
LINEE GUIDA PER LA TRASFORMAZIONE DI PRODOTTI VEGETALI SU PICCOLA SCALA



Elena Venir
Enrico Maltini
Mara Lucia Stecchini

Dipartimento di Scienze degli Alimenti
Università degli Studi di Udine

Progetto MIERI: “Miniaturizzazione e semplificazione di linee di trasformazione per piccole produzioni agroalimentari ed impiego di energie rinnovabili”, finanziato dal MiPAAF (Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali).



**LINEE GUIDA
PER LA TRASFORMAZIONE
DI PRODOTTI VEGETALI
SU PICCOLA SCALA**

Elena Venir, Enrico Maltini, Mara Lucia Stecchini

Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università degli Studi di Udine
Via Sondrio 2/A
33100 Udine

PREFAZIONE

Viene qui affrontata la tematica inerente la lavorazione delle conserve vegetali, in relazione alla sicurezza microbiologica, in realtà produttive di medio-piccole dimensioni, quali le aziende agricole multifunzionali ed, in genere, le micro-imprese. In queste realtà, la variabilità in termini di tecniche di produzione e tipologie merceologiche, unitamente all'artigianalità e all'attenzione rivolta alla qualità delle materie prime, che si traducono in prodotti finiti ad elevata specificità sensoriale, rappresentano caratteristiche comuni da preservare, in un ottica di valorizzazione dei prodotti aziendali. Anche per tali categorie di prodotti non è possibile prescindere da considerazioni riguardanti la sicurezza per il consumatore, requisito essenziale perseguibile attraverso interventi anche diversi, ma sempre riconducibili a pochi, seppure fondamentali, parametri. Con questo intento sono state redatte le presenti linee guida, frutto dell'analisi diretta delle procedure produttive, resa possibile da un approccio integrato, generato dalla fattiva collaborazione tra Università e Organi di Controllo.

26 Settembre 2012

INDICE

1.	FATTORI DI STABILITÀ DELLE CONSERVE VEGETALI.....	1
1.1	Fattori intrinseci.....	2
1.1.1	Acidità e pH.....	2
1.1.2	Attività dell'acqua (a_w)	5
1.1.3	Altri fattori intrinseci.....	7
1.2	Fattori estrinseci	8
1.2.1	Trattamento termico.....	9
1.2.2	Temperatura di conservazione.....	11
2.	PERICOLI MICROBIOLOGICI ASSOCIABILI AI PRODOTTI VEGETALI.....	14
2.1.	<i>Listeria monocytogenes</i>	15
2.2.	<i>Enterobacteriaceae</i>	15
2.3.	<i>Clostridium botulinum</i>	17
3.	CONSERVE ACIDE/ACIDIFICATE.....	21
4.	SCHEMA OPERATIVO DI LAVORO: obiettivi, controlli e dotazioni di laboratorio.....	31
4.1.	Determinazione del pH.....	38
5.	ESEMPI DI PROBLEMATICHE DURANTE LA PRODUZIONE.....	45
6.	BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE.....	48

SI RINGRAZIANO:

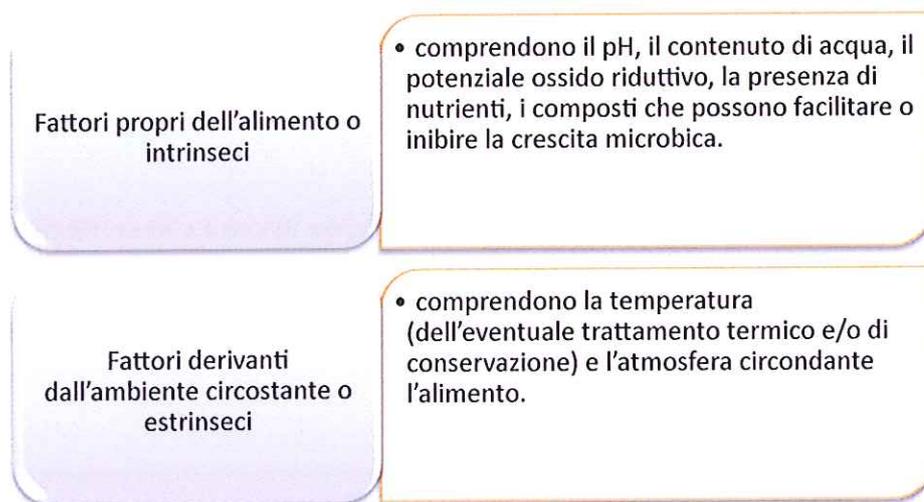
- . *il MiPAAF (Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali) per il supporto al progetto MIERI: "Miniaturizzazione e semplificazione di linee di trasformazione per piccole produzioni agroalimentari ed impiego di energie rinnovabili".*
- . *la responsabile del dipartimento di prevenzione A.S.S. n.1 di Trieste, dott.ssa Tiziana Del Pio;*
- . *le associazioni agricole Coldiretti e Kmecka Zveza del Carso Triestino;*
- . *i produttori del Carso triestino che hanno collaborato attivamente aprendoci le porte dei loro laboratori e rendendo possibile l'acquisizione di dati utili alla stesura del manuale;*
- . *il dott. Massimiliano Spaziani per la collaborazione tecnica.*

Una conserva vegetale può essere definita come un prodotto stabilizzato mediante uno o più interventi tecnologici, volti a minimizzare le cause di deperimento di natura biologica, chimica, fisica, microbiologica e confezionato in modo tale da preservare le condizioni di stabilità che rendono l'alimento conservabile a temperatura ambiente.

Diversi sono i sistemi su cui si basano le tecniche di stabilizzazione: fisici, quali trattamento termico, disidratazione, congelamento, ecc.; chimici, tra i quali annoveriamo antimicrobici, antiossidanti, ecc.; chimico-fisici, che comprendono pH, potenziale di ossido-riduzione, ecc.; biologici, quali la fermentazione. È possibile utilizzare singolarmente ciascun sistema, o combinarne molteplici in modo tale da diversificare le produzioni.

1. FATTORI DI STABILITÀ DELLE CONSERVE VEGETALI

I fattori di sicurezza microbiologica delle conserve vegetali possono essere suddivisi in due categorie, gli intrinseci e gli estrinseci.



Tali fattori influenzano la crescita e la sopravvivenza della microflora presente e hanno validità di carattere generale sia per le produzioni industriali, sia per le produzioni casalinghe o artigianali su piccola scala. La conoscenza approfondita di alcuni di questi è un prerequisito fondamentale per la produzione di trasformati alimentari microbiologicamente sicuri, pertanto verrà data una breve descrizione degli aspetti salienti.

1.1 Fattori intrinseci

1.1.1 Acidità e pH

Il pH viene riportato su una scala (scala di pH) i cui valori estremi sono 0 e 14; il valore intermedio "7" corrisponde alla neutralità, valori inferiori a 7 sono caratteristici di sostanze acide, mentre valori superiori a 7 sono caratteristici di sostanze basiche. Il pH viene misurato con il pH-metro, il quale è composto da un elettrodo collegato ad un dispositivo elettronico. Generalmente l'elettrodo viene utilizzato in matrici fluide più o meno viscosi, tuttavia sono disponibili in commercio modelli ad infissione (figura 1) che permettono la misura di campioni solidi e semi-solidi. In questo caso le misure possono essere effettuate in più punti del campione, rilevando così anche eventuali eterogeneità che verrebbero altrimenti eliminate nel campione liquido ottenuto per triturazione ed estrazione dei succhi cellulari.

L'acidità di una sostanza è la sua capacità di rilasciare in soluzione ioni idrogeno H^+ e l'antilogaritmo della concentrazione idrogenionica (H^+ o H_3O^+) - o pH - indica il grado di acidità di una sostanza.

Non è possibile misurare il pH dell'olio in quanto l'idrogenione (H_3O^+) non può migrare in assenza di solventi polari.

Il misuratore di pH tipico è dotato di un elettrodo a membrana di vetro e di un elettrodo di riferimento oppure di un singolo elettrodo combinato. Esistono poi vari tipi di elettrodi destinati ad usi specifici. L'elettrodo di riferimento più comunemente usato è l'elettrodo a calomelano, il quale incorpora un ponte salino riempito con soluzione satura di cloruro di potassio (KCl).

La punta dell'elettrodo può essere di diverse dimensioni e presentare diverse geometrie: sferica, conica, piatta (**Figura 1**).

