebbero potuto svilupparsi sui frutti fumigati colonizzando la nicchia lasciata vuota dall'inibizione di *M. fructicola*. Grazie alla bassa sensibilità di *B. cinerea* ai vapori di EO, il patogeno avrebbe potuto iniziare a svilupparsi sui frutti fumigati causando la formazione di muffa grigia.

Durante la conservazione dei frutti, oltre all'efficacia contro i marciumi post raccolta, sono stati valutati la perdita di peso, il colore, i solidi solubili totali, l'acidità titolabile, il contenuto di acido ascorbico e di carotenoidi. L'uso di EO di timo ha ridotto la perdita di peso in particolare sulle pesche (Tabella 5).

Il controllo non trattato ha mostrato la più alta perdita di peso alla fine della conservazione in entrambe le prove.

L'efficacia della fumigazione con EO potrebbe essere correlata alla formazione di un rivestimento sulla superficie del frutto che modifica la permeabilità ai gas, riducendo il tasso respiratorio e la perdita d'acqua. I nostri risultati sono in accordo con precedenti esperimenti su ciliegie (Serrano *et al.*, 2005) uva (Martinez-Romero *et al.*, 2007) e pesche (Montero-Prado *et al.*, 2011) trattate con vapori di eugenolo, timolo, mentolo e cannella. I vapori di EO hanno dimostrato di ridurre il processo di disidratazione o la perdita di peso nei frutti (Sivakumar e Bautista-Banos, 2014). Altri studi hanno dimostrato che l'applicazione di oli essenziali insieme a rivestimenti commestibili potrebbe ridurre la perdita d'acqua (Krasniewska *et al.*, 2016). Ci sono pochi riferimenti che riportano l'effetto dei trattamenti con EO sul colore dei frutti. In questo

lavoro, la luminosità e lo hue angle del colore di fondo e del sovracolore sono stati monitorati durante la conservazione. La luminosità delle nettarine è diminuita sia nel colore di fondo che nel sovracolore durante la conservazione refrigerata (Tabella 6). Le differenze tra i trattamenti sono state osservate alla fine della *shelf life*, quando i campioni trattati hanno mostrato valori più alti rispetto al controllo non trattato. Per quanto riguarda le pesche, non sono state rilevate differenze tra i trattamenti (Tabella 7).

La tinta (hue angle) è un parametro della maturazione. In generale, i valori di tinta del colore di fondo diminuiscono durante la conservazione post raccolta, tendendo al giallo. Nelle nettarine, la tinta è rimasta stabile durante la conservazione, ma sono state osservate alcune differenze tra i trattamenti e le nettarine trattate con oli essenziali sono risultate più gialle rispetto al frutto di controllo. Nelle pesche, il colore di fondo è diventato più giallo durante la conservazione, come previsto, ma non sono state osservate differenze tra i trattamenti. In conclusione, l'uso di EO non ha avuto effetti negativi sul colore della frutta. Le variazioni di colore sono state collegate al naturale processo di maturazione e sono state rallentate dalla conservazione a bassa temperatura.

I vapori di EO hanno influenzato il contenuto di carotenoidi preservando la quantità di questi composti antiossidanti nei frutti sottoposti a fumigazione. Generalmente, i carotenoidi diminuiscono durante la conservazione. Questi ultimi sono foto e termosensibili e tendono a ossidarsi se non sono protetti dalla luce e dall'atmosfera (Leong e Oey., 2012). Nelle nettarine, solo il controllo non trattato e i frutti trattati con EO di santoreggia all'1% hanno mostrato una diminuzione significativa del contenuto totale di carotenoidi durante la conservazione mentre è rimasto stabile negli altri frutti fumigati (Figura 3).

Alla fine delle prove, la frutta trattata con timo all'1% e al 10% presentava la più alta quantità di carotenoidi (1189 µg / kg e 1162 µg / kg, rispettivamente).

Sia sulle nettarine che sulle pesche, i frutti non trattati hanno mostrato il più basso contenuto di AA alla fine della frigoconservazione con differenze dai frutti trattati statisticamente significative (Figura 4).

L'uso di EO ha conservato il contenuto di acido ascorbico, senza mostrare differenze statistiche tra i trattamenti. Nelle pesche, la frutta trattata con oli essenziali di santoreggia e timo all'1% ha mantenuto il più elevato contenuto di acido ascorbico alla fine della prova.

Il contenuto di acido ascorbico è diminuito significativamente durante la conservazione, come previsto, e l'EO ha influenzato questo processo. La diminuzione dell'acido ascorbico potrebbe essere spiegata dalle proprietà chimiche e dalle funzioni metaboliche dell' AA nella cellula vegetale (Lee e Kader, 2000). L'AA e l'acido deidroascorbico (DHAA) sono importanti antiossidanti e sono usati contro le *reactive oxygen species*, prodotte naturalmente dal metabolismo delle cellule vegetali e accumulate durante la conservazione (Apel e Hirt, 2004).

L'uso di EO ha portato a un ritardo nella perdita del contenuto di carotenoidi totali e di AA nella polpa. Alcuni oli essenziali (timolo, mentolo ed eugenolo) hanno mostrato attività antiossidante e capacità di agire contro i radicali liberi (Wang *et al.*, 2007). Questi effetti potrebbero spiegare l'efficacia dell'EO nel ridurre la perdita di nutrienti. Valero *et al.* (2006) hanno suggerito che l'aggiunta di timolo abbia rallentato la perdita di AA nell'uva. Tuttavia, i diversi effetti degli EO sul contenuto di carotenoidi totali nelle nettarine e nelle pesche sono stati evidenti. Gli oli essenziali sono stati più efficaci sul metabolismo delle nettarine, mentre sulle pesche la loro azione è risultata meno evidente.

## CONCLUSIONI

I vapori di olio essenziale di santoreggia e timo hanno dimostrato un'elevata attività antifungina nei confronti di *M. fructicola* anche a basse concentrazioni.

*B. cinerea* è stata meno sensibile ai vapori di EO e ha potuto svilupparsi quando *M. fructicola* è stata inibita. Le concentrazioni di EO richiedono un'attenta ottimizzazione a seconda delle cultivar. Sebbene in test in vitro l'efficacia sia direttamente correlata con le concentrazioni di EO, quando applicati ai frutti i vapori di EO potrebbe avere effetti fitotossici, che ridurrebbero l'efficacia del trattamento.

I vapori di EO non hanno influenzato la qualità complessiva del frutto, ma hanno mostrato un effetto positivo nel mantenere i valori nutrizionali evitando l'ossidazione dell'acido ascorbico e dei carotenoidi, preservando la qualità del prodotto finale. L'applicazione di oli essenziali di timo e santoreggia rappresenta uno strumento promettente per ridurre le perdite post raccolta e preservare la qualità delle pesche e delle nettarine.

## **RINGRAZIAMENTI**

Lavoro realizzato con il contributo finanziario LIFE dell'Unione europea per il progetto " *Low pesticide IPM in sustainable and safe fruit production* " (contratto n. LIFE13 ENV / HR / 000580).

## **BIBLIOGRAFIA**

- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55, 373-399.
- Arrebola, E., Sivakumar, D., Bacigalupo, R., & Korsten, L. (2010). Combined application of antagonist *Bacillus amyloliquefaciens* and essential oils for the control of peach postharvest diseases. *Crop Protection*, 29(4), 369-377.
- Babagoli, M. A., & Behdad, E. B. R. A. H. I. M. (2012). Effects of three essential oils on the growth of the fungus *Alternaria solani*. *Journal of Research in Agricultural Science*, 8(1), 45-57.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.



- Barrera-Necha, L. L., Bautista-Baños, S., Flores-Moctezuma, H. E., & Estudillo, A. R. (2008). Efficacy of essential oils on the conidial germination, growth of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc and control of postharvest diseases in papaya (*Carica papaya* L.). *Plant Pathology Journal*, 7(2), 174-178.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Chu, C. L., Liu, W. T., & Zhou, T. (2001). Fumigation of sweet cherries with thymol and acetic acid to reduce postharvest brown rot and blue mold rot. *Fruits*, 56(2), 123-130.
- Cindi, M. D., Shittu, T., Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2015). Chitosan boehmite-alumina nanocomposite films and *T. vulgaris* oil vapour control brown rot in pesche (*Prunus persica* L.) during postharvest storage. *Crop protection*, 72, 127-131.
- Daferera, D. J., Ziogas, B. N., & Polissiou, M. G. (2000). GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2576-2581.
- Di Vaio, C., Graziani, G., Marra, L., Cascone, A., & Ritieni, A. (2008). Antioxidant capacities, carotenoids and polyphenols evaluation of fresh and refrigerated peach and nectarine cultivars from Italy. *European Food Research and Technology*, 227(4), 1225-1231.
- Elshafie, H. S., & Camele, I. (2016). Investigating the effects of plant essential oils on post-harvest fruit decay. In *Fungal Pathogenicity*. InTech.
- Food and Agricultural Organisation of the United Nations. Available online: <http://faostat3.fao.org/faostatgateway/go/to/home/E> (accessed on 29 December 2017).
- Fourie, J. F., & Holz, G. (1995). Initial infection processes by *Botrytis cinerea* on nectarine and plum fruit and the development of

- decay. *Phytopathology*, 85(1), 82-87.
- García-Parra, J., González-Cebrino, F., Delgado, J., Lozano, M., Hernández, T., & Ramírez, R. (2011). Effect of thermal and high-pressure processing on the nutritional value and quality attributes of a nectarine purée with industrial origin during the refrigerated storage. *Journal of food science*, 76(4).
- Gil, M. I., Tomás-Barberán, F. A., Hess-Pierce, B., & Kader, A. A. (2002). Antioxidant capacities, phenolic compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4976-4982.
- Glass, N. L., & Donaldson, G. C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(4), 1323-1330.
- González-Molina, E., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2008). Genotype and harvest time influence the phytochemical quality of Fino lemon juice (*Citrus limon* (L.) Burm. F.) for industrial use. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(5), 1669-1675.
- Karabulut, O. A., Cohen, L., Wiess, B., Daus, A., Lurie, S., & Droby, S. (2002). Control of brown rot and blue mold of peach and nectarine by short hot water brushing and yeast antagonists. *Postharvest Biology and Technology*, 24(2), 103-111.
- Kraśniewska, K., Gniewosz, M., Kosakowska, O., & Cis, A. (2016). Preservation of brussels sprouts by pullulan coating containing oregano essential oil. *Journal of food protection*, 79(3), 493-500.
- Larena, I., Torres, R., De Cal, A., Liñán, M., Melgarejo, P., Domenichini, P., ... & Usall, J. (2005). Biological control of postharvest brown rot (*Monilinia* spp.) of pesche by field applications of *Epicoccum nigrum*. *Biological Control*, 32(2), 305-310.
- Lazar-Baker, E. E., Hetherington, S. D., Ku, V. V., & Newman, S. M. (2011). Evaluation of commercial essential oil samples on the growth of postharvest

- pathogen *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey. *Letters in applied microbiology*, 52(3), 227-232.
- Lee, S. K., & Kader, A. A. (2000). Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest biology and technology*, 20(3), 207-220.
- Leong, S. Y., & Oey, I. (2012). Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 133(4), 1577-1585.
- Liu, W. T., Chu, C. L., & Zhou, T. (2002). Thymol and acetic acid vapors reduce postharvest brown rot of apricots and plums. *HortScience*, 37(1), 151-156.
- Lopez-Reyes, J. G., Spadaro, D., Gullino, M. L., & Garibaldi, A. (2010). Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples in vivo. *Flavour and fragrance journal*, 25(3), 171-177.
- Lopez-Reyes, J. G., Spadaro, D., PELLE, A., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2013). Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits in vivo. *Journal of food protection*, 76(4), 631-639.
- Mari, M., Bautista-Baños, S., & Sivakumar, D. (2016). Decay control in the postharvest system: Role of microbial and plant volatile organic compounds. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 70-81.
- Mari, M., Martini, C., Guidarelli, M., & Neri, F. (2012). Postharvest biocontrol of *Monilinia laxa*, *Monilinia fructicola* and *Monilinia fructigena* on stone fruit by two *Aureobasidium pullulans* strains. *Biological Control*, 60(2), 132-140.
- Martínez-Romero, D., Guillén, F., Valverde, J. M., Bailén, G., Zapata, P., Serrano, M., ... & Valero, D. (2007). Influence of carvacrol on survival of *Botrytis cinerea* inoculated in *Tabella* grapes. *International journal of food microbiology*, 115(2), 144-148.

- Mehra, L. K., MacLean, D. D., Shewfelt, R. L., Smith, K. C., & Scherm, H. (2013). Effect of postharvest biofumigation on fungal decay, sensory quality, and antioxidant levels of blueberry fruit. *Postharvest biology and technology*, *85*, 109-115.
- Montero-Prado, P., Rodriguez-Lafuente, A., & Nerin, C. (2011). Active label-based packaging to extend the shelf-life of “Calanda” peach fruit: Changes in fruit quality and enzymatic activity. *Postharvest Biology and Technology*, *60*(3), 211-219.
- Munera, S., Amigo, J. M., Blasco, J., Cubero, S., Talens, P., & Aleixos, N. (2017). Ripeness monitoring of two cultivars of nectarine using VIS-NIR hyperspectral reflectance imaging. *Journal of Food Engineering*, *214*, 29-39.
- Peano, C., Giacalone, G., & Bounous, G. (2000, March). Changes in fruit quality of peach and nectarine from transport to shelf. In *IV International Conference on Postharvest Science 553* (pp. 739-740).
- Pellegrino, C., Gullino, M. L., Garibaldi, A., & Spadaro, D. (2009). First report of brown rot of stone fruit caused by *Monilinia fructicola* in Italy. *Plant Disease*, *93*(6), 668-668.
- Plaza, P., Torres, R., Usall, J., Lamarca, N., & Vinas, I. (2004). Evaluation of the potential of commercial post-harvest application of essential oils to control citrus decay. *The journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *79*(6), 935-940.
- Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., de Ancos, B., & Cano, M. P. (2003). Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(3), 647-653.
- Sarkhosh, A., Vargas, A. I., Schaffer, B., Palmateer, A. J., Lopez, P., Soleymani, A., & Farzaneh, M. (2017). Postharvest management of anthracnose in avocado (*Persea americana* Mill.) fruit with plant-extracted oils. *Food Packaging and Shelf life*, *12*, 16-22.

- Šegvić Klarić, M., Kosalec, I., Mastelić, J., Piecková, E., & Pepeljnak, S. (2007). Antifungal activity of *T. vulgaris* (Thymus vulgaris L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Letters in applied microbiology*, 44(1), 36-42.
- Serrano, M., Martinez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., & Valero, D. (2005). The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. *Innovative food science & emerging technologies*, 6(1), 115-123.
- Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2014). A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Crop Protection*, 64, 27-37.
- Spadaro, D., & Gullino, M. L. (2014). Use of essential oils to control postharvest rots on pome and stone fruit. In *Post-harvest Pathology* (pp. 101-110). Springer International Publishing.
- Spadaro, D., Sabetta, W., Acquadro, A., Portis, E., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2008). Use of AFLP for differentiation of *Metschnikowia pulcherrima* strains for postharvest disease biological control. *Microbiological research*, 163(5), 523-530.
- Spadoni, A., Guidarelli, M., Sanzani, S. M., Ippolito, A., & Mari, M. (2014). Influence of hot water treatment on brown rot of peach and rapid fruit response to heat stress. *Postharvest biology and technology*, 94, 66-73.
- Spadoni, A.; Neri, F.; Mari, M. In *Advances in Postharvest Fruit and VegeTabella Technology Contemporary Food Engineering*; in Wills, R. B., & Golding, J. (Eds.). (2016). . CRC Press.
- Svircev, A. M., Smith, R. J., Zhou, T., Hernandez, M., Liu, W., & Chu, C. L. (2007). Effects of thymol fumigation on survival and ultrastructure of *Monilinia fructicola*. *Postharvest biology and technology*, 45(2), 228-233.
- Talcott, S. T., & Howard, L. R. (1999). Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(5), 2109-2115.

- Valero, D., Valverde, J. M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., & Serrano, M. (2006). The combination of modified atmosphere *packaging* with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of Tabella grapes. *Postharvest Biology and Technology*, *41*(3), 317-327.
- Wang, C. Y., Wang, S. Y., Yin, J. J., Parry, J., & Yu, L. L. (2007). Enhancing antioxidant, antiproliferation, and free radical scavenging activities in strawberries with essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, *55*(16), 6527-6532.
- Zhang, H., Zheng, X., & Yu, T. (2007). Biological control of postharvest diseases of peach with *Cryptococcus laurentii*. *Food Control*, *18*(4), 287-291.
- Ziedan, E. H. E., & Farrag, E. S. (2008). Fumigation of peach fruits with essential oils to control postharvest decay. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, *4*(5), 512-519.

## TABELLE E FIGURE

**Tabella 1** GenBank accession numbers delle sequenze ITS di alcuni isolati da nettarine “Sweet Red”

| Isolated strains                    | GenBank Accession number |
|-------------------------------------|--------------------------|
| CaF1 - <i>Botrytis cinerea</i>      | KX304007                 |
| S1cF3 - <i>Botrytis cinerea</i>     | KX304008                 |
| CcF5 - <i>Monilinia fructicola</i>  | KX304009                 |
| S1aF1 - <i>Monilinia fructicola</i> | KX304010                 |
| Cb22 - <i>Alternaria</i> sp.        | KX304011                 |
| Cc12 - <i>Alternaria</i> sp.        | KX304012                 |

**Tabella 2** Composizione e composti volatili dell’olio essenziale di Timo nei box di conservazione durante 28 giorni

| EO Componenti       | DI [%] | Timo 10% |       |        |       |        |       | Timo 1% |       |       |       |        |       |
|---------------------|--------|----------|-------|--------|-------|--------|-------|---------|-------|-------|-------|--------|-------|
|                     |        | T1       |       | T14    |       | T28    |       | T1      |       | T14   |       | T28    |       |
|                     |        | ppm      | [%]   | ppm    | [%]   | ppm    | [%]   | ppm     | [%]   | ppm   | [%]   | ppm    | [%]   |
| $\alpha$ -Pinene    | 3.59   | 17.35    | 2.59  | 35.32  | 4.19  | 48.44  | 4.64  | 3.76    | 4.07  | 8.31  | 2.10  | 12.74  | 2.60  |
| Camphene            | 0.98   | 7.27     | 1.05  | 15.76  | 1.84  | 21.53  | 2.04  | 1.25    | 1.06  | 2.40  | 0.54  | 4.71   | 0.91  |
| $\beta$ -Pinene     | 0.30   | 3.29     | 0.45  | 6.53   | 0.74  | 8.58   | 0.79  | 0.36    | 0.00  | 1.49  | 0.30  | 2.24   | 0.39  |
| Myrcene             | 0.89   | 12.17    | 1.80  | 18.66  | 2.19  | 29.39  | 2.80  | 2.18    | 2.18  | 4.25  | 1.03  | 7.05   | 1.40  |
| <i>p</i> -Cimene    | 23.52  | 321.89   | 49.07 | 372.43 | 44.56 | 397.13 | 38.30 | 53.21   | 63.38 | 78.13 | 20.59 | 99.92  | 20.89 |
| Linalool            | 8.00   | 96.47    | 14.67 | 135.54 | 16.19 | 166.85 | 16.07 | 3.17    | 3.36  | 94.47 | 24.91 | 100.66 | 21.04 |
| Fenchol             | 0.45   | 5.55     | 0.79  | 9.23   | 1.06  | 13.69  | 1.29  | 0.36    | 0.00  | 5.39  | 1.33  | 6.00   | 1.18  |
| Terpinen-1-ol       | 2.30   | 14.71    | 2.19  | 22.45  | 2.65  | 31.92  | 3.05  | 0.87    | 0.61  | 19.67 | 5.11  | 24.85  | 5.14  |
| Camphor             | 0.37   | 3.01     | 0.40  | 4.07   | 0.44  | 6.96   | 0.64  | 1.88    | 1.82  | 3.31  | 0.78  | 4.07   | 0.78  |
| $\beta$ -Terpineol  | 1.03   | 6.58     | 0.95  | 11.02  | 1.28  | 15.79  | 1.49  | 0.60    | 0.28  | 9.20  | 2.34  | 11.39  | 2.31  |
| Isoborneol          | 0.71   | 9.05     | 1.33  | 13.79  | 1.61  | 19.85  | 1.88  | 0.36    | 0.00  | 9.77  | 2.49  | 11.43  | 2.32  |
| Borneol             | 1.90   | 12.65    | 1.88  | 22.71  | 2.68  | 29.65  | 2.83  | 0.36    | 0.00  | 29.14 | 7.62  | 22.55  | 4.65  |
| Terpinen-4-ol       | 0.67   | 5.36     | 0.76  | 7.32   | 0.83  | 10.79  | 1.01  | 0.36    | 0.00  | 6.00  | 1.49  | 7.01   | 1.39  |
| $\alpha$ -Terpineol | 13.40  | 30.12    | 4.54  | 53.57  | 6.37  | 74.71  | 7.18  | 1.51    | 1.37  | 50.54 | 13.28 | 64.49  | 13.45 |
| $\gamma$ -Terpineol | 2.60   | 6.73     | 0.97  | 10.74  | 1.24  | 14.32  | 1.35  | 0.36    | 0.00  | 11.19 | 2.86  | 13.30  | 2.71  |
| Thymol              | 26.02  | 4.28     | 0.60  | 23.56  | 2.78  | 28.07  | 2.67  | 0.69    | 0.40  | 14.17 | 3.66  | 17.87  | 3.67  |

**Tabella 3** Composizione e composti volatile dell'olio essenziale di Santoreggia nei box di conservazione durante 28 giorni

| EO components                | DI<br>[%] | Santoreggia 10% |       |        |       |        |       | Santoreggia 1% |       |        |       |        |       |
|------------------------------|-----------|-----------------|-------|--------|-------|--------|-------|----------------|-------|--------|-------|--------|-------|
|                              |           | T1              |       | T14    |       | T28    |       | T1             |       | T14    |       | T28    |       |
|                              |           | ppm             | [%]   | ppm    | [%]   | ppm    | [%]   | ppm            | [%]   | ppm    | [%]   | ppm    | [%]   |
| $\alpha$ -Pinene             | 0.76      | 4.64            | 0.48  | 16.27  | 0.76  | 12.06  | 0.64  | 1.35           | 0.20  | 2.03   | 0.23  | 3.63   | 0.40  |
| Myrcene                      | 0.47      | 5.33            | 0.56  | 15.19  | 0.70  | 16.70  | 0.89  | 1.31           | 0.19  | 1.59   | 0.16  | 5.15   | 0.59  |
| p-Cymene                     | 10.63     | 119.89          | 13.71 | 297.20 | 14.17 | 248.17 | 13.62 | 34.46          | 7.43  | 41.12  | 5.78  | 55.77  | 6.96  |
| Eucalyptol                   | 7.71      | 185.98          | 21.30 | 442.63 | 21.11 | 394.67 | 21.67 | 138.52         | 30.15 | 113.11 | 16.01 | 160.06 | 20.09 |
| $\gamma$ -Terpinen           | 9.45      | 128.33          | 14.68 | 284.79 | 13.57 | 234.37 | 12.86 | 38.00          | 8.20  | 46.39  | 6.53  | 62.31  | 7.79  |
| <i>trans</i> -Linalool oxide | 1.19      | 11.95           | 1.32  | 42.58  | 2.01  | 51.48  | 2.81  | 2.15           | 0.38  | 9.50   | 1.29  | 12.76  | 1.55  |
| <i>cis</i> -Linalool oxide   | 0.86      | 9.49            | 1.04  | 29.57  | 1.39  | 37.81  | 2.05  | 1.63           | 0.26  | 6.31   | 0.83  | 9.31   | 1.12  |
| Linalool                     | 22.16     | 183.71          | 21.03 | 418.00 | 19.93 | 384.31 | 21.10 | 138.19         | 30.08 | 286.32 | 40.63 | 273.29 | 34.33 |
| Plinol                       | 0.34      | 4.47            | 0.46  | 12.46  | 0.57  | 13.33  | 0.71  | 2.90           | 0.54  | 6.90   | 0.92  | 7.25   | 0.86  |
| Isoborneol                   | 1.09      | 10.89           | 1.20  | 29.90  | 1.41  | 31.05  | 1.68  | 7.20           | 1.48  | 18.72  | 2.60  | 18.43  | 2.26  |
| Borneol                      | 2.24      | 13.44           | 1.49  | 32.25  | 1.52  | 36.66  | 1.99  | 9.48           | 1.98  | 23.08  | 3.22  | 27.94  | 3.46  |
| $\alpha$ -Terpineol          | 1.36      | 4.51            | 0.47  | 10.31  | 0.47  | 12.11  | 0.64  | 3.64           | 0.70  | 7.27   | 0.97  | 9.71   | 1.17  |
| Carvone                      | 2.09      | 7.26            | 0.78  | 15.48  | 0.72  | 17.10  | 0.92  | 8.24           | 1.70  | 16.99  | 2.35  | 16.76  | 2.05  |
| Bornyl acetate               | 1.55      | 9.84            | 1.08  | 20.52  | 0.96  | 16.98  | 0.91  | 11.08          | 2.32  | 12.70  | 1.74  | 10.59  | 1.28  |
| Thymol                       | 10.67     | 1.59            | 0.17  | 6.65   | 0.36  | 9.43   | 0.60  | 1.65           | 0.34  | 4.78   | 0.75  | 8.77   | 1.27  |
| Carvacrol                    | 13.29     | 1.68            | 0.14  | 10.38  | 0.47  | 11.90  | 0.63  | 2.19           | 0.38  | 6.41   | 0.85  | 11.66  | 1.41  |