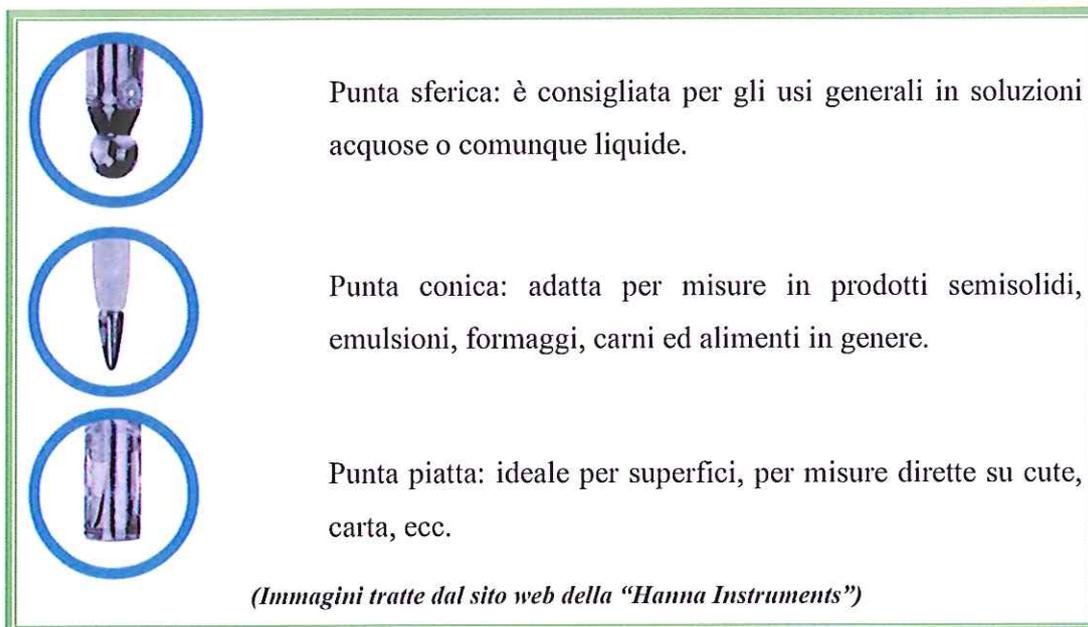


Figura 1. Esempi di tipologie di elettrodi disponibili per la misura del pH.

In genere i prodotti vegetali sono caratterizzati da pH inferiori a 7. La frutta è acida, $\text{pH} < 4.5$, mentre gli ortaggi sono poco acidi, $\text{pH} > 4.5$. La **figura 2** mostra in modo schematico ed indicativo la collocazione dei prodotti vegetali sulla scala di pH.

I microrganismi possono essere classificati in: acidofili ($\text{pH} 2 - 2.5$), neutrofilo ($\text{pH} 5.5 - 8$), basofili ($\text{pH} 8.5 - 11.5$) ed alcalofili estremi ($\text{pH} > 10$). In linea generale i batteri preferiscono pH prossimi alla neutralità.

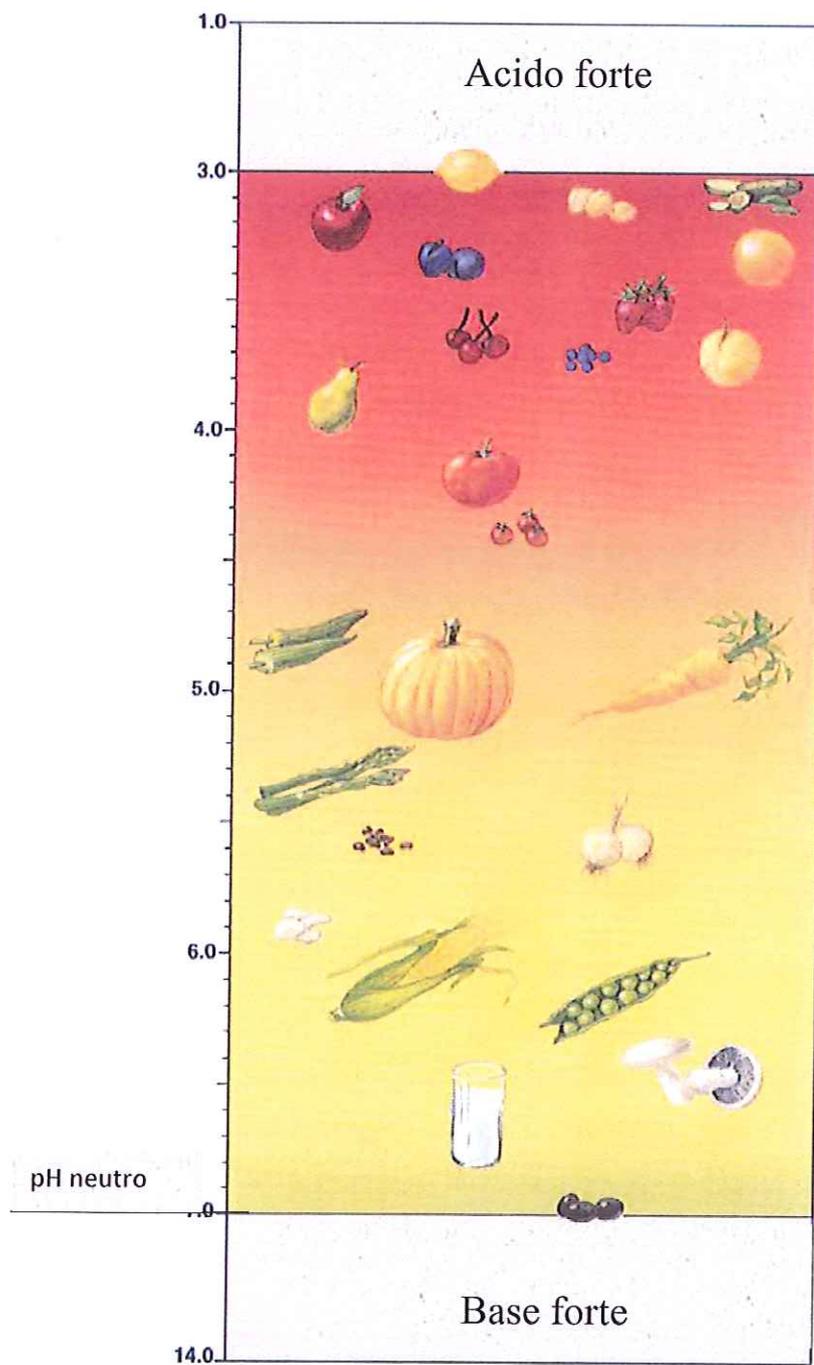


Figura 2. Collocazione sulla scala di pH di alcuni vegetali di uso comune. Fonte: “USDA (United State Department of Agriculture): *Complete guide to home canning*”, modificato.

1.1.2 Attività dell'acqua (a_w)

Fin dall'antichità l'uomo ha imparato a conservare il cibo sottoponendolo a disidratazione, sia tramite rimozione dell'acqua (da sempre per evaporazione, negli ultimi decenni anche per sublimazione) sia tramite aggiunta di composti osmoticamente attivi quali sali e zuccheri. L'attività dell'acqua è associata alla quantità di molecole d'acqua disponibili per il metabolismo dei microrganismi, nonché per reazioni enzimatiche e chimiche. Alimenti con un'elevata attività dell'acqua sono maggiormente soggetti ad alterazioni di origine microbica rispetto ad alimenti con un'attività dell'acqua bassa. La **tabella 1** riporta le a_w minime di crescita indicative di alcuni microrganismi di interesse alimentare (patogeni o alteranti) ed esempi di alimenti che ne sono maggiormente interessati.

L'attività dell'acqua viene definita come il rapporto tra la pressione di vapore dell'acqua nell'alimento (P) e la pressione di vapore dell'acqua pura (P_0) alla stessa temperatura, indicata con la seguente formula:

$$a_w = \frac{P}{P_0}$$

e corrisponde all'umidità relativa generata dall'alimento misurata in particolari condizioni.

Quando l'alimento è in equilibrio con l'ambiente, la sua a_w , che è una proprietà dell'alimento, è uguale all'umidità relativa (U.R.: % dell'umidità di saturazione), che è una proprietà dell'atmosfera circostante, diviso 100.

$$a_w = \text{U.R.}/100$$

In un alimento non confezionato a_w e U.R. tendono all'equilibrio.

Diversi sono gli strumenti utilizzabili per la misura dell' a_w . Nel settore alimentare generalmente vengono impiegati sensori capacitivi (il cui dielettrico varia al variare dell'umidità) oppure i più precisi, ma piuttosto costosi, igrometri a punto di rugiada.