**Table 4** Effetto dei vapori di EOs sulla lunghezza del tubo di germinazione

|                        | <i>M. fructicola</i>        |   | <i>B. cinerea</i>           |     |
|------------------------|-----------------------------|---|-----------------------------|-----|
|                        | germ tube ( $\mu\text{m}$ ) |   | germ tube ( $\mu\text{m}$ ) |     |
| <b>Controllo</b>       | 10.5                        | b | 212.7                       | c   |
| <b>Timo 1%</b>         | 8.0                         | a | 208.5                       | bc  |
| <b>Timo 10%</b>        | 6.5                         | a | 190.9                       | ab  |
| <b>Santoreggia 1%</b>  | 8.6                         | a | 165.6                       | abc |
| <b>Santoreggia 10%</b> | 5.8                         | a | 109.9                       | a   |

I valori medi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05$

**Tabella 5** Calo peso di nettarine ‘Sweet Red’ e pesche ‘Vista Rich’

| Frutto    | Trattamento                 | Tempo di conservazione (giorni) |         |        |        |              |
|-----------|-----------------------------|---------------------------------|---------|--------|--------|--------------|
|           |                             | 7                               | 14      | 21     | 28     | 5 shelf life |
| Nettarine | Controllo                   | 0.55 ab                         | 0.82 a  | 1.06 a | 1.29 a | 10.7 a       |
| Nettarine | <i>Thymus vulgaris</i> 1%   | 0.80 a                          | 1.00 a  | 1.20 a | 1.35 a | 9.01 b       |
| Nettarine | <i>Thymus vulgaris</i> 10%  | 0.69 ab                         | 0.85 a  | 1.04 a | 1.20 a | 9.22 ab      |
| Nettarine | <i>Satureja montana</i> 1%  | 0.55 ab                         | 0.79 a  | 1.00 a | 1.15 a | 9.46 ab      |
| Nettarine | <i>Satureja montana</i> 10% | 0.49 b                          | 0.72 b  | 0.94 a | 1.16 a | 9.49 ab      |
| Pesche    | Controllo                   | 1.55 a                          | 1,91 a  | 2.16 a | 2.51 a | -            |
| Pesche    | <i>Thymus vulgaris</i> 1%   | 1.31 a                          | 1,42 c  | 1.72 c | 1.81 c | -            |
| Pesche    | <i>Thymus vulgaris</i> 10%  | 0.99 b                          | 1.26 d  | 1.49 d | 1.61 c | -            |
| Pesche    | <i>Satureja montana</i> 1%  | 1.39 a                          | 1.73 b  | 1.97 b | 2.10 b | -            |
| Pesche    | <i>Satureja montana</i> 10% | 1.54 a                          | 1.77 ab | 1.97 b | 2.10 b | -            |

I valori medi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05$

**Tabella 6** Cambiamenti di parametri di colore (luminosità e tinta) in nettarine con i differenti trattamenti durante la conservazione

| Parametro colore | Trattamenti | Tempo di conservazione (giorni) |         |          |          |          |              |          |
|------------------|-------------|---------------------------------|---------|----------|----------|----------|--------------|----------|
|                  |             | 0                               | 7       | 14       | 21       | 28       | 5 shelf life |          |
| Luminosità (L*)  | GC          | Controllo                       | 68.70 a | 67.86 a  | 67.78 a  | 68.6 a   | 68.28 a      | 63.71 b  |
|                  | GC          | <i>Thymus vulgaris</i> 1%       | 67.75 a | 65.38 a  | 65.64 a  | 67.57 a  | 65.97 ab     | 64.96 ab |
|                  | GC          | <i>Thymus vulgaris</i> 10%      | 67.67 a | 65.32 a  | 65.37 a  | 67.17 a  | 65.64 b      | 64.07 ab |
|                  | GC          | <i>Satureja montana</i> 1%      | 68.79 a | 65.55 a  | 66.81 a  | 67.18 a  | 67.67ab      | 67.75 a  |
|                  | GC          | <i>Satureja montana</i> 10%     | 68.38 a | 66.85 a  | 65.79 a  | 67.84 a  | 68.14 ab     | 66.78 ab |
| Tinta (h)        | GC          | Controllo                       | 82.44 a | 86.25 a  | 83.73 a  | 84.12 a  | 84.25 a      | 66.16 a  |
|                  | GC          | <i>Thymus vulgaris</i> 1%.      | 80.28 a | 79.73 b  | 78.39 a  | 77.91 b  | 78.98 ab     | 66.50 a  |
|                  | GC          | <i>Thymus vulgaris</i> 10%.     | 78.76 a | 75.11 b  | 79.01 a  | 77.74 b  | 78.03 b      | 69.73 a  |
|                  | GC          | <i>Satureja montana</i> 1%      | 81.59 a | 79.55 b  | 79.37 a  | 81.31 ab | 81.82 ab     | 70.29 a  |
|                  | GC          | <i>Satureja montana</i> 10%     | 83.24 a | 81.47 ab | 81.43 a  | 81.35 ab | 77.94 b      | 72.89 a  |
| Luminosità (L*)  | OC          | Controllo                       | 40.20 a | 48.11 a  | 41.64 a  | 38.34 b  | 39.79 a      | 44.19 ab |
|                  | OC          | <i>Thymus vulgaris</i> 1%       | 44.73 a | 46.96 a  | 39.00 ab | 42.03 a  | 40.12 a      | 39.63 b  |
|                  | OC          | <i>Thymus vulgaris</i> 10%      | 40.16 a | 42.41 b  | 37.45 b  | 42.65 a  | 37.45 a      | 43.93 ab |
|                  | OC          | <i>Satureja montana</i> 1%      | 45.20 a | 43.14 b  | 37.54 b  | 35.68 b  | 38.76 a      | 48.14 a  |
|                  | OC          | <i>Satureja montana</i> 10%     | 39.34 a | 45.96 ab | 37.81 ab | 37.54 b  | 36.73 a      | 43.72 ab |

|       |    |                             |         |          |         |         |         |          |
|-------|----|-----------------------------|---------|----------|---------|---------|---------|----------|
| Tinta | OC | Controllo                   | 20.28 a | 42.58 a  | 33.75 a | 27.32 b | 30.88 a | 29.58 ab |
| (h)   | OC | <i>Thymus vulgaris</i> 1%.  | 33.94 a | 41.84 ab | 32.78 a | 34.52 a | 31.80 a | 20.80 c  |
|       | OC | <i>Thymus vulgaris</i> 10%. | 25.68 a | 36.69 b  | 31.23 a | 29.67 b | 28.32 a | 28.27 bc |
|       | OC | <i>Satureja montana</i> 1%  | 33.49 a | 38.3 ab  | 30.79 a | 27.46 b | 29.16 a | 36.20 a  |
|       | OC | <i>Satureja montana</i> 10% | 25.19 a | 40.64 ab | 33.05 a | 28.48 b | 27.07 a | 27.47 bc |

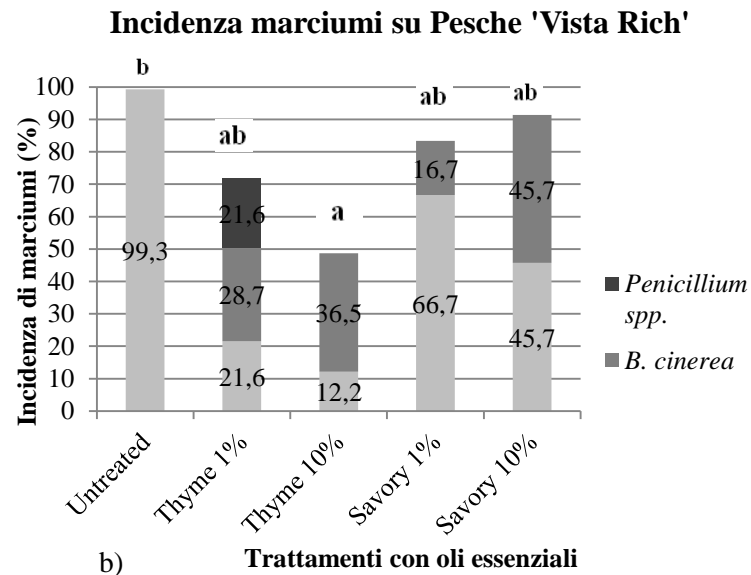
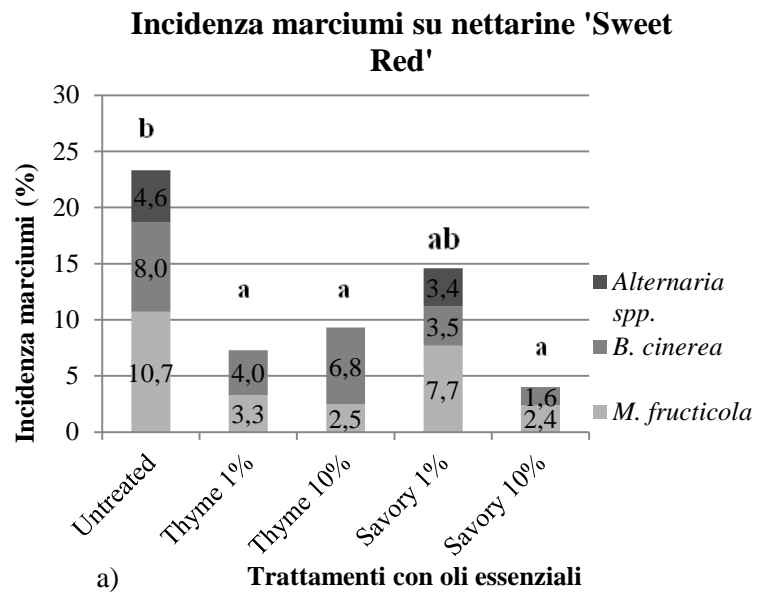
Nettarine ‘Sweet Red’: GC: colore di fondo; OC: sovracoloro. I valori medi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05$ . Lettere sulla stessa colonna sono utilizzate per comparare l’influenza del trattamento.

**Tabella 7** Cambiamenti di parametri di colore (luminosità e tinta) in pesche con differenti trattamenti durante la conservazione

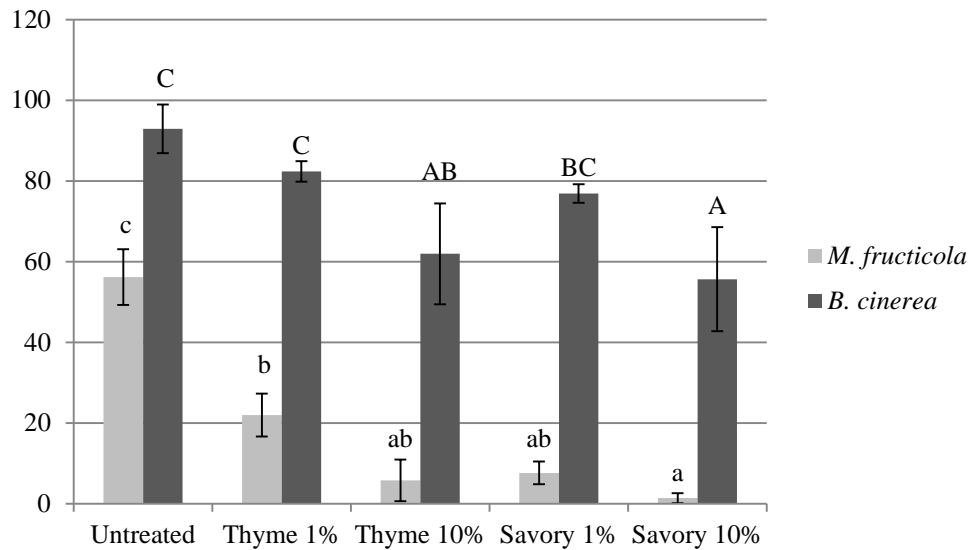
| Parametri colore   |    |                             | Tempo di conservazione (giorni) |          |          |         |         |
|--------------------|----|-----------------------------|---------------------------------|----------|----------|---------|---------|
| Trattamento        |    |                             | 0                               | 7        | 14       | 21      | 28      |
| Luminosità<br>(L*) | GC | Controllo                   | 49.16 a                         | 49.30 a  | 49.42 b  | 54.45 a | 53.44 a |
|                    | GC | <i>Thymus vulgaris</i> 1%   | 49.42 a                         | 50.50 a  | 51.72 ab | 54.24 a | 52.97 a |
|                    | GC | <i>Thymus vulgaris</i> 10%  | 49.43 a                         | 51.55 a  | 51.52 ab | 52.96 a | 53.61 a |
|                    | GC | <i>Satureja montana</i> 1%  | 49.62 a                         | 52.08 a  | 54.46 ab | 55.38 a | 55.20 a |
|                    | GC | <i>Satureja montana</i> 10% | 49.20 a                         | 51.07 a  | 54.46 a  | 54.04 a | 52.85 a |
| Tinta<br>(h)       | GC | Controllo                   | 43.12 a                         | 57.21 a  | 60.76 b  | 68.78 a | 65.62 a |
|                    | GC | <i>Thymus vulgaris</i> 1%   | 46.06 a                         | 63.87 a  | 67.13 ab | 70.48 a | 64.16 a |
|                    | GC | <i>Thymus vulgaris</i> 10%  | 52.56 a                         | 60.00 a  | 68.88 ab | 66.61 a | 66.40 a |
|                    | GC | <i>Satureja montana</i> 1%  | 52.84 a                         | 65.96 a  | 71.44 a  | 75.48 a | 71.30 a |
|                    | GC | <i>Satureja montana</i> 10% | 48.81 a                         | 59.94 a  | 69.11 ab | 69.25 a | 62.33 a |
| Luminosità<br>(L*) | OC | Controllo                   | 37.98 a                         | 41.38 c  | 43.23 a  | 45.56 a | 45.08 a |
|                    | OC | <i>Thymus vulgaris</i> 1%   | 36.56 a                         | 44.20 ab | 44.28 a  | 43.57 a | 45.39 a |
|                    | OC | <i>Thymus vulgaris</i> 10%  | 34.24 a                         | 44.79 ab | 43.09 a  | 45.12 a | 44.14 a |
|                    | OC | <i>Satureja montana</i> 1%  | 34.86 a                         | 45.30 a  | 42.15 a  | 43.93 a | 45.73 a |

|              |    |                             |         |          |         |         |         |
|--------------|----|-----------------------------|---------|----------|---------|---------|---------|
|              | OC | <i>Satureja montana</i> 10% | 33.79 a | 42.77 bc | 43.54 a | 43.74 a | 46.35 a |
| Tinta<br>(h) | OC | Controllo                   | 15.22 a | 35.06 bc | 36.60 a | 36.52 a | 34.26 a |
|              | OC | <i>Thymus vulgaris</i> 1%   | 18.45 a | 39.76 a  | 36.98 a | 35.14 a | 37.52 a |
|              | OC | <i>Thymus vulgaris</i> 10%  | 17.25 a | 37.91 ab | 35.01 a | 37.18 a | 34.56 a |
|              | OC | <i>Satureja montana</i> 1%  | 22.42 a | 38.01 ab | 33.45 a | 35.07 a | 36.34 a |
|              | OC | <i>Satureja montana</i> 10% | 17.88 a | 32.04 c  | 35.02 a | 34.98 a | 35.70 a |

Pesche “Vista Rich”: GC: colore di fondo; OC: sovracoloro. I valori medi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05$ . Lettere sulla stessa colonna sono utilizzate per comparare l’influenza del trattamento.

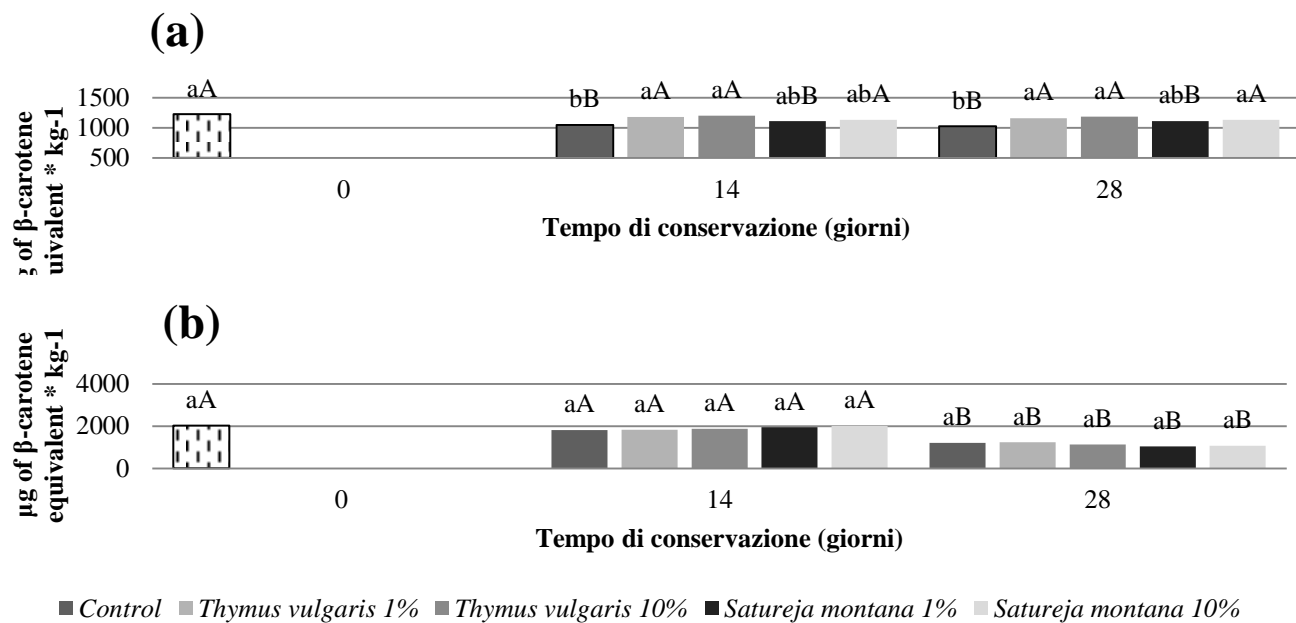


**Figura 1** Incidenza dei marciumi in nettarine ‘Sweet Red’ (a) e pesche ‘Vista Rich’ (b) trattate con biofumigazione di oli essenziali e percentuale di patogeni (%) alla fine del periodo di *shelf life* (5 giorni at 20 °C dopo 28 giorni di conservazione in cella refrigerata)

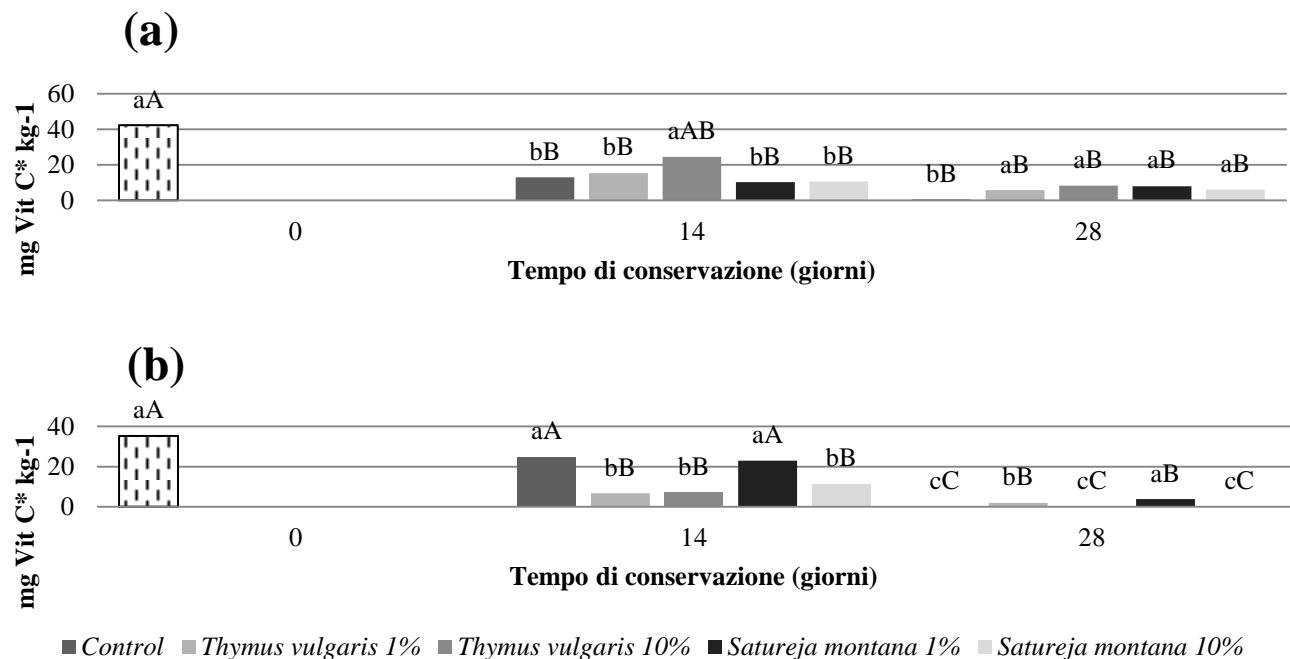


**Figura 2** Percentuale di germinazione dei conidi di *M. fructicola* (colonne grigie) e *B. cinerea* (colonne nere) dopo la biofumigazione senza il contatto diretto con oli essenziali *in vitro*.





**Figura 3.** Contenuto dei carotenoidi totali in nettarine 'Sweet Red' (a) e pesche 'Vista Rich' (b) dopo 0, 14 e 28 giorni di conservazione. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05$ . Le lettere maiuscole (A, B, C) vengono utilizzate per confrontare l'influenza del tempo di conservazione. Le lettere minuscole (a, b) vengono utilizzate per confrontare l'influenza del trattamento.



**Figura 4.** Contenuto totale di vitamina C (acido ascorbico e acido deidroascorbico) in nettarina 'Sweet Red' (a) e pesche 'Vista Rich' (b) dopo 0, 14 e 28 giorni di conservazione. I valori seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05$ . Le lettere maiuscole (A, B, C) vengono utilizzate per confrontare l'influenza del tempo di conservazione. Le lettere minuscole (a, b) vengono utilizzate per confrontare l'influenza del trattamento.

# **Trattamento a base di vapori di Oli essenziali (*Thymus vulgaris* e *Satureja montana*) sulla qualità di ciliegie (cv Ferrovia) durante la conservazione post raccolta**

## **SOMMARIO**

*Durante la conservazione, fenomeni legati a patogeni e alla naturale senescenza possono causare una diminuzione dei parametri qualitativi delle ciliegie. In questo lavoro sono stati valutati gli effetti di due diverse concentrazioni (4.5 mg ml<sup>-1</sup> e 18 mg ml<sup>-1</sup>) di oli essenziali di *T. vulgaris* e *S. montana* (trattamento a base di vapore) sulla qualità e sui parametri sensoriali delle ciliegie. I frutti sono stati conservati per 28 giorni in una cella frigorifera (1°C) a 90-95% RH. Dopo la conservazione a bassa temperatura, i frutti sono stati conservati per 3 giorni a 20°C.*

*Per quanto riguarda i risultati, è stato osservato che l'uso di oli essenziali riduce la perdita di peso e la perdita del contenuto di vitamina C. L'effetto di questi trattamenti sull'acidità titolabile e sul contenuto di solidi solubili totali è stato, invece, limitato. Inoltre, il vapore degli oli essenziali ha dimostrato la capacità di controllare i patogeni post raccolta sulle ciliegie anche senza contatto diretto, riducendo le perdite post raccolta fino a circa il 62% rispetto ai frutti non trattati. Infine, l'analisi sensoriale ha mostrato un effetto positivo sull'aspetto visivo, mentre ha evidenziato un effetto negativo sull'aroma e la comparsa di off flavours, principalmente per i campioni trattati con santoreggia.*

**Keywords:** biofumigazione, oli essenziali, santoreggia, ciliegia, timo

## INTRODUZIONE

Le ciliegie (*Prunus avium* L.) sono frutti molto importanti per una dieta sana, in particolare per il loro potere antiossidante e il contenuto vitaminico. Durante il periodo di conservazione, le affezioni fungine e i processi di senescenza possono ridurre i parametri di qualità del prodotto finale. Molte malattie provocate da agenti patogeni comuni influenzano la conservazione di ciliegie, in particolare *Monilinia laxa* (Aderh e Ruhl.) (marciume bruno), *Botrytis cinerea* Pers. (muffa grigia) e, con una minore incidenza, *Alternaria alternata* (Fr.:Fr.) Keissl. (marciume da Alternaria), *Penicillium expansum* Link (muffa blue), *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill. (marciume da Rhizopus) e *Cladosporium* spp. (marciume verde) (Ippolito *et al.*, 1997; Romanazzi *et al.*, 2016). La legislazione europea limita l'uso di fungicidi sintetici per controllare le malattie postraccolta (Reg. EU 396/2005). Per questa ragione, la ricerca si è focalizzata sullo sviluppo di una strategia innovativa e sostenibile per preservare la qualità della frutta e ridurre i rifiuti alimentari, utilizzando trattamenti a basso impatto ambientale.

Molti autori hanno riconosciuto gli oli essenziali (EO) come uno strumento importante per combattere le malattie postraccolta a causa delle loro proprietà antimicrobiche (Lopez-Reyes *et al.*, 2013; Burt, 2004; Sivakumar *et al.*, 2014). Le proprietà antimicrobiche sono il risultato della composizione chimica degli EO, ricchi di composti fenolici (carvacrolo e timolo principalmente); l'attività antimicrobica sembra essere collegata al danneggiamento della permeabilità della membrana citoplasmatica (Denyner e Hugo, 1991, Gustafson *et al.* 1998, Farag *et al.*, 1989; Dorman e Deans 2000; Juliano *et al.*, 2000; Lambert *et al.*, 2001). Inoltre, si suppone una correlazione positiva tra il numero di composti chimici e l'efficacia sul controllo degli agenti patogeni post raccolta (Gill *et al.*, 2002; Mourey e Canillac, 2002). Gli EO di *Thymus vulgaris* e *Satureja montana* sono principalmente composti da timolo e carvacrolo e i loro effetti antifungini sono stati studiati su molti frutti (Burt, 2004). Negli ultimi anni è

stata studiata l'efficacia del vapore di EO come biofumigante, l'uso del vapore è finalizzato a ridurre la fitotossicità e la modifica organolettica causata dal contatto diretto degli EO con i frutti (Calo *et al.*, 2015). In questo lavoro abbiamo studiato gli effetti degli Oli essenziali (EO) di *T. vulgaris* e *S. montana* mediante trattamento a vapore sui parametri di qualità e sulle caratteristiche sensoriali di ciliegie durante la conservazione in cella refrigerata e *shelf life*..