Tabella 1. a_w minime di crescita indicative di alcuni microrganismi ed alimenti che ne sono maggiormente interessati (Tratto da: Alzamora S.M., Tapia M.S., Lopez-Malo A., Welti-Chanes J, 2000. Food preservation techniques. Zeuthen P, Bagh-Sorensen L. (Eds.), Woodhead Publishing Limited, Abington, England).

a_w	Tipo di microrganismo			Alimenti interessati
	Batteri	Muffe	Lieviti	
0.99	<i>Campylobacter jejuni</i>			
0.97 – 0.95	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Clostridium botulinum non proteolitico</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Vibrio cholerae</i>			Carne fresca, ortaggi e frutta freschi
0.95 – 0.93	<i>Clostridium botulinum proteolitico</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Salmonella spp.</i>	<i>Rhizopus nigricans</i> <i>Stachybotrys atra</i>		Maionese, formaggi, prosciutto crudo e altri salumi, confetture light, prodotti da forno
0.92 – 0.90	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (anaerobio)	<i>Trichothecium roseum</i>		
0.89 – 0.86	<i>Staphylococcus aureus</i> (aerobio)		<i>Candida</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Formaggi stagionati, salami, carni secche, confetture di frutta, succhi di frutta concentrati, torte di frutta, prugne secche morbide, latte condensato, confetture e gelatine
0.85		<i>Aspergillus clavatus</i>		
0.84		<i>Byssoschlamys nivea</i>		
0.83		<i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium islandicum</i> <i>Penicillium viridicatum</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>	
0.82		<i>Aspergillus fumigatus</i> <i>Aspergillus parasiticus</i>		
0.81 – 0.80		<i>Penicillium cyclopium</i> <i>Penicillium patulum</i>	<i>Saccharomyces bailii</i>	
0.79		<i>Penicillium martensii</i>		
0.78		<i>Aspergillus flavus</i>		
0.77		<i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus ochraceous</i>		Pesce salato, melasse, prugne secche, marzapane, fichi secchi, datteri
0.75		<i>Aspergillus restrictus</i> <i>Aspergillus candidus</i>		
0.71		<i>Eurotium chevalieri</i>		
0.70		<i>Eurotium amstelodami</i>		nocci,
0.62			<i>Saccharomyces rouxii</i>	focchi d'avena, frutta secca, miele
0.61		<i>Monascus bisporus</i>		
0.50				Polvere di: latte, caffè, uova, cacao;
0.40				crakers, grissini, snacks
0.30		Non vi è proliferazione microbica		farine, cereali, caramelle
<0.20				

1.1.3 Altri fattori intrinseci

La tensione di ossigeno ed il potenziale di ossido riduzione (potenziale redox) influenzano il tipo di microflora presente negli alimenti e, di conseguenza, il tipo di alterazioni cui essi andranno incontro. Il potenziale redox è determinato dalla presenza di gas, i quali possono saturare lo spazio di testa dei contenitori o essere disciolti nella matrice alimentare e/o nel liquido di governo. L'ambiente è aerobio e ossidante se vi è ossigeno, e quindi aria, mentre è anaerobio e riducente in presenza di determinati gas o gruppi chimici riducenti (ad esempio gruppi -SH nella carne, acido ascorbico e zuccheri riducenti in frutta e ortaggi).

Dal punto di vista dell'utilizzazione dell'ossigeno i microrganismi possono essere suddivisi in più categorie, come riportato in **tabella 2**.

Tabella 2. Classificazione dei microrganismi in base alla concentrazione di ossigeno.

Aerobi	Crescita in presenza di ossigeno
Anaerobi	Crescita in assenza di ossigeno
Aerobi obbligati	Dipendenza dall'ossigeno per la crescita
Anaerobi facoltativi	Non richiedono ossigeno per la crescita, sebbene questa sia favorita in presenza di ossigeno
Anaerobi aerotolleranti	Ignorano l'ossigeno e crescono ugualmente in sua presenza o assenza
Anaerobi obbligati	Non tollerano l'ossigeno che risulta per loro letale
Microaerofili	Crescono bene a basse concentrazioni di ossigeno; alte concentrazioni li danneggiano

Negli alimenti, in genere, si hanno condizioni di aerobiosi limitatamente alla superficie, per cui si crea un ambiente favorevole per lo sviluppo di germi aerobi in superficie mentre si possono sviluppare gli anaerobi in profondità. In presenza di ossigeno la microflora predominante è rappresentata da microrganismi aerobi i quali ossidano i nutrienti e riducono la concentrazione di ossigeno. Quando la tensione di ossigeno si riduce e le condizioni diventano anaerobiche, la microflora si modifica a favore dei microrganismi anaerobi che spesso ingenerano putrefazioni con formazione di metaboliti maleodoranti.

Le lavorazioni degli alimenti possono modificare il potenziale redox, ad esempio a causa della modificazione di determinate sostanze ad azione ossidante o riducente. I trattamenti termici in generale modificano il potenziale del prodotto trattato. Nel caso delle conserve vegetali, i trattamenti di trasformazione - quali ad es. trattamenti termici o utilizzo di olio come liquido di governo - favoriscono l'istaurarsi di condizioni anaerobiche che da un lato sono funzionali al contenimento di fenomeni ossidativi e pertanto desiderate ai fini della stabilità di colore e/o caratteristiche nutrizionali dei prodotti, ma dall'altro inducono condizioni ottimali per lo sviluppo di importanti patogeni, quali ad es. *Clostridium botulinum*. È quindi fondamentale definire i passaggi tecnologici in funzione del tipo di microflora potenzialmente presente anche in relazione alla presenza/assenza di aria.

La composizione chimica del prodotto (zuccheri, proteine e grassi) può favorire o sfavorire determinati microrganismi e queste sono considerazioni rilevanti nella scelta degli ingredienti per la preparazione, ad esempio dei prodotti da sottoporre a fermentazione, nei quali è necessario agevolare il corretto avvicinarsi delle specie microbiche desiderate. **Inoltre, l'assenza di sostanze ad azione antimicrobica, che dà valore alle produzioni artigianali, condiziona il processo produttivo, il quale deve essere definito più accuratamente in relazione alla assenza di ostacoli aggiuntivi tipici delle produzioni industriali.**

1.2 Fattori estrinseci

Come accennato in precedenza, tra i fattori estrinseci che influenzano il comportamento dei microrganismi, possiamo includere il trattamento termico, la temperatura e l'atmosfera di conservazione. Il trattamento termico cui solitamente viene sottoposta una conserva è di fondamentale importanza in quanto da esso, principalmente, dipende la salubrità del prodotto finito. Con il trattamento termico viene assicurata, per le conserve, la stabilità a temperatura ambiente, di conseguenza non viene richiesta la conservazione refrigerata. Tuttavia, alcuni aspetti rilevanti della refrigerazione verranno successivamente trattati ai fini di una corretta gestione delle produzioni nel loro complesso.

1.2.1 *Trattamento termico*

Le procedure più comunemente utilizzate per i trattamenti termici sono la pastorizzazione e la sterilizzazione.

Pastorizzazione

Per pastorizzazione s'intende un trattamento termico a temperature generalmente $\leq 100^{\circ}\text{C}$ in grado di eliminare la maggior parte delle forme vegetative dei microrganismi presenti negli alimenti e di inattivare gli enzimi; tuttavia essa non è efficace nei confronti di gran parte delle spore batteriche. La pastorizzazione può prolungare la durabilità (o *shelf life*) degli alimenti vegetali di alcuni mesi, dipendentemente dalle caratteristiche intrinseche dei prodotti e delle modalità di conservazione. Nelle piccole produzioni è prassi comune pastorizzare i prodotti invasettati mediante bollitura in bagnomaria. Per una pastorizzazione efficace occorre tener conto della resistenza termica dei microrganismi ed in particolare dei patogeni contemplati nel regolamento comunitario. In **tabella 3** vengono riportati i tempi di riduzione decimale a 70°C (D_{70}) di alcuni microrganismi patogeni potenzialmente presenti in prodotti di origine vegetale. La temperatura di trattamento, in questo caso 70°C , è riferita al cuore del prodotto. Relativamente a frutta e ortaggi in pezzi, la temperatura deve essere misurata inserendo la sonda di temperatura all'interno di una porzione rappresentativa di prodotto solido, posto centralmente a circa metà dal fondo della confezione.

Tabella 3. Tempo di trattamento termico necessario (alla temperatura di 70°C) per sortire una riduzione decimale (riduzione del 90%) della carica iniziale di alcuni microrganismi contemplati nel Reg CE 2073/2005, 1441/2007 e successive modifiche ed integrazioni in riferimento ai prodotti di origine vegetale.

Microrganismo	D_{70} (minuti)
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.3
<i>Salmonella spp.</i>	0.001 – 0.01
<i>Escherichia coli</i>	0.001

Un aspetto non secondario è legato alla localizzazione geografica dei laboratori di trasformazione in quanto la temperatura di ebollizione dell'acqua diminuisce all'aumentare dell'altitudine. Nelle zone montane i tempi e le temperature di pastorizzazione vanno riconsiderati in funzione della quota. Gli efficaci tempi di ebollizione messi a punto per le realtà produttive ubicate sul livello del mare possono risultare insufficienti a 1000 metri di altitudine, dove è opportuno prolungare i tempi di trattamento, oppure utilizzare opportuni supporti per il trattamento sovrapressione. La **figura 3** mostra la variazione della temperatura di ebollizione dell'acqua in funzione dell'altitudine.