## **MATERIALI E METODI**

### *Materiale Vegetale*

Le ciliegie (cv. Ferrovia) sono state raccolte a mano a metà giugno da un frutteto sperimentale situato a Pecetto (Torino, Italia, 45 ° 01'21.4 "N 7 ° 44'44.5" E) e trasportate immediatamente al laboratorio del DISAFA, Università di Torino, durante l'estate 2016. Sono stati selezionati frutti senza difetti e sono stati collocati casualmente in contenitori plastici commerciali perforati in polietilene. Ciascun contenitore conteneva circa 50 frutti ed il suo peso era di circa 450 g. Poi i contenitori in plastica sono stati divisi in 5 gruppi: 1 controllo e 4 trattati (EO di timo, *T. vulgaris* e santoreggia, *S. montana*). I frutti sono stati trattati con due concentrazioni di oli essenziali e conservati per 28 giorni in una cella refrigerata (1 °C) a 90-95% RH. Dopo la conservazione in cella refrigerata, i frutti sono stati conservati per 3 giorni a 20 °C (*shelf life*).

### *Trattamento con oli essenziali e conservazione*

Gli EO di timo (*T. vulgaris*) e santoreggia (*S. montana*) utilizzati nella prova erano una preparazione commerciale fornita da Soave (Torino, Italia). I diffusori di EO sono stati ottenuti aggiungendo oli essenziali (10% v/v) in acqua deionizzata sterilizzata (88% v/v) con 15 g L<sup>-1</sup> agar agar (Merck) e Tween 20 (2% v/v) (Merck, Darmstadt, Germania) a 60 °C. Le emulsioni sono state versate in capsule petri e lasciate solidificare. Le concentrazioni inferiori di EO sono state ottenute per diluizioni successive. Dopo la solidificazione

dell'agar, i diffusori sono stati installati in box di conservazione sotto contenitori dei frutti. I trattamenti con vapore di oli essenziali sono stati effettuati a concentrazioni di 4.5 mg·ml<sup>-1</sup> e 18 mg·ml<sup>-1</sup>. I campioni sono stati identificati come:

Controllo – campioni di frutta non trattati;

T1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *T.vulgaris* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup> ;

T2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *T.vulgaris* 18 mg·ml<sup>-1</sup>;

S1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *S. montana* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>;

S2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *S.montana* 18 mg·ml<sup>-1</sup>.

Le analisi sono state effettuate settimanalmente durante la conservazione e dopo la *shelf life*.

### *Perdita di peso*

La perdita di peso è stata determinata pesando 2 cestini di plastica per trattamento all'inizio della prova e durante la conservazione (7, 14, 21 e 28 giorni di conservazione e dopo la *shelf life*). I valori sono stati riportati come percentuale di perdita di peso dal peso iniziale.

### *Misurazione di colore*

I parametri colorimetrici dei frutti sono stati misurati settimanalmente durante la conservazione in cella frigorifera, con un colorimetro Minolta (CR400, Konica Minolta Sensing, Inc. Osaka, Giappone), tarato su una piastra di taratura bianca standard e utilizzando la scala CIE L\*a\*b\* (luminosità, arrossamento, ingiallimento). Le misure sono state effettuate sui lati opposti di 15 frutti per trattamento.

### *Parametri qualitativi*

Il contenuto di solidi solubili totali (TSS) e l'acidità titolabile (TA) sono stati misurati ogni 7 giorni utilizzando il succo estratto da 100 g di ciliegie ottenuto in un omogeneizzatore. Per ogni trattamento sono state effettuate tre repliche.

La misura dei TSS è stata effettuata utilizzando un rifrattometro digitale (Atago rifrattometro modello PR-32; Atago Italia, Milano, Italia), mentre l'analisi della TA utilizzando un titolatore automatico (Titration workstation Titralab AT1000Series, Radiometer Analytical, Villeurbanne, Francia). Per il contenuto di solidi solubili totali i valori sono stati espressi in gradi brix. L'acidità titolabile, invece, è stata ottenuta con  $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  di NaOH ed è stata espressa come  $\text{meq}\cdot\text{L}^{-1}$ .

La vitamina C è stata estratta ed espressa come somma di acido ascorbico (AA) e acido deidroascorbico (DHAA). Per l'estrazione a 10 ml di solvente di estrazione (metanolo:acqua 5:95 v/v) sono stati aggiunti 10 g di polpa di 5 frutti per trattamento, i campioni sono stati omogenizzati con un T-25 Ultra-Turrax per 3 min. Quindi, il pH è stato corretto a 2.2-2.4 e l'estratto è stato separato con C18 Sep-Pak (Waters Associates, Milford, MA, USA). La soluzione risultante è stata aggiunta a 1,2-o-fenilendiamina dicloroidrato (Fluka Chemika, Neu-Ulm, Svizzera) e lasciata riposare per 37 minuti prima dell'analisi all'HPLC. Il contenuto di AA e DHAA è stato espresso in  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  di peso fresco. Sono state eseguite tre analisi ripetute per ciascun campione e il sistema cromatografico (Agilent) è stato associato ad una colonna Kinetex-C18 (4.6 x 150 mm, 5  $\mu\text{m}$ , Phenomenex, Torrance, CA, USA).

### *Analisi sensoriale*

Quindici assaggiatori addestrati, fra 25-50 anni, hanno eseguito la valutazione sensoriale. Per evitare la soggettività, tre campioni per ciascun trattamento e per ciascun assaggiatore sono stati presentati in vassoi codificati e la valutazione è stata effettuata a temperatura ambiente ( $24^\circ\text{C}$ ). Sono stati valutati l'aspetto visivo, la dolcezza, l'acidità, l'amarezza, la presenza / l'assenza di off flavours e off aroma utilizzando una scala edonica a cinque punti: 1 = scarso, 2 = medio, 3 = buono, 4 = molto buono e 5 = eccellente.

L'analisi sensoriale è stata realizzata dopo 14 e 28 giorni di conservazione in cella refrigerata con una scala graduata.

### *Incidenza della malattia e identificazione dei patogeni*

L'incidenza di frutti malati (%) è stata calcolata per ogni trattamento settimanalmente e dopo la *shelf life*. I patogeni sono stati isolati trasferendo parti di tessuti di frutta sintomatica, precedentemente lavati in ipoclorito di sodio 1% per evitare la contaminazione con spore fungine saprofiti o altri microorganismi presenti sulla superficie dei frutti e sciacquati in acqua sterile deionizzata, su piastre di potato dextrose agar (PDA, Merck) addizionate con 25 mg·L<sup>-1</sup> di solfato di streptomina (Merck). Agenti di marciume si sono sviluppati sul mezzo di coltura e una coltura di 7 giorni è stata usata per l'estrazione del DNA usando il kit EZNA Plant DNA (Omega Bio-Tek, Norcross, GA, USA). La ITS (internal transcribed spacer) del rDNA di isolati è stata amplificata utilizzando i primers ITS1 / ITS4 (White *et al.*, 1990). Gli ampliconi ITS sono stati sequenziati da BMR Genomics (Padova, Italia) e le sequenze di DNA sono state confrontate con quelle presenti nel database del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Bethesda, Maryland, USA).

### *Analisi statistica*

Sui dati è stata eseguita l'analisi della varianza (ANOVA) utilizzando SPSS (versione 24 IBM, Armonk, New York, USA). Le differenze significative (LSD) con un livello significativo di 0.05 sono state utilizzate per confrontare le medie dei trattamenti con il test di Tukey. I valori medi sono stati considerati significativamente diversi a  $P \leq 0.05$ . Le fonti di varianza erano i trattamenti e i giorni di conservazione.



## RISULTATI E DISCUSSIONE

### *Calo peso*

Sono state osservate differenze significative tra i campioni trattati con oli essenziali e il controllo (Tabella 1). La perdita di peso ha mostrato differenze statistiche tra i trattamenti durante la conservazione. Dopo 7, 14, 21 e 28 giorni abbiamo osservato che i campioni biofumigati con oli essenziali presentavano una perdita di peso minore rispetto ai campioni di controllo, in particolare S2 e T1 hanno evidenziato i valori più bassi durante la *shelf life* a 20 °C. Questo è in accordo con gli studi di Martínez-Romero *et al.*, (2005) e Serrano *et al.*, (2005) su uve e ciliegie trattate con vapori di timolo, eugenolo e mentolo. Risultati simili sono stati riportati nelle review di Sivakumar e Bautista-Banos (2014), su ciliegie (Serrano *et al.*, 2005), su uva da tavola 'Crimson Seedless' (Valverde *et al.*, 2005) e 'Autumn Royal' (Valero *et al.*, 2006) e su pesche (Montero-Prado *et al.*, 2011). Valutando il tempo di conservazione per ciascun trattamento, abbiamo osservato una perdita di peso più elevata alla fine della conservazione e nel campione di controllo. Le differenze di calo peso tra i campioni sono state causate probabilmente da fattori diversi: i vapori di EO sembrano agire sul processo di disidratazione e sulla perdita di peso (Valverde *et al.*, 2005). Tuttavia, il meccanismo specifico coinvolto nella riduzione della perdita di peso è ancora sconosciuto (Sivakumar e Bautista Banos, 2014). Durante il nostro esperimento non è stato preso in considerazione l'effetto del trattamento sul quoziente respiratorio e sulla traspirazione, comunque è possibile ipotizzare un effetto del trattamento su entrambi.

### *Colore*

Il colore dei frutti dipende in particolare dalla degradazione delle antocianine che sono composti fenolici (flavonoidi) e dal metabolismo respiratorio (Mozetic *et al.*, 2004; Viljevac *et al.*, 2012). I parametri di colore utilizzati sono stati quelli di luminosità L\* e a\* (Tabella 2). Durante la frigoconservazione non sono state osservate differenze significative per il

parametro  $L^*$  tra i trattamenti, mentre sono state osservate differenze dopo la *shelf life* a 20 °C. Infatti, dopo la *shelf life*, i valori più elevati di luminosità sono stati osservati nei campioni T1, S1 e S2. Valutando il cambiamento della luminosità durante la frigoconservazione abbiamo osservato una lieve diminuzione di questo parametro in tutti i trattamenti (eccetto nei campioni di controllo, T1 e T2) ed è stata registrata una diminuzione più elevata alla fine dell'esperimento su campioni di S1.

Per quanto riguarda il parametro  $a^*$ , l'indicatore di rosso, abbiamo trovato differenze significative durante la frigoconservazione. In particolare, i risultati hanno mostrato che i campioni T1 e S2 avevano valori superiori agli altri trattamenti dopo 7, 14 e 21 giorni; dopo 28 giorni i campioni T1 sono risultati essere statisticamente differenti da S1. Al contrario, non abbiamo osservato differenze tra i trattamenti dopo la *shelf life*. Durante la conservazione, c'è stata una diminuzione dei valori di  $a^*$  in tutti i campioni.

Il trattamento con oli essenziali non sembra avere avuto alcun effetto sul parametro  $L^*$  durante la frigoconservazione mentre è stato osservato un effetto dopo 3 giorni di *shelf life*. Probabilmente l'efficacia della temperatura nel ritardare la perdita di luminosità è superiore a quella di un olio essenziale, come dimostrato da Bernalte *et al.* (2003). L'efficacia degli oli essenziali emerge dopo la *shelf life* come probabile conseguenza di un rallentamento del processo di maturazione (Valero *et al.*, 2006).

La variazione del parametro di colore  $a^*$  è strettamente legata alla degradazione di antocianine e acidi idrossicinnamici (Mozetic *et al.*, 2004). Le antocianine sono composti labili che sono soggetti a reazioni degradative. La loro struttura e la matrice in cui si trovano, sono responsabili della loro stabilità. Durante la conservazione della frutta, ci sono molti fattori che condizionano le antocianine come pH, luce e temperatura. L'aumento del pH potrebbe essere causa di degradazione del pigmento e di solito ciò è una conseguenza del metabolismo respiratorio (Laleh *et al.*, 2006).

L'attività degli enzimi polifenolossidasi, perossidasi e glicosidasi può anche avere un effetto devastante sulle antocianine. Questi enzimi potrebbero essere presenti sui tessuti delle ciliegie oppure potrebbero provenire dalla contaminazione da muffa. La diminuzione del parametro  $a^*$ , trovata in questo lavoro, potrebbe essere attribuita a tutte queste cause.

Valero *et al.*, (2006) hanno osservato su campioni trattati di uva un effetto simile e, in particolare, un'accelerazione nella perdita di pigmento nel controllo rispetto alle bacche trattate con oli essenziali. Gli autori hanno suggerito che i minor cambiamenti di colore nei campioni trattati (T1 e S2) potrebbero essere correlati ad un ritardo nel processo di maturazione associato a una riduzione della contaminazione da muffe.

### *Parametri di qualità*

Abbiamo valutato durante la conservazione il contenuto di TA, TSS e vitamina C (Tabella 3). Per quanto riguarda l'acidità, sono state osservate differenze significative dopo 14 giorni, quando il valore più basso è stato rilevato sui trattamenti T2 e S1, e dopo 21 giorni, quando il trattamento con i valori più alti di TA è stato S2. Al contrario, non sono state rilevate differenze significative tra i campioni al termine della prova. Per quanto riguarda la conservazione, abbiamo osservato una significativa diminuzione di TA in tutti i campioni e nei campioni di controllo sono stati rilevati i valori più bassi.

L'analisi del TSS ha mostrato differenze statisticamente rilevanti tra i trattamenti dopo 7 e 14 giorni e dopo la *shelf life*. In particolare, abbiamo osservato differenze significative dopo 7 giorni tra il controllo e S2, mentre dopo 14 giorni ci sono state differenze tra il controllo e gli altri trattamenti; infine dopo la *shelf life* ci sono state differenze tra il controllo e i campioni T2 ed S2.

Le ciliegie hanno mostrato un aumento di TSS durante la frigoconservazione. Una diminuzione graduale del peso, collegata ad un aumento del TSS, è un processo caratteristico durante la conservazione (Kulkarni e Aradhya, 2005;

Wani *et al.*, 2014). L'acidità titolabile e il contenuto di solidi solubili totali sono misure dello stadio di maturazione dei frutti e una diminuzione dell'acidità è stata riconosciuta come una conseguenza dell'utilizzo degli acidi organici come substrati per il metabolismo respiratorio (Valero e Serrano, 2010). In particolare è noto che l'aumento del TSS è connesso con una diminuzione del peso dei frutti causata dalla perdita di acqua e dal tasso di respirazione (Kulkarni e Aradhya 2005; Serrano *et al.*, 2005; Wani *et al.*, 2014).

Nel nostro studio abbiamo osservato che, per TA, il trattamento S2 ha mantenuto sempre i valori più alti mentre, per quanto riguarda la TSS, i valori più alti sono stati sempre nei campioni di controllo. Questo risultato ha mostrato che il trattamento con oli essenziali ad alte concentrazioni sembra agire sulla perdita di acqua, come osservato da Valverde *et al.*, (2005) e Sivakumar e Bautista Banos (2014), e sul metabolismo respiratorio. I valori ottenuti, infatti, sono strettamente correlati alla perdita di peso (tabella 1) e sono in accordo con i risultati di Martinez-Romero *et al.*, (2005) e Serrano *et al.*, (2005).

Per quanto riguarda il contenuto di vitamina C, dopo 14 e 28 giorni, le ciliegie non trattate con EO contenevano rispettivamente 118.3 e 90.0 mg di vitamina C  $\text{kg}^{-1}\text{FW}$ ; la fumigazione con oli essenziali sembra aver causato una diminuzione più lenta del contenuto totale di vitamina C nei trattamenti T2 e S2 rispetto ai campioni di controllo. È noto che il contenuto della vitamina C diminuisce durante la frigoconservazione perché l'AA e l'DHAA sono importanti ossidanti utilizzati nella reazione ossidativa naturale delle cellule vegetali (Apel e Hirt, 2004). Abbiamo osservato durante la conservazione una diminuzione della vitamina C in tutti i campioni, ma i campioni T2, S1 e S2 hanno evidenziato le più basse perdite di vitamina C. La ragione di ciò è legata alle proprietà antiossidanti degli oli essenziali che inibiscono il consumo di vitamina C e al rallentamento del tasso di respirazione (Kao *et al.*, 2012; Wang

*et al.*, 2008). Inoltre alcuni composti degli oli essenziali (come il timolo) hanno mostrato proprietà antiossidanti più pronunciate di altri (Wang *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2008) e le concentrazioni più elevate di EO sono state probabilmente le più efficaci.

### *Analisi sensoriale*

Nella valutazione sensoriale abbiamo considerato gli effetti degli EO su parametri qualitativi differenti di ciliegie e la presenza/assenza di off flavours e aromi anomali dopo 14 e 28 giorni (Tabella 4). Per quanto riguarda l'aspetto visivo, abbiamo osservato che tutti i trattamenti avevano valori superiori a 3.0 (medio) e in particolare i campioni di controllo e T2 raggiungevano valori prossimi a 4.0 (alti) dopo 28 giorni. Per quanto riguarda la dolcezza, i risultati ottenuti mostrano valori medi in tutti i trattamenti eccetto dopo 14 giorni in T2 e S1 e dopo 4 settimane in S2, trattamento in cui sono stati registrati i valori più bassi. La valutazione di acidità e amarezza ha fatto rilevare valori bassi in tutti i campioni di ciliegie. Il gruppo di assaggiatori ha rilevato che le ciliegie raggiungevano un punteggio di accettabilità medio dopo 2 settimane nel controllo e nei campioni S2 e dopo 4 settimane nel controllo, in T2 e T1. Purtroppo, la presenza di off flavours e off aroma è stata identificata come un problema per i campioni trattati, soprattutto dopo 14 giorni di conservazione. L'analisi sensoriale ha mostrato che i trattamenti degli EO non influenzano l'aspetto visivo mentre la dolcezza, l'acidità e l'amarezza possono essere influenzati positivamente dopo 14 e 28 giorni di frigoconservazione. Tuttavia gli assaggiatori hanno segnalato la presenza di off flavours e off aroma dopo 14 e 28 giorni nei campioni S1 e S2. Questa presenza ha causato un punteggio finale "basso". Probabilmente, la lunga esposizione agli EO potrebbe aver lasciato residui di EO sui frutti e questo potrebbe aver causato una modifica del metabolismo e uno sviluppo di composti responsabili di off flavours e off aroma (Perdones *et al.*, 2012). Un risultato simile è stato riportato dalla ricerca di Bakkali *et al.* (2008) che ha osservato che l'effetto degli EO sul profilo

aromatico è uno dei problemi più comunemente incontrati nell'applicazione degli EO nell'industria alimentare (Sivakumar e Bautista Banos 2014).

### *Incidenza delle patologie post raccolta*

In questo lavoro è stato dimostrato l'effetto della biofumigazione mediante oli essenziali sullo sviluppo dei patogeni post raccolta. Gli oli essenziali di timo e santoreggia hanno ridotto l'incidenza di patologie durante la *shelf-life* rispetto al frutto non trattato. Nella frigoconservazione, lo sviluppo di patogeni è stato molto basso (Tabella5) e il controllo degli agenti patogeni è stato ottenuto principalmente grazie alla bassa temperatura. Durante i 28 giorni a 1°C, non sono state rilevate differenze tra i trattamenti a base di oli essenziali (bassa incidenza di marciumi). Lo sviluppo dei patogeni è avvenuto principalmente a 20 °C durante la *shelf life*. La biofumigazione a base di oli essenziali di santoreggia, alla massima concentrazione, ha causato una riduzione dei marciumi del 42.9% rispetto al controllo non trattato, e una riduzione del 33.3% se utilizzata alla concentrazione di 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>. Il trattamento più efficace è stato quello con olio essenziale di timo al 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>, che ha portato ad una riduzione di frutti malati del 61.9% rispetto al controllo. In accordo con Kumar *et al.* (2008), l'olio essenziale di *Thymus vulgaris* può essere considerato un conservante naturale ideale per il miglioramento della *shelf life* dei prodotti alimentari. Tuttavia, la concentrazione di EO di timo deve essere attentamente monitorata poiché elevate quantità di olio essenziale portano ad una riduzione dell'efficacia nel controllo di marciumi post raccolta. Non è stato osservato alcun evidente effetto fitotossico nell'esperimento, ma l'elevata quantità di timo EO (18 mg·ml<sup>-1</sup>) può portare ad una più alta suscettibilità agli attacchi degli agenti patogeni. Come riportato da Chu *et al.* (2001) e Tsao e Zhou (2000), il timolo ha mostrato un leggero effetto

fitotossico quando usato in  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  causando un imbrunimento del picciolo delle ciliegie.

Le ciliegie sono state colpite da *M. fructicola* e *B. cinerea*; in particolare, la biofumigazione con EO ha ridotto i marciumi totali e l'incidenza relativa di *M. fructicola*, indicando una maggiore efficacia rispetto a questo patogeno. La *M. fructicola* è stata isolata dal 91% di frutti colpiti e non trattati, mentre il 9% di frutta è stata colpita da *B. cinerea*. La percentuale di *marciume bruno* nei frutti fumigati è variata del 77%, utilizzando il timo EO  $18 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  di, e del 66,6% utilizzando il timo EO  $4.5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

## CONCLUSIONI

I risultati hanno mostrato che l'uso di oli essenziali nella conservazione delle ciliegie post raccolta ha diminuito la perdita di peso e la perdita di contenuto della vitamina C. L'effetto di questi trattamenti sull'acidità titolabile e sui solidi solubili totali è stato limitato: i trattamenti più efficaci sono stati quelli con elevata concentrazione di oli essenziali (santoreggia  $18 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Probabilmente gli EO hanno contribuito a ridurre il metabolismo respiratorio con il conseguente mantenimento di un migliore colore rosso (timo  $4.5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ , santoreggia  $18 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ). Gli oli essenziali vaporizzati hanno dimostrato efficacia nel controllare i patogeni post raccolta sulle ciliegie anche senza contatto diretto, riducendo i marciumi fino a circa il 62% rispetto ai frutti non trattati.

Infine, l'analisi sensoriale ha mostrato un effetto positivo sull'aspetto visivo, mentre ha evidenziato un effetto negativo su off flavours e off aroma, soprattutto per i campioni trattati con santoreggia. In questo senso, ulteriori studi dovrebbero essere condotti per ottenere un compromesso tra l'efficacia antimicrobica e l'impatto sensoriale, come osservato anche da Perdones *et al.*, (2012).

In conclusione, il trattamento con olio essenziale potrebbe essere utilizzato per la conservazione post-raccolta delle ciliegie per preservare la qualità del

prodotto finale contro l'azione negativa degli agenti patogeni alimentari, in particolare durante la *shelf life*; al medesimo tempo, questi trattamenti potrebbero influenzare negativamente l'analisi sensoriale del prodotto finale a causa dell'interazione del profilo aromatico tra frutta e oli essenziali.

Infine, future ricerche dovranno essere effettuate per valutare l'effetto dei trattamenti analizzati sul tasso respiratorio e sulla traspirazione dei campioni in relazione all'effetto inibitorio sulla crescita microbica.

## **BIBLIOGRAFIA**

Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 46(2), 446-475.

Bernalte, M. J., Sabio, E., Hernandez, M. T., & Gervasini, C. (2003). Influence of storage delay on quality of 'Van'sweet cherry. *Postharvest Biology and Technology*, 28(2), 303-312.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.

Calo, J. R., Crandall, P. G., O'Bryan, C. A., & Ricke, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems—A review. *Food Control*, 54, 111-119.

Chu, C., Liu, W., Zhou, T. (2001). Fumigation of sweet cherries with thymol and acetic acid to reduce postharvest brown rot and blue mold rot. *Fruits*, 56, 123–130.

Denyer, S. P., & Hugo, W. B. (1991). Biocide-induced damage to the bacterial cytoplasmic membrane. *Society for Applied Bacteriology. Technical Series*, 27, 171-187.



- Dorman, H. J. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316.
- Farag, R. S., Daw, Z. Y., & Abo-Raya, S. H. (1989). Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. *Journal of Food Science*, 54(1), 74-76.
- Gill, A. O., Delaquis, P., Russo, P., & Holley, R. A. (2002). Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *International journal of food microbiology*, 73(1), 83-92.
- Gustafson, J. E., Liew, Y. C., Chew, S., Markham, J., Bell, H. C., Wyllie, S. G., & Warmington, J. R. (1998). Effects of tea tree oil on *Escherichia coli*. *Letters in applied microbiology*, 26(3), 194-198.
- Ippolito, A., Baruzzi, F., Nigro, F., & Salerno, M. (1997). Indagine preliminari sui marciumi postraccolta delle ciliegie in Puglia e tentativi di lotta biologica. *Proceedings Convegno Nazionale del Ciliegio, Valenzano (Ba), Italy*, 505.
- Juliano, C., Mattana, A., & Usai, M. (2000). Composition and in vitro antimicrobial activity of the essential oil of *Thymus herba-barona* Loisel growing wild in Sardinia. *Journal of Essential Oil Research*, 12(4), 516-522.
- Kao, M. W. S., Brecht, J. K., Williamson, J. G., & Huber, D. J. (2012). Ripening development and quality of melting and non-melting flesh peach cultivars. *HortScience*, 47(7), 879-885.
- Kulkarni, A. P., & Aradhya, S. M. (2005). Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food chemistry*, 93(2), 319-324.
- Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Prasad, C.S., & Dubey, N.K. (2008). Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. *Innovative Food Science and emerging Technology*, 9, 575-580.