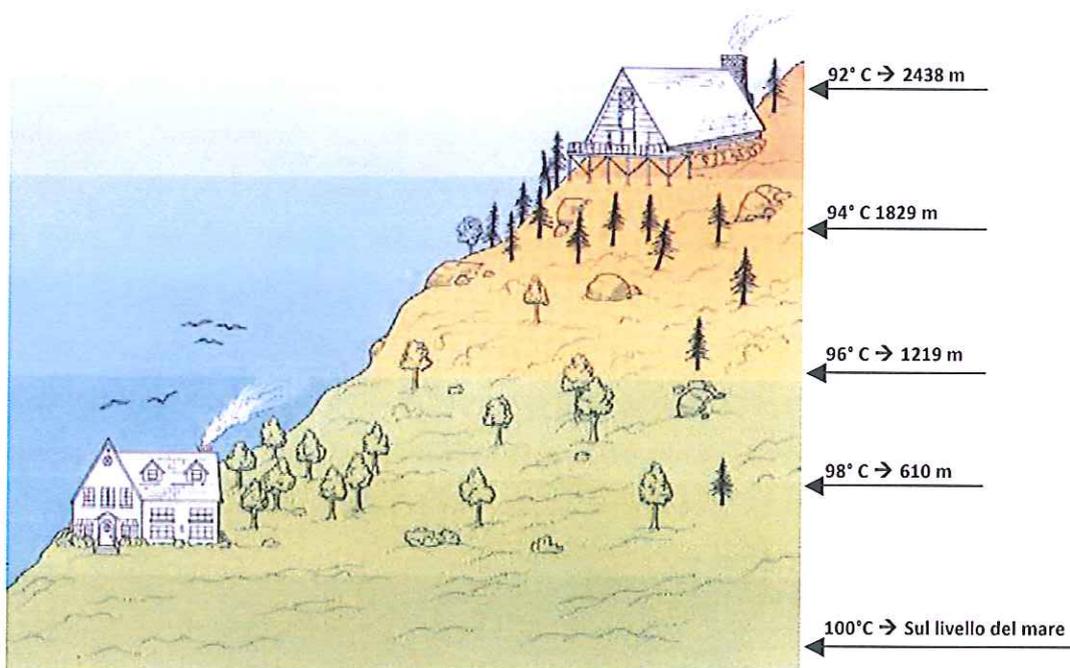


Figura 3. Temperatura di ebollizione dell'acqua in funzione dell'altitudine. Fonte: "USDA (United State Department of Agriculture): *Complete guide to home canning*", modificato.

Sterilizzazione

Per sterilizzazione s'intende un trattamento termico a temperature $> 100^{\circ}\text{C}$ per tempi ragionevolmente adatti alla distruzione delle spore batteriche. Nell'industria conserviera in genere i parametri della sterilizzazione vengono impostati in modo tale da determinarne almeno 12 riduzioni decimali delle spore di *Clostridium botulinum*. Per poter trattare a temperature maggiori della temperatura di ebollizione dell'acqua è necessario impiegare delle opportune autoclavi, le quali permettono il raggiungimento di pressioni

tali da consentire il riscaldamento a temperature $> 121^{\circ}\text{C}$. In questo caso è di fondamentale importanza che la temperatura raggiunga i valori desiderati che debbono essere adeguatamente controllati. Anche nella prassi domestica è possibile operare un controllo sulle singole produzioni utilizzando delle apposite sonde di temperatura che, nel caso della sterilizzazione, sono dei *data logger* a tenuta stagna (**figura 4**) che vanno opportunamente apposti ad una confezione campione. Questi dispositivi sono in grado di registrare la temperatura ad intervalli di tempo impostati e, qualora corredati di opportuno software, è possibile convertire automaticamente i dati di temperatura e tempo in specifici indici in grado di descrivere l'efficacia del trattamento (effetto letale).



Figura 4. Esempi di sonde di temperatura (*data logger*) a tenuta stagna per la misura della cinetica del trattamento termico.

1.2.2 Temperatura di conservazione

Il processo di trasformazione opera una selezione dei contaminanti sulla base delle variabili di processo e dei fattori estrinseci, tra i quali determinante risulta la temperatura di stoccaggio. Con il termine refrigerazione ci si riferisce a temperature di conservazione inferiori a 7°C e tali da non determinare congelamento, le quali possono prolungare la conservabilità degli alimenti da alcuni a giorni a molte settimane. Le basse temperature infatti rallentano le velocità delle reazioni chimiche e, conseguentemente, la crescita dei microrganismi. La temperatura di refrigerazione ottimale per la conservazione è in genere di poco inferiore alla temperatura minima di crescita dei microrganismi patogeni. In **tabella 4** sono riportati gli intervalli di crescita di alcuni microrganismi di rilievo per

L'industria alimentare, tra i quali i patogeni psicrotrofi *Clostridium botulinum* non proteolitico e *Listeria monocytogenes* sono particolarmente importanti soprattutto in riferimento ai prodotti minimamente trattati a lunga durabilità (REPFEDs: refrigerated processed foods of extended durability). Va notato che in condizioni refrigerate anche i microrganismi psicrofili e psicrotrofi alteranti sono in grado di crescere. Pertanto, se i livelli iniziali di contaminazione sono alti, anche gli alimenti conservati a temperature di refrigerazione possono degradarsi in breve tempo. Nella conservazione refrigerata è importante evitare le fluttuazioni di temperatura giacché anche oscillazioni di pochi gradi determinano una variazione significativa della velocità di crescita dei microrganismi. Per un efficace monitoraggio della temperatura del frigorifero domestico si può procedere inserendo un termometro all'interno di una bottiglia contenente acqua.

Tabella 4. Intervalli di crescita di alcuni microrganismi patogeni di interesse alimentare. (Tratto da: Fratamico P.M., Bhunia A.K., Smith J.L. 2005. Foodborne pathogens. Microbiology and molecular biology. Caister Academic Press, Norfolk, UK.).

Microrganismo	T _{min} ; T _{max} (°C)	T _{opt} (°C)	pH _{min} ; pH _{max}	pH _{opt}	NaCl% _{max}	NaCl% _{opt}	a _w min
<i>Aeromonas spp.</i>	>0, <4; >42, <45	28-35	<4.50	7.20	>5.0, <6.0	1-2	
<i>Bacillus cereus</i>	4; 55	30-40	5.00; 8.80	6.00- 7.00			0.930
<i>Campylobacter spp.</i>	32; 45	42-43	4.90; ≈9.00	6.50- 7.50	1.50	0.5	>0.987
<i>Clostridium botulinum</i> proteolitico	10-12; 50	35-40	4.60		10.0		0.940
<i>Clostridium botulinum</i> non proteolitico	2.5-3.3; 37	25-30	4.90		5.0		0.970
<i>Clostridium perfringens</i>	12; 50	43-47	5.50, 5.80; 8.00-9.00	7.20		5-8	0.970- 0.930
<i>Escherichia coli</i>	7-8; 44-46	35-40	4.40; 9.00	6.00- 7.00			0.950
<i>Listeria monocytogenes</i>	-1.5; 45	37	4.39; 9.40	7.00	10.0		0.920
<i>Salmonella spp.</i>	5.2; 46.2	35-43	3.80; 9.50	7.00- 7.50			0.940
<i>Shigella spp.</i>	6.1; 47.1		4.90; 9.34		3.8-5.2		
<i>Staphylococcus aureus</i>	7; 48	37	4.00; 10.00	6.00- 7.00			0.830
<i>Streptococcus spp.</i>	10-15; >40 <45	37	4.80- 5.30; <9.30	7.00	>4.0 <6.5		
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1.3; 42	25-37	4.20; 9.60- <10.00	7.20	5.0-7.0		

2. PERICOLI MICROBIOLOGICI ASSOCIABILI AI PRODOTTI VEGETALI

I tessuti vegetali sono contraddistinti, come già accennato, da valori di pH compresi tra 5 e 7 (pH più bassi per molti frutti), da una elevata umidità e da una composizione chimica varia; caratteristiche queste che li rendono substrato favorevole alla crescita di molti microrganismi. In genere gli ortaggi possono meglio supportare la crescita di microrganismi allorquando l'integrità cellulare risulta danneggiata (da procedure agronomiche, da trasformazione: tagli, triturazione ecc.; o dall'invecchiamento) con conseguente perdita di succhi cellulari. Tuttavia, in assenza di condizioni protettive specifiche, quali ad esempio il confezionamento in atmosfera protettiva, i microrganismi si sviluppano molto velocemente anche su prodotti integri, rendendoli inappetibili.

I pericoli microbiologici rilevanti nella produzione di conserve vegetali dipendono principalmente dalla contaminazione iniziale e dal processo di trasformazione.