- Laleh, G. H., Frydoonfar, H., Heidary, R., Jameei, R., & Zare, S. (2006). The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four Berberis species. *Pakistan J Nutr*, 5(1), 90-92.
- Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology*, 91(3), 453-462.
- Lopez-Reyes, J. G., Spadaro, D., Prella, A., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2013). Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits in vivo. *Journal of food protection*, 76(4), 631-639.
- Martinez-Romero, D., Castillo, S., Valverde, J. M., Guillen, F., Valero, D., & Serrano, M. (2005). The use of natural aromatic essential oils helps to maintain post-harvest quality of 'Crimson' table grapes. *Acta horticultrae*. 682, 1723–1729.
- Montero-Prado, P., Rodriguez-Lafuente, A., & Nerin, C. (2011). Active label-based *packaging* to extend the shelf-life of “Calanda” peach fruit: Changes in fruit quality and enzymatic activity. *Postharvest Biology and Technology*, 60(3), 211-219.
- Mourey, A., & Canillac, N. (2002). Anti-Listeria monocytogenes activity of essential oils components of conifers. *Food Control*, 13(4), 289-292.
- Mozetič, B., Trebše, P., Simčič, M., & Hribar, J. (2004). Changes of anthocyanins and hydroxycinnamic acids affecting the skin colour during maturation of sweet cherries (*Prunus avium* L.). *LWT-Food Science and Technology*, 37(1), 123-128.
- Perdones, A., Sánchez-González, L., Chiralt, A., & Vargas, M. (2012). Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 70, 32-41.
- Romanazzi, G., Smilanick, J. L., Feliziani, E., & Droby, S. (2016). Integrated

management of postharvest gray mold on fruit crops. *Postharvest Biology and Technology*, 113, 69-76.

Serrano, M., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Guillén, F., & Valero, D. (2005). The use of natural antifungal compounds improves the beneficial effect of MAP in sweet cherry storage. *Innovative food science & emerging technologies*, 6(1), 115-123.

Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2014). A review on the use of essential oils for postharvest decay control and maintenance of fruit quality during storage. *Crop Protection*, 64, 27-37.

Tsao, R., & Zhou, T. (2000). Interaction of monoterpenoids, methyl jasmonate, and Ca<sup>2+</sup> in controlling postharvest brown rot of sweet cherry. *HortScience* 35, 1304–1307.

Valero, D., & Serrano, M. (2010). Postharvest biology and technology for preserving fruit quality. CRC press.

Valero, D., Valverde, J. M., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., & Serrano, M. (2006). The combination of modified atmosphere *packaging* with eugenol or thymol to maintain quality, safety and functional properties of table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, 41(3), 317-327.

Valverde, J.M., Guillén, F., Martínez-Romero, D., Castillo, S., Serrano, M., & Valero, D. (2005). Improvement of table grapes quality and safety by the combination of modified atmosphere *packaging* (MAP) and eugenol, menthol or thymol. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 53, 7458–7464

Viljevac, M., Dugalić, K., Jurković, V., Mihaljević, I., Tomaš, V., Puškar, B., ... & Jurković, Z. (2012). Relation between polyphenols content and skin colour in sour cherry fruits. *Journal of Agricultural Sciences, Belgrade*, 57(2), 57-67.

Wang, C. Y., Wang, S. Y., & Chen, C. (2008). Increasing antioxidant activity and reducing decay of blueberries by essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(10), 3587-3592.

Wang, C. Y., Wang, S. Y., Yin, J. J., Parry, J., & Yu, L. L. (2007). Enhancing antioxidant, antiproliferation, and free radical scavenging activities in strawberries with essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(16), 6527-6532.

Wani, A. A., Singh, P., Gul, K., Wani, M. H., & Langowski, H. C. (2014). Sweet cherry (*Prunus avium*): Critical factors affecting the composition and shelf life. *Food Packaging and Shelf life*, 1(1), 86-99

## TABELLE E FIGURE

Tabella 1. Calo peso (%) delle ciliegie

| Tempo di conservazione | 7 d (1 °C)               | 14 d (1 °C)               | 21 d (1 °C)               | 28 d (1 °C)              | 3 d (20 °C)            |
|------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------|
| <b>Calo peso (%)</b>   |                          |                           |                           |                          |                        |
| Controllo              | 0.8 ± 0.1 <sup>aC</sup>  | 0.9 ± 0.0 <sup>aB</sup>   | 1.0 ± 0.0 <sup>aAB</sup>  | 1.1 ± 0.1 <sup>aA</sup>  | 2.8 ± 0.2 <sup>a</sup> |
| T1                     | 0.5 ± 0.0 <sup>bC</sup>  | 0.7 ± 0.0 <sup>bB</sup>   | 0.7 ± 0.0 <sup>bB</sup>   | 0.8 ± 0.0 <sup>bA</sup>  | 2.4 ± 0.1 <sup>a</sup> |
| T2                     | 0.6 ± 0.1 <sup>bB</sup>  | 0.7 ± 0.1 <sup>bB</sup>   | 0.9 ± 0.1 <sup>abAB</sup> | 0.9 ± 0.1 <sup>abA</sup> | 2.5 ± 0.2 <sup>a</sup> |
| S1                     | 0.7 ± 0.0 <sup>abC</sup> | 0.8 ± 0.0 <sup>abBC</sup> | 0.9 ± 0.1 <sup>aAB</sup>  | 1.0 ± 0.1 <sup>abA</sup> | 2.7 ± 0.0 <sup>a</sup> |
| S2                     | 0.5 ± 0.1 <sup>bB</sup>  | 0.7 ± 0.1 <sup>bAB</sup>  | 0.7 ± 0.1 <sup>bA</sup>   | 0.8 ± 0.1 <sup>bA</sup>  | 2.6 ± 0.4 <sup>a</sup> |

Controllo – campioni di frutta non trattati; T1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *T.vulgaris* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>; T2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *T.vulgaris* 18 mg·ml<sup>-1</sup>; S1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *S. montana* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>; S2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *S.montana* 18 mg·ml<sup>-1</sup>. I valori medi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05$ . Le lettere maiuscole (A, B, C) nella stessa riga sono utilizzate per confrontare l'influenza del tempo di conservazione. Le lettere minuscole (a, b) nella stessa colonna sono utilizzate per confrontare l'influenza del trattamento.

Tabella 2. Cambiamenti dei parametri colorimetrici

| Tempo di conservazione | 0 d                         | 7 d (1 °C)                  | 14 d (1 °C)                  | 21 d (1 °C)                  | 28 d (1 °C)                 | 3 d (20 °C)                |
|------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| <b>Luminosità L*</b>   |                             |                             |                              |                              |                             |                            |
| Controllo              | 21.90 ± 3.61 <sup>aA</sup>  | 21.27 ± 3.46 <sup>aA</sup>  | 20.04 ± 2.81 <sup>aA</sup>   | 21.40 ± 2.54 <sup>aA</sup>   | 20.55 ± 2.59 <sup>aA</sup>  | 31.36 ± 7.96 <sup>b</sup>  |
| T1                     | 22.35 ± 2.92 <sup>aA</sup>  | 21.05 ± 2.67 <sup>aA</sup>  | 20.51 ± 2.48 <sup>aA</sup>   | 21.46 ± 2.51 <sup>aA</sup>   | 20.85 ± 2.32 <sup>aA</sup>  | 37.18 ± 3.15 <sup>a</sup>  |
| T2                     | 20.88 ± 2.35 <sup>aAB</sup> | 20.20 ± 2.30 <sup>aB</sup>  | 20.37 ± 1.80 <sup>aAB</sup>  | 21.76 ± 1.67 <sup>aA</sup>   | 20.13 ± 2.00 <sup>aB</sup>  | 30.28 ± 8.58 <sup>b</sup>  |
| S1                     | 23.13 ± 4.57 <sup>aA</sup>  | 20.45 ± 3.22 <sup>aBC</sup> | 19.64 ± 2.88 <sup>aC</sup>   | 22.10 ± 2.34 <sup>aAB</sup>  | 19.48 ± 2.47 <sup>aC</sup>  | 34.33 ± 6.31 <sup>ab</sup> |
| S2                     | 24.15 ± 4.34 <sup>aA</sup>  | 20.40 ± 3.16 <sup>aB</sup>  | 20.68 ± 2.62 <sup>aB</sup>   | 21.51 ± 2.50 <sup>aB</sup>   | 21.18 ± 2.84 <sup>aB</sup>  | 35.90 ± 4.08 <sup>a</sup>  |
| <b>a*</b>              |                             |                             |                              |                              |                             |                            |
| Controllo              | 30.70 ± 6.0 <sup>aA</sup>   | 29.31 ± 4.58 <sup>bAB</sup> | 29.80 ± 4.66 <sup>bA</sup>   | 25.74 ± 5.43 <sup>bcB</sup>  | 25.52 ± 5.77 <sup>abB</sup> | 10.44 ± 4.61 <sup>a</sup>  |
| T1                     | 33.45 ± 5.48 <sup>aA</sup>  | 33.55 ± 4.67 <sup>aA</sup>  | 32.18 ± 5.60 <sup>aA</sup>   | 29.76 ± 4.98 <sup>aAB</sup>  | 27.93 ± 6.04 <sup>aB</sup>  | 11.07 ± 5.37 <sup>a</sup>  |
| T2                     | 33.61 ± 4.53 <sup>aA</sup>  | 29.61 ± 3.52 <sup>bB</sup>  | 28.48 ± 3.73 <sup>bB</sup>   | 24.76 ± 3.58 <sup>bcC</sup>  | 25.10 ± 4.42 <sup>abC</sup> | 11.71 ± 3.94 <sup>a</sup>  |
| S1                     | 28.31 ± 5.81 <sup>aA</sup>  | 28.05 ± 6.23 <sup>bAB</sup> | 27.43 ± 5.53 <sup>bABC</sup> | 23.76 ± 5.13 <sup>cC</sup>   | 24.10 ± 5.36 <sup>bBC</sup> | 13.72 ± 7.12 <sup>a</sup>  |
| S2                     | 30.61 ± 6.33 <sup>aA</sup>  | 31.00 ± 4.83 <sup>abA</sup> | 30.11 ± 4.54 <sup>abAB</sup> | 27.37 ± 3.36 <sup>abAB</sup> | 26.85 ± 4.77 <sup>abB</sup> | 13.75 ± 6.46 <sup>a</sup>  |

Controllo – campioni di frutta non trattati; T1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *T.vulgaris* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>; T2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *T.vulgaris* 18 mg·ml<sup>-1</sup>; S1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *S. montana* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>; S2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *S.montana* 18 mg·ml<sup>-1</sup>. I valori medi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05$ . Le lettere maiuscole (A, B, C) nella stessa riga sono utilizzate per confrontare l'influenza del tempo di conservazione. Le lettere minuscole (a, b) nella stessa colonna sono utilizzate per confrontare l'influenza del trattamento.

Tabella 3. Cambiamenti dei parametri qualitativi.

| Tempo di conservazione                 | 0 d                          | 7 d (1 °C)                   | 14 d (1 °C)                  | 21 d (1 °C)                 | 28 d (1 °C)                  | 3 d (20 °C)                |
|--|------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| <b>TA (meq*L<sup>-1</sup>)</b>         |                              |                              |                              |                             |                              |                            |
| Controllo                              | 77.04 ± 8.99 <sup>aA</sup>   | 65.04 ± 4.55 <sup>aAB</sup>  | 63.41 ± 0.74 <sup>aBC</sup>  | 53.02 ± 0.14 <sup>cBC</sup> | 51.78 ± 2.47 <sup>aC</sup>   | 41.79 ± 2.2 <sup>a</sup>   |
| T1                                     | 77.04 ± 8.99 <sup>aA</sup>   | 63.05 ± 1.59 <sup>aB</sup>   | 60.07 ± 1.06 <sup>abB</sup>  | 56.26 ± 1.70 <sup>bcB</sup> | 53.59 ± 1.42 <sup>ab</sup>   | 44.20 ± 1.34 <sup>a</sup>  |
| T2                                     | 77.04 ± 8.99 <sup>aA</sup>   | 61.66 ± 3.11 <sup>aB</sup>   | 57.88 ± 3.05 <sup>bb</sup>   | 57.09 ± 2.19 <sup>bb</sup>  | 55.29 ± 3.04 <sup>aB</sup>   | 44.63 ± 3.78 <sup>a</sup>  |
| S1                                     | 77.04 ± 8.99 <sup>aA</sup>   | 61.63 ± 0.99 <sup>aB</sup>   | 57.96 ± 1.53 <sup>bb</sup>   | 55.95 ± 0.91 <sup>bcB</sup> | 53.52 ± 1.57 <sup>aB</sup>   | 43.46 ± 2.86 <sup>a</sup>  |
| S2                                     | 77.04 ± 8.99 <sup>aA</sup>   | 70.29 ± 7.00 <sup>aAB</sup>  | 62.79 ± 0.18 <sup>aAB</sup>  | 63.44 ± 2.58 <sup>aAB</sup> | 56.05 ± 2.37 <sup>aB</sup>   | 46.34 ± 1.95 <sup>a</sup>  |
| <b>TSSC (°Brix)</b>                    |                              |                              |                              |                             |                              |                            |
| Controllo                              | 13.40 ± 0.17 <sup>aB</sup>   | 14.70 ± 0.53 <sup>aA</sup>   | 15.20 ± 0.10 <sup>aA</sup>   | 15.23 ± 0.15 <sup>aA</sup>  | 15.50 ± 0.00 <sup>aA</sup>   | 15.90 ± 0.10 <sup>a</sup>  |
| T1                                     | 13.40 ± 0.17 <sup>aC</sup>   | 13.77 ± 0.67 <sup>abBC</sup> | 14.67 ± 0.29 <sup>abAB</sup> | 15.00 ± 0.44 <sup>aA</sup>  | 15.30 ± 0.10 <sup>aA</sup>   | 15.73 ± 0.12 <sup>ab</sup> |
| T2                                     | 13.40 ± 0.17 <sup>aC</sup>   | 13.53 ± 0.21 <sup>abC</sup>  | 14.13 ± 0.12 <sup>bcBC</sup> | 14.70 ± 0.53 <sup>aAB</sup> | 15.07 ± 0.06 <sup>aA</sup>   | 15.27 ± 0.06 <sup>b</sup>  |
| S1                                     | 13.40 ± 0.17 <sup>aC</sup>   | 14.33 ± 0.21 <sup>abB</sup>  | 14.40 ± 0.26 <sup>bcB</sup>  | 14.83 ± 0.06 <sup>aAB</sup> | 15.17 ± 0.06 <sup>aA</sup>   | 15.63 ± 0.06 <sup>ab</sup> |
| S2                                     | 13.40 ± 0.17 <sup>aB</sup>   | 13.70 ± 0.29 <sup>bb</sup>   | 13.80 ± 0.36 <sup>bb</sup>   | 14.50 ± 0.17 <sup>aA</sup>  | 14.87 ± 0.15 <sup>aA</sup>   | 15.20 ± 0.44 <sup>b</sup>  |
| <b>Vitamina C (mg*kg<sup>-1</sup>)</b> |                              |                              |                              |                             |                              |                            |
| Controllo                              | 172.10 ± 24.51 <sup>aA</sup> |                              | 118.3 ± 15.81 <sup>cb</sup>  |                             | 90.0 ± 8.68 <sup>bb</sup>    |                            |
| T1                                     | 172.10 ± 24.51 <sup>aA</sup> |                              | 129.5 ± 9.89 <sup>bcB</sup>  |                             | 90.5 ± 1.32 <sup>bc</sup>    |                            |
| T2                                     | 172.10 ± 24.51 <sup>aA</sup> |                              | 158.2 ± 1.27 <sup>aA</sup>   |                             | 112.6 ± 15.71 <sup>abB</sup> |                            |
| S1                                     | 172.10 ± 24.51 <sup>aA</sup> |                              | 152.9 ± 12.89 <sup>abA</sup> |                             | 96.7 ± 0.26 <sup>abB</sup>   |                            |
| S2                                     | 172.10 ± 24.51 <sup>aA</sup> |                              | 167.1 ± 3.65 <sup>aA</sup>   |                             | 116.8 ± 8.51 <sup>aB</sup>   |                            |

Controllo – campioni di frutta non trattati; T1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *T.vulgaris* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>; T2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *T.vulgaris* 18 mg·ml<sup>-1</sup>; S1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *S. montana* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>; S2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *S.montana* 18 mg·ml<sup>-1</sup>. I valori medi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente

diversi a livello  $P \leq 0.05$ . Le lettere maiuscole (A, B, C) nella stessa riga sono utilizzate per confrontare l'influenza del tempo di conservazione. Le lettere minuscole (a, b) nella stessa colonna sono utilizzate per confrontare l'influenza del trattamento



Tabella 4. Valutazione sensoriale delle ciliegie dopo 14 e 28 giorni di conservazione.

| Tempo di conservazione a 1 °C [d] | 14                   | 28          | 14          | 28          | 14          | 28          | 14          | 28          | 14                   | 28          | 14                                   | 28 | 14        | 28 |
|-----------------------------------|----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------------|-------------|--------------------------------------|----|-----------|----|
|                                   | Scala Graduata [1-5] |             |             |             |             |             |             |             |                      |             | Percentuali di risposte positive [%] |    |           |    |
|                                   | Aspetto visivo       |             | Dolcezza    |             | Acidità     |             | Amarezza    |             | Giudizio complessivo |             | Off flavours                         |    | Off aroma |    |
| Controllo                         | 3.80 ± 0.86          | 3.93 ± 0.88 | 3.40 ± 1.18 | 3.47 ± 0.83 | 2.27 ± 0.88 | 1.87 ± 0.74 | 1.33 ± 0.82 | 1.27 ± 0.59 | 3.27 ± 1.03          | 3.27 ± 0.88 | 13                                   | 7  | 20        | 0  |
| T1                                | 3.73 ± 0.80          | 3.73 ± 0.70 | 3.07 ± 0.59 | 3.73 ± 0.88 | 2.07 ± 0.80 | 1.47 ± 0.74 | 1.00 ± 0.53 | 1.13 ± 0.35 | 2.87 ± 0.83          | 3.40 ± 0.91 | 40                                   | 13 | 13        | 7  |
| T2                                | 3.33 ± 0.90          | 3.93 ± 0.88 | 2.73 ± 0.96 | 3.13 ± 0.99 | 2.47 ± 1.06 | 1.87 ± 0.83 | 1.20 ± 0.41 | 1.20 ± 0.41 | 2.93 ± 0.70          | 3.33 ± 0.82 | 27                                   | 20 | 40        | 7  |
| S1                                | 3.60 ± 0.99          | 3.73 ± 0.96 | 2.87 ± 1.06 | 3.53 ± 0.99 | 2.53 ± 0.83 | 1.87 ± 0.59 | 1.27 ± 0.70 | 1.27 ±      | 2.67 ± 1.05          | 2.60 ± 0.83 | 27                                   | 33 | 40        | 60 |
| S2                                | 3.47 ± 0.83          | 3.87 ± 0.74 | 3.00 ± 1.07 | 2.67 ± 0.72 | 1.93 ± 0.88 | 2.47 ± 1.06 | 1.20 ± 0.41 | 1.40 ± 0.91 | 3.07 ± 0.88          | 2.53 ± 1.06 | 27                                   | 33 | 40        | 67 |

Controllo – campioni di frutta non trattati; T1 – campioni di frutta trattati con oli essenziali di *T. vulgaris* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>; T2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *T. vulgaris* 18 mg·ml<sup>-1</sup>; S1 – campioni di frutta trattati con oli essenziali di *S. montana* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup>; S2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *S. montana* 18 mg·ml<sup>-1</sup>. L'aspetto visivo, la dolcezza, l'acidità, l'amarezza e la valutazione complessiva sono stati valutati, su una scala di 1-5 (classificati) dove 1 = molto basso, 2 = basso, 3 = medio, 4 = alto e 5 = molto alto. Gli aromi e i sapori anomali sono stati valutati come percentuale di risposte positive sul totale del gruppo di assaggiatori.

Tabella 5. Incidenza di marciumi (%).

| Tempo di coservazione (d)        | 7 d (1 °C)            | 14 d (1 °C)           | 21 d (1 °C)          | 28 d (1 °C)          | 3 d (20 °C)            |
|----------------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|------------------------|
| <b>Incidenza di marciumi (%)</b> |                       |                       |                      |                      |                        |
| Controllo                        | 0.0 ±0.0 <sup>a</sup> | 0.0 ±0.0 <sup>a</sup> | 2.4±0.8 <sup>a</sup> | 3.6±0.8 <sup>a</sup> | 33.6±6.9 <sup>a</sup>  |
| T1                               | 0.0 ±0.0 <sup>a</sup> | 0.0 ±0.0 <sup>a</sup> | 2.0±1.7 <sup>a</sup> | 3.2±1.5 <sup>a</sup> | 12.8±4.4 <sup>b</sup>  |
| T2                               | 0.0 ±0.0 <sup>a</sup> | 0.8±0.5 <sup>a</sup>  | 2.4±1.3 <sup>a</sup> | 3.2±1.1 <sup>a</sup> | 20.4±3.7 <sup>ab</sup> |
| S1                               | 0.0 ±0.0 <sup>a</sup> | 0.8±0.5 <sup>a</sup>  | 5.2±1.3 <sup>a</sup> | 6.0±1.7 <sup>a</sup> | 22.4±5.5 <sup>ab</sup> |
| S2                               | 0.0 ±0.0 <sup>a</sup> | 0.4±0.4 <sup>a</sup>  | 2.4±0.8 <sup>a</sup> | 4.4±2.3 <sup>a</sup> | 19.2±3.8 <sup>a</sup>  |

Controllo – campioni di frutta non trattati; T1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *T.vulgaris* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup> ; T2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *T.vulgaris* 18 mg·ml<sup>-1</sup>; S1 – campioni di frutta trattati con oli essenziale di *S. montana* 4.5 mg·ml<sup>-1</sup> ; S2 campioni di frutta trattati con oli essenziali di *S.montana* 18 mg·ml<sup>-1</sup>. I valori medi seguiti dalla stessa lettera non sono significativamente diversi a livello  $P \leq 0.05$ . Le lettere minuscole (a, b) nella stessa colonna sono utilizzate per confrontare l'influenza del trattamento.

## Conclusioni

Il progetto di ricerca condotto durante i tre anni di dottorato si è concentrato sull'analisi di metodi innovativi di conservazione post raccolta.

Tale progetto si è collocato in un contesto scientifico in cui l'interesse verso lo sviluppo di nuove tecnologie di conservazione della frutta è crescente a fronte di una richiesta dei consumatori di prodotti sostenibili e sicuri.

Tale lavoro ha suggerito diverse considerazioni finali:

- I film basati su sostanze biodegradabili possono essere una buona alternativa all'uso del film in polietilene; l'ostacolo principale alla loro diffusione è l'elevata permeabilità riscontrata, che causa una consistente perdita di peso del prodotto. La permeabilità è principalmente responsabile della composizione dell'atmosfera modificata.
- L'uso del confezionamento in atmosfera modificata per un breve periodo di frigoconservazione è risultato positivo nel caso delle nettarine *fresh cut*, agendo sul metabolismo respiratorio e quindi su tutti i parametri considerati e preservando le caratteristiche qualitative del prodotto. Allo stesso tempo, però, l'efficacia del trattamento con atmosfera controllata passiva e attiva è strettamente dipendente dal metabolismo dei frutti e dal loro grado di maturazione.
- Il trattamento a base di diossido di cloro risulta essere idoneo per preservare la qualità dei frutti conservati in particolare per il breve periodo in quanto, considerando periodi più lunghi, l'efficacia del trattamento risulta esser limitata o assente. Tale trattamento non ha danneggiato la qualità del frutto ma ha migliorato la sua conservabilità grazie all'azione contro lo sviluppo di muffe avendo dimostrato

un'azione di contenimento dei microrganismi dannosi. Su lampone, inoltre, sono state osservate minori perdite di peso e un limitato cambiamento di colore durante il periodo di conservazione breve e *shelf life*.

- L'utilizzo di vapori di oli essenziali di timo e santoreggia risulta essere una metodologia innovativa e molto promettente per la conservazione dei frutti post raccolta, somministrandoli direttamente in cella frigorifera. Il trattamento, infatti, ha permesso un reale contenimento dei principali agenti patogeni legati al decadimento naturale del frutto senza alterare i principali parametri chimici e nutraceutici dei frutti considerati. Al medesimo tempo però tale metodologia risulta essere di difficile gestione in quanto è stato osservato che la concentrazione degli oli essenziali può modificare gravemente il profilo aromatico del prodotto finale alterandolo. Pertanto per applicare questa tecnica è necessario mettere a punto l'uso di concentrazioni di oli essenziali in grado di agire senza alterare le caratteristiche gustative del prodotto finale.

Questo progetto ha previsto una analisi e una sperimentazione di metodologie molto differenti fra di loro. L'obiettivo principale è stato quello di verificare l'azione che i trattamenti hanno causato sulla qualità del prodotto e le modifiche durante la sua conservazione. La ricerca si è sviluppata durante tre fasi differenti: *shelf life* e breve conservazione, e in funzione del tipo di commercializzazione del prodotto finale (frutto intero o *fresh cut*). Per la sua realizzazione è stato importante l'utilizzo combinato di tecniche di analisi qualitative e valutazioni patologiche mediante la collaborazione con il gruppo di ricerca di patologia vegetale del Prof. Spadaro (Agroinnova - Centro di Competenza per l'Innovazione in campo agro-ambientale; DISAFA Università di Torino).