La contaminazione iniziale può derivare da varie fonti, tra cui il terreno, le acque di irrigazione, i concimi utilizzati. Alcuni parassiti e microrganismi patogeni sono in grado di sopravvivere mesi o anni nei fanghi di depurazione e nel suolo, perciò, laddove si faccia uso di concimazione organica, ci si deve aspettare una contaminazione da patogeni. La popolazione microbica sui vegetali freschi viene influenzata da molti fattori: la carica iniziale, la manipolazione da parte del personale addetto a raccolta, cernita, mondatura, confezionamento, il contatto con le macchine/impianti utilizzati per la raccolta ed il trasporto. La raccolta spesso danneggia gli ortaggi, sia provocando rilascio di succhi cellulari (nutrienti) che agevolano lo sviluppo dei microrganismi, sia producendo dei canali di ingresso ai microrganismi alteranti. Il lavaggio può rimuovere fino al 90% della popolazione superficiale, ma rimane ininfluente rispetto a quei microrganismi intrappolati nell'essudato mucillaginoso, e talvolta può essere deleterio giacché l'acqua residua sui tessuti può favorire la crescita di quelli presenti. Recenti sperimentazioni (Niemira, B.A., Cooke, P.H. 2010. *Journal of Food Science*. 75(5):M270; Saldaña Z., Sánchez E., Xicohtencatl-Cortes J., Puente J.L., Giron J.A. 2011. *Frontiers in Microbiology*, 2:119) hanno dimostrato la possibilità che alcuni microrganismi possano essere internalizzati nelle strutture vegetali, ad esempio negli stomi dei vegetali a foglia. Il processo prevede che le cellule microbiche adese ai vegetali colonizzino le aree preferenziali, dove trovano

migliori condizioni ambientali (umidità, disponibilità di nutrienti), e possano quindi aggregarsi attorno agli stomi e raggiungere le cavità sub-stomali, invadendo in tal modo i tessuti e riducendo drasticamente l'efficacia degli eventuali trattamenti di sanificazione post raccolta. Ad esempio è riportato che i trattamenti a base di cloro o ozono sono meno efficaci quando i microrganismi patogeni (*E. coli*) si sono aggregati ed internalizzati negli stomi.

Sulla base delle conoscenze relative al settore dei vegetali e considerando i criteri microbiologici contemplati nel Regolamento (CE) 2073/2005, 1441/2007 e successive modifiche ed integrazioni, viene qui presentata una breve descrizione di alcuni microrganismi rilevanti per la sicurezza microbiologica dei prodotti di origine vegetale.

2.1. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes è un batterio aerobio asporigeno e la sua ingestione provoca la listeriosi. Sono state finora riconosciute due varianti della malattia: la forma invasiva, che colpisce gruppi di persone più suscettibili, provocando infezioni al sistema nervoso centrale, sepsi, aborti e la forma non invasiva, che è causa di gastroenteriti febbrili. *L. monocytogenes* è ubiquitaria, presente nel suolo, nel tratto intestinale di alcuni animali e sulle piante. Gli ortaggi, quindi, rappresentano un'importante via di trasmissione. *L. monocytogenes* è molto resistente nell'ambiente dove può ricavarsi nicchie ecologiche di sopravvivenza, ed è capace di riprodursi, anche se molto lentamente, a temperature minime di -1.5°C. La sua presenza negli alimenti deriva spesso da contaminazione ambientale. La contaminazione crociata tra cibi cotti e crudi, tra carni e vegetali, derivante dalla mancata applicazione delle buone prassi igieniche e di lavorazione, è fra le cause di maggior esposizione al pericolo.

La resistenza termica di *L. monocytogenes* è maggiore rispetto a quella di altri batteri patogeni che possono colonizzare i prodotti vegetali (salmonelle e coliformi), anche se è sufficiente un trattamento di pastorizzazione per eliminarla (70°C per 2 minuti). Ne deriva che un trattamento efficace per l'eliminazione di *L. monocytogenes* è tale anche nei confronti di altre forme vegetative di patogeni.

2.2. Famiglia *Enterobacteriaceae*

La contaminazione dei prodotti di origine vegetale da parte di microrganismi di origine enterica è fortemente legata alla concimazione organica. La presenza di questi

microrganismi negli alimenti può costituire un indice di contaminazione fecale. A questa famiglia appartengono molti generi, quali *Escherichia*, *Salmonella*, *Yersinia* e *Shigella* e sono forse i più frequentemente rilevati nei prodotti vegetali, tanto che *Escherichia coli* e *Salmonella* vengono contemplati nei Regolamenti CE 2073/2005 e 1441/2007.

E. coli ha come habitat l'intestino dell'uomo e degli animali, una minoranza di ceppi di *E. coli* sono in grado di provocare malattie, più o meno gravi, anche con un numero bassissimo di cellule infettanti (<50 cellule). I prodotti vegetali freschi sono spesso risultati contaminati da vari ceppi di *E. coli*, alcuni dei quali responsabili della "diarrea del viaggiatore", mentre altri hanno causato episodi di colite enteroemorragica, con esito anche mortale, come accaduto in Nord Europa nel corso del 2011. Secondo i recenti report dell'EFSA (European Food Safety Authority), l'epidemia di infezione da *E. coli* O104:H4 di cui sopra ha avuto origine dal consumo di germogli di semi, per i quali, come per altri alimenti freschi pronti al consumo, sono raramente previsti trattamenti in grado di eliminare i batteri patogeni (ad es trattamenti termici). Per gli ortaggi freschi è quindi fondamentale, sia impedire la contaminazione durante il processo produttivo, sia rilevare le eventuali contaminazioni.

Gli *E. coli* eliminati con le feci entrano nell'ecosistema agroalimentare attraverso il concime organico, l'acqua di irrigazione, le sementi contaminate, oppure sono veicolati dalla fauna selvatica (insetti, parassiti, nematodi). Sono in grado di sopravvivere nel suolo contaminato fino a 20 mesi, ma la loro sopravvivenza su foglie e radici può essere persino maggiore. La sua presenza negli alimenti viene considerata indice di inquinamento fecale diretto o indiretto. Conseguentemente, *E. coli* rientra nei "criteri di igiene del processo" inclusi nei suddetti Regolamenti a proposito di prodotti vegetali non pastorizzati pronti al consumo. Le specifiche relative a *E. coli* fissano un valore indicativo di contaminazione al di sopra del quale sono necessarie misure correttive volte a mantenere l'igiene del processo di produzione. Va notato che tali specifiche non si applicano in caso di prodotti sottoposti a trattamenti termici, in quanto il microrganismo in questione è particolarmente sensibile al calore ed è efficacemente eliminato con un trattamento di pastorizzazione.

Molti sierotipi di *Salmonella* sono stati riscontrati sui prodotti vegetali quali sedano, lattuga, cavoli, indivia, crescione, il consumo dei quali è stato anche causa di gravi patologie. Le infezioni provocate da *Salmonella* si distinguono in forme tifoidee (*S. Typhi* e *S. Paratyphi*, responsabili della febbre tifoide e delle febbri enteriche in genere), in cui l'uomo rappresenta l'unico serbatoio del microrganismo, e forme non tifoidee, causate da salmonelle come *S. Typhimurium* e la *S. Enteritidis*, responsabili di forme cliniche a

prevalente manifestazione gastroenterica. L'infezione si trasmette per lo più attraverso il consumo di alimenti o acque che già in origine presentano una carica infettante o che si sono contaminati durante la successiva manipolazione. Anche un prodotto cotto, venuto a contatto con una fonte di contaminazione, può rappresentare un pericolo per il consumatore.

Tra i vegetali sono maggiormente a rischio i prodotti a pH non acido (ortaggi in genere, ma anche meloni e altri frutti tropicali) ed i prodotti trasformati non sottoposti a trattamento termico, quali sidro, succhi di frutta non pastorizzati. Considerata la pericolosità di tale microrganismo, *Salmonella* rientra nei criteri di sicurezza alimentare per definire l'accettabilità di un prodotto o di una partita di prodotti alimentari immessi sul mercato.

2.3. *Clostridium botulinum*

Il *C. botulinum* è un batterio anaerobio obbligato sporigeno. Le sue spore sono ubiquitarie nel suolo, e possono essere presenti in quasi tutti i cibi, sia vegetali che animali. Esse si possono trovare anche nei depositi di laghi e mari, nelle acque costiere e nei tratti intestinali di pesci e altri mammiferi.

Il *C. botulinum* viene suddiviso, in base alle caratteristiche metaboliche e fisiologiche, in due gruppi principali, **i proteolitici** ed **i non proteolitici**. I due gruppi presentano diversi requisiti minimi di crescita (tabella 5).

Tabella 5. Requisiti di crescita minimi per *Clostridium botulinum*. (Tratto da: Peck M.W. 2006. Journal of applied microbiology, 101: 556).

Proprietà	Gruppo I proteolitici	Gruppo II non proteolitici
pH	4.6	5.0
Concentrazione inibente di sale (NaCl)	10%	5%
a _w minima con NaCl	0.96	0.97
a _w minima con glicerolo	0.93	0.97
Temperatura ottimale di crescita (°C)	37.0	25.0
Temperatura minima di crescita (°C)	10 - 12	2.5 – 3.0

Fondamentalmente i ceppi proteolitici presentano limiti di pH di crescita più bassi e temperature maggiori rispetto al gruppo dei non proteolitici. Questi ultimi invece, sono inibiti a $\text{pH} < 5$ ma possono crescere a temperature di refrigerazione. La conoscenza dei requisiti di crescita del *C. botulinum* permette di intervenire sui fattori intrinseci e/o estrinseci in modo tale da renderli sfavorevoli alla crescita e/o alla germinazione delle spore presenti. Ad esempio occorre prestare particolare attenzione alla acidificazione perché questo aspetto è determinante ai fini dell'inibizione del *C. botulinum*.

Di fatto quella da *C. botulinum* è una intossicazione alimentare, infatti la malattia è provocata dalla tossina preformata e già presente nell'alimento; solo raramente ed in casi particolari (persone affette da immunodeficienza, neonati, ferite profonde) la responsabilità è a carico delle spore o delle forme vegetative, sono questi i casi di botulismo infantile o da ferita.

Negli ultimi anni si sta assistendo a nuovi allarmi riconducibili al riscontro del patogeno in numerosi alimenti, con particolare riguardo per quelli pronti per il consumo, sottoposti a blandi trattamenti termici, che riducono l'iniziale livello di contaminazione, senza però eliminare le spore presenti. Il pericolo è infatti determinato da queste forme termoduriche che, soprattutto nel caso dei ceppi proteolitici, sono in grado di sopravvivere ai consueti trattamenti di pastorizzazione. Se l'ambiente è favorevole le spore sopravvissute possono germinare dando luogo alla forma vegetativa che si può moltiplicare e, se le condizioni lo consentono, si può produrre tossina botulinica. Si tratta di una potente neurotossina che può risultare letale anche in bassissime concentrazioni. La tossina non resiste molto al calore e viene rapidamente inattivata mediante l'esposizione ad una temperatura superiore agli 85°C per un periodo di tempo di almeno 5 minuti. Tuttavia, le conserve vegetali sono in genere alimenti pronti per l'uso e raramente vengono riscaldati prima del consumo.

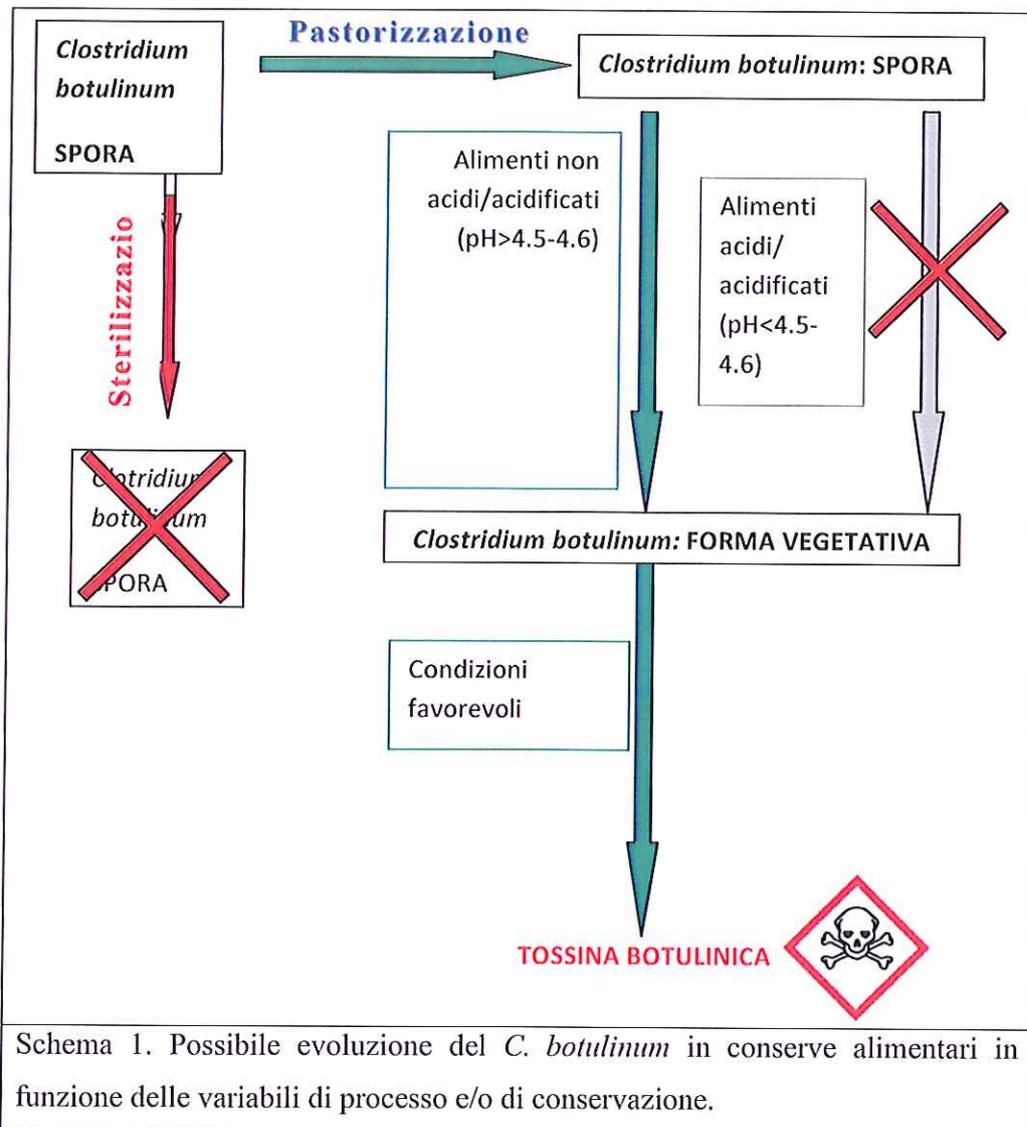
La contaminazione da *C. botulinum* è insidiosa in quanto lo sviluppo del patogeno e la produzione di tossina non sempre ingenerano nei prodotti contaminati modificazioni delle caratteristiche sensoriali percepibili dal consumatore. Nel caso del botulismo alimentare, è fondamentale evitare che le spore eventualmente presenti possano germinare e che le forme vegetative possano duplicarsi e produrre tossina. In **tabella 6** sono riportati i tempi di produzione di tossina botulinica in vari substrati a diverse temperature, è possibile osservare come, in condizioni di abuso termico, anche pochi giorni siano sufficienti a determinare la produzione di tossina.

Tabella 6. Tempi di produzione di tossina botulinica in vari substrati vegetali. (Tratto da: Bell C., Kyriakides A. 2000. *Clostridium botulinum*. A practical approach to the organism and its control in foods. Blackwell Science Ltd., London, UK).

Prodotto	Condizioni specifiche	Tempo produzione tossina (giorni)
Cavoli triturati, confezionati sotto vuoto	21°C	10
Insalate pronte	15°C - 25°C	14 - 4
Lattuga, cavoli, broccoli, carote e fagiolini verdi	21°C	6
Lattuga confezionata	21°C	17
Ortaggi freschi pronti per il consumo e insalate pronte in atmosfera protettiva	15°C	11-21
Patate al forno	22°C - 30°C	7 - 3
Patate confezionate sotto vuoto	10°C - 22°C	9 - 3

Nello **schema 1** sono esemplificate le possibili evoluzioni del *C. botulinum* in funzione dei parametri di stabilità delle conserve vegetali, a loro volta determinati dalla tecnologia di trasformazione.

Un trattamento di sterilizzazione efficace elimina le forme vegetative e le spore. La pastorizzazione elimina le forme vegetative ma non le spore, le quali, in condizioni favorevoli, possono germinare dando luogo alle forme vegetative che, a loro volta, se l'ambiente lo consente, possono produrre la tossina botulinica. La germinazione è invece impedita nelle conserve acide.



Sulla base di tali considerazioni, le conserve vegetali possono essere suddivise in “pastorizzate acide/acidificate” e in “sterilizzate non acide”.

3. CONSERVE ACIDE/ACIDIFICATE

Secondo le norme raccolte nel Code of Federal Regulations (CFR, Title 21) della statunitense FDA l'espressione "alimenti acidi" individua gli alimenti che naturalmente presentano $\text{pH} \leq 4.60$. Tuttavia, nella prassi operativa è consuetudine fare riferimento ad un valore di pH pari a 4.50. La dicitura "alimenti acidificati" indica invece alimenti a bassa acidità ai quali sono stati addizionati acidi o alimenti acidi. Tali prodotti presentano attività dell'acqua > 0.85 e $\text{pH} \leq 4.60$.

Secondo le suddette norme, inoltre, gli alimenti acidificati devono essere sottoposti a trattamento termico tale da distruggere le forme vegetative dei microrganismi patogeni e di quelli alteranti, capaci di crescere nelle condizioni di stoccaggio, distribuzione o conservazione domestica.

La sola pastorizzazione permette la stabilizzazione di alimenti acidi, caratterizzati cioè da un $\text{pH} < 4.50-4.60$. **Dal punto di vista pratico è buona prassi attenersi a pH prossimi a 4.00.**

Se il pH del prodotto è $> 4.50-4.60$ il trattamento termico seleziona condizioni favorevoli (per eliminazione della microflora competitiva, evaporazione dell'aria con conseguente anaerobiosi, eventuale attivazione da shock termico, ecc.) alla germinazione di spore di batteri patogeni, quali il *C. botulinum*, che possono trovare un ambiente ottimale per la crescita e la produzione di tossina botulinica. Nel caso in cui la materia prima non fosse sufficientemente acida è necessario provvedere all'abbassamento del pH mediante scottatura in soluzioni acide (ad esempio con una soluzione di acqua e aceto al 50%) oppure mediante l'aggiunta di acidi. La scottatura in genere si protrae per 2-5 minuti ad una temperatura compresa tra gli 80 ed i 100°C. Vengono di seguito riportate alcune procedure di acidificazione (tratte da FDA CFR - Code of Federal Regulations, Title 21).

Le procedure di acidificazione includono:

<p>Scottatura degli ingredienti in soluzione acquosa acidificata.</p>	<p>Immersione dell'alimento scottato in soluzioni acide. Tale pratica è sufficiente per l'acidificazione, tuttavia è necessario assicurarsi che la concentrazione dell'acido in soluzione sia costantemente mantenuta ai livelli desiderati.</p>	<p>Aggiunta diretta della soluzione acida a quantitativi specifici di alimento.</p>	<p>Aggiunta diretta di quantitativi predeterminati di acidi ai singoli contenitori durante la produzione. E' necessario assicurare la corretta quantità di acido a ciascun contenitore.</p>	<p>Miscelazione di alimenti acidi con alimenti a bassa acidità in proporzioni controllate e conformi a specifiche formulazioni.</p>
---	--	---	---	---

La miscela di acqua e aceto impiegata per acidificare i vegetali deve mantenere nel tempo una concentrazione in aceto tale da assicurare una consistente riduzione di pH dei vegetali scottati. Durante il periodo di utilizzo la miscela può andare incontro ad un innalzamento di pH, sia per la ripartizione dell'acido sui vegetali, sia perché l'acido acetico, avendo una tensione di vapore maggiore rispetto all'acqua, a parità di temperatura, evapora più velocemente sottraendosi alla soluzione. Nel caso di scottature successive all'interno della stessa soluzione, è opportuno accertare l'effetto del trattamento termico sulla variazione di pH come riportato nell'esempio che segue (Tabella 7).

Tabella 7. Valori di pH di una miscela acqua-aceto sottoposta a bollitura per tempi crescenti.

Tempo bollitura (min)	pH
0	2.90
5	3.03
10	3.06

Nell'esempio riportato i valori di pH della miscela non presentano un cambiamento riconducibile al tempo di bollitura tale da pregiudicare l'uso della miscela per la scottatura degli ortaggi, ma mettono in evidenza una tendenza all'innalzamento.

Relativamente alle conserve pastorizzate acide, una criticità abbastanza comune risiede nella mancata scottatura preventiva delle erbe aromatiche o degli ingredienti minori, i quali spesso sono contraddistinti da valori di pH non acidi. In ricette elaborate, per le quali è prevista la miscelazione di più componenti, è opportuno garantire una complessiva riduzione di pH per tutti gli ingredienti della conserva vegetale. In questi casi si dovrà procedere con la scottatura dei medesimi e con la successiva verifica del pH finale di ciascuno. In **tabella 8** si riporta a titolo esemplificativo il pH degli ingredienti utilizzati per la produzione di fagiolini sott'olio. Il trattamento di acidificazione ha determinato l'abbassamento del pH a valori di sicurezza nel caso dei fagiolini, mentre non è risultato efficace nel caso degli spicchi interi di aglio (pH 4.77). Il semplice porzionamento dell'aglio ne ha garantito l'acidificazione a valori inibitori per il *C. botulinum* (pH 3.97).

Tabella 8. Valori di pH degli ortaggi e dell' erba aromatica pre e post acidificazione mediante scottatura in soluzione acidificata.

	pH	
	Ortaggi freschi	Dopo acidificazione
Fagiolini	6.16 ± 0.50	4.04 ± 0.08
Aglio intero	5.81 ± 0.04	4.77 ± 0.32
Aglio in fettine	5.81 ± 0.04	3.97 ± 0.07

Per ottenere un prodotto pastorizzato di buona qualità, caratterizzato da un colore naturale ed un buon aroma/sapore, è opportuno rimuovere l'ossigeno dai tessuti alimentari e dai barattoli, inattivare rapidamente gli enzimi cellulari, provocare depressione nel vaso, la cui chiusura deve essere assicurata utilizzando guarnizioni a tenuta ermetica. Questi effetti sono per lo più riconducibili al trattamento di scottatura che precede il riempimento. Quest'ultimo può essere effettuato a freddo o a caldo aggiungendo il liquido di governo (soluzione acida, zuckerina, agrodolce o olio) (**Figura 5**). Nei prodotti ortofrutticoli freschi il contenuto di aria varia indicativamente dal 10% al 30% e

la qualità sensoriale del prodotto conservato dipende da quanta aria è stata rimossa prima dell'apposizione del coperchio. In assenza di scottatura, la maggior parte dell'aria sarà trattenuta nel prodotto e gli ortaggi o la frutta tenderanno a galleggiare. L'aria intrappolata provocherà decolorazioni entro 2 – 3 mesi. Diversamente, la scottatura, oltre ad inattivare gli enzimi che sono causa di modificazioni di colore e di consistenza, permette la rimozione dell'aria dai tessuti cellulari, evitando il galleggiamento, aumentando la depressione nei vasi chiusi, e agevolando l'inserimento di maggiori quantitativi di prodotto in ciascun vaso. Questo metodo permette di migliorare le caratteristiche di colore nel tempo dei prodotti conservati.

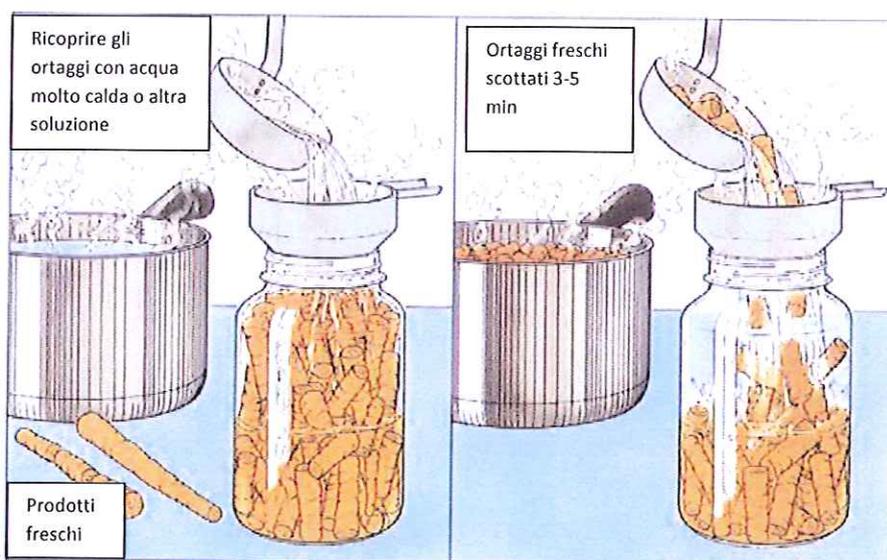


Figura 5. Confezionamento di ortaggi con liquido di governo caldo. Fonte: “USDA (United State Department of Agriculture): *Complete guide to home canning*”, modificato.

Lo spazio di aria sotto il coperchio è chiamato spazio di testa (**Figura 6**). Si suggerisce di lasciare circa 5-10 mm di spazio di testa nel caso di confetture e gelatine, 10-15 mm per frutta e pomodori da pastorizzare in acqua bollente, e 6 – 25 mm per alimenti a bassa acidità da sottoporre a sterilizzazione.

Questo spazio è necessario per l'espansione del cibo allorché i vasi vengono trattati e per la formazione del vuoto nei vasi in raffreddamento. Il grado di espansione è determinato dal contenuto d'aria e dalla temperatura di trattamento. L'aria espande notevolmente in seguito all'aumento di temperatura: maggiore è la temperatura, maggiore è l'espansione.

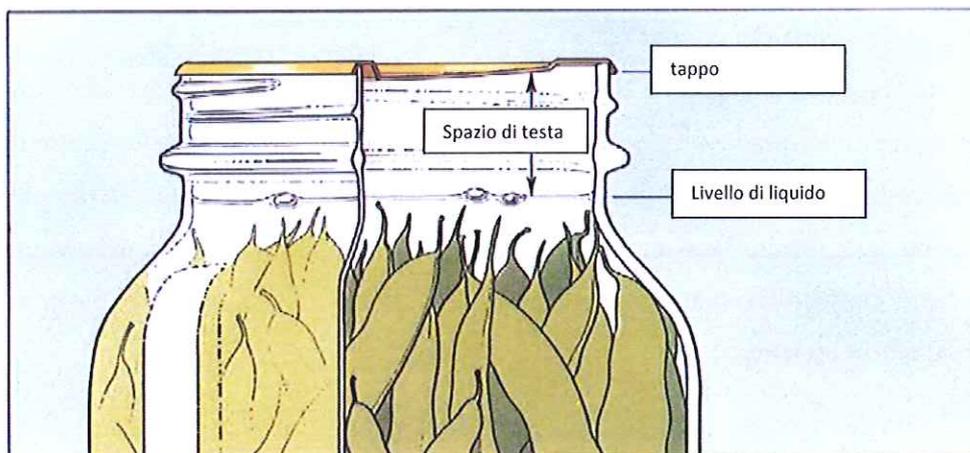


Figura 6. Spazio di testa. Fonte: “USDA (United State Department of Agriculture): *Complete guide to home canning*”, modificato.

Pulizia e preparazione dei vasi

Prima dell'utilizzo i vasi devono essere sottoposti a lavaggio con soluzione di acqua e detergente e ben risciacquati a mano, oppure lavati in lavastoviglie. Eventuali tracce di calcare sono eliminabili lasciando i vasi in una soluzione contenente acqua e aceto (circa 1 bicchiere di aceto per 4 litri di acqua) per alcune ore. Si suggerisce di procedere come segue:

- Usare una pentola sufficientemente grande per immergere i vasi vuoti puliti in acqua.
- Portare l'acqua ad ebollizione e mantenere i vasi in acqua bollente fino al momento dell'uso. In alternativa i vasi possono essere lavati, asciugati e preriscaldati in lavastoviglie mantenendo la macchina chiusa fino al momento dell'utilizzo dei vasi; oppure i vasi possono essere riscaldati in forno a temperature superiori a 100°C.
- I vasi devono essere mantenuti caldi fino al momento del riempimento.

Selezione e preparazione dei coperchi

I coperchi auto-sigillanti contengono delle guarnizioni che permettono all'aria di uscire durante il trattamento termico e offrono una tenuta ermetica durante il raffreddamento. La qualità della tenuta delle guarnizioni diminuisce nel tempo ed i tappi inutilizzati, ma vecchi, possono non fornire una tenuta stagna. E' consigliabile quindi acquistare una quantità di tappi compatibile con il consumo annuale. Evitare l'uso di tappi deformati, rotti e difettati nella chiusura.

Procedura di riempimento dei vasi

La procedura di riempimento si attua come segue:

- Riempire i vasi con il prodotto e aggiungere il liquido di governo.
- Provocare la fuoriuscita di eventuali bolle d'aria facendo scorrere e premendo una spatola di plastica tra l'alimento e la parete del vaso ruotando contemporaneamente il vaso.
- Regolare lo spazio di testa e pulire il bordo del vaso (superfici non pulite possono diminuire la tenuta del tappo).
- Chiudere i tappi evitando un serraggio eccessivo che comprometterebbe la fuoriuscita dell'aria durante la pastorizzazione ed, inoltre, potrebbe causare cedimento del tappo o rottura del vaso. Non stringere ulteriormente i tappi dopo il trattamento termico. Con il raffreddamento il contenuto del vaso si contrae creando una depressione che determina un intimo contatto tra il bordo del vaso ed il tappo.

Trattamento termico: dettagli operativi

Pastorizzazione (prodotti acidi pH < 4.5)

In assenza di impianti di pastorizzazione, è possibile condurre il trattamento termico a livello domestico con l'ausilio di apposite pentole (figura 7).

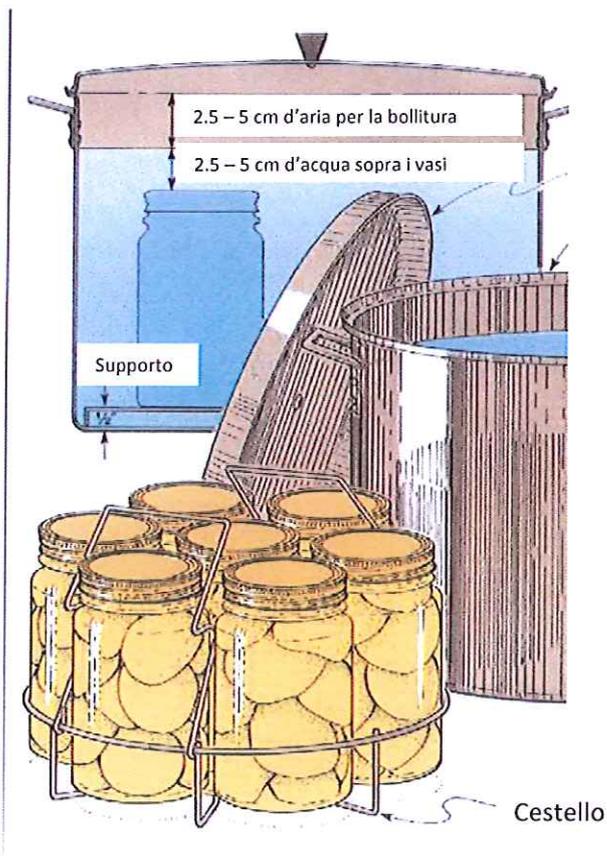
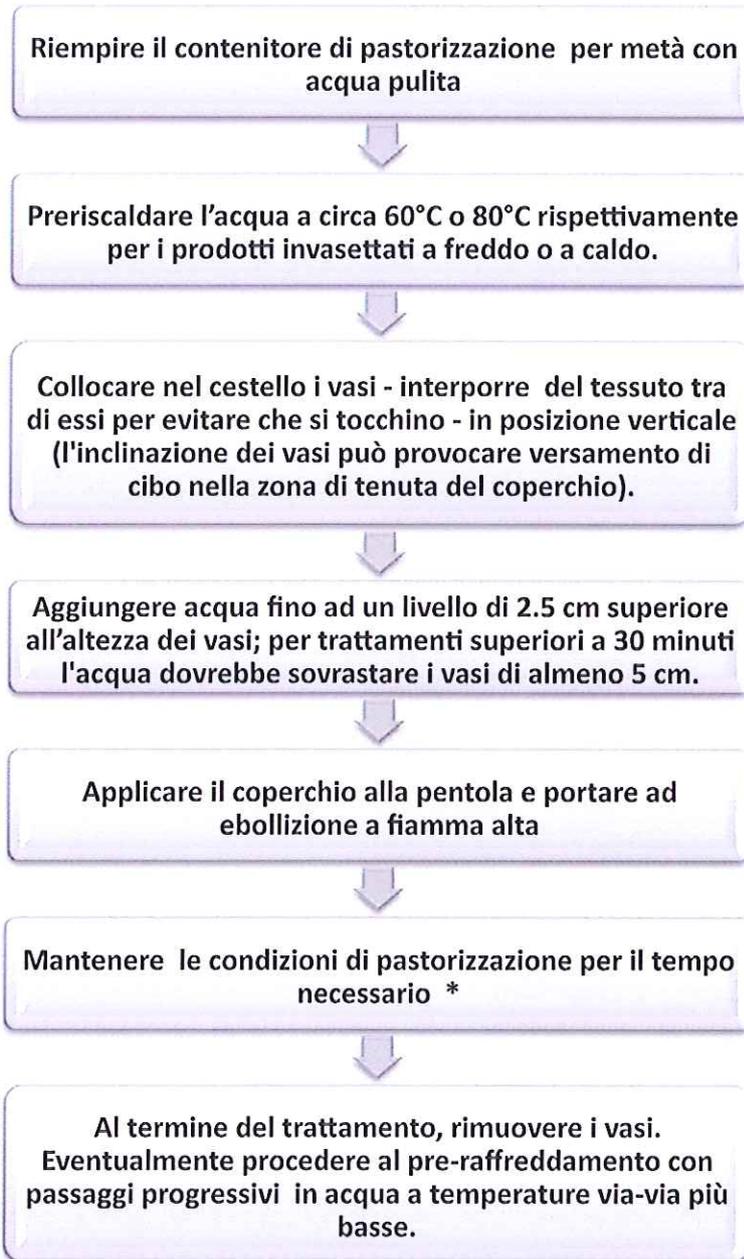


Figura 7. Esempio di posizionamento dei vasi da sottoporre a pastorizzazione. Fonte: "USDA (United State Department of Agriculture): *Complete guide to home canning*", modificato.

Procedura di pastorizzazione



* la temperatura ed il tempo di pastorizzazione vanno determinati per ogni categoria di prodotto, per ogni categoria di confezione in condizioni standard e possono avere valenza generale solo nel caso in cui il trattamento venga effettuato nelle stesse identiche condizioni (volume di acqua, intensità di riscaldamento, numero e contenuto dei vasi, dimensione dei vasi, tipologia di frutta/ortaggi, ecc). Nel caso delle piccole produzioni, contraddistinte da una certa eterogeneità di prodotto, è opportuno valutare di volta in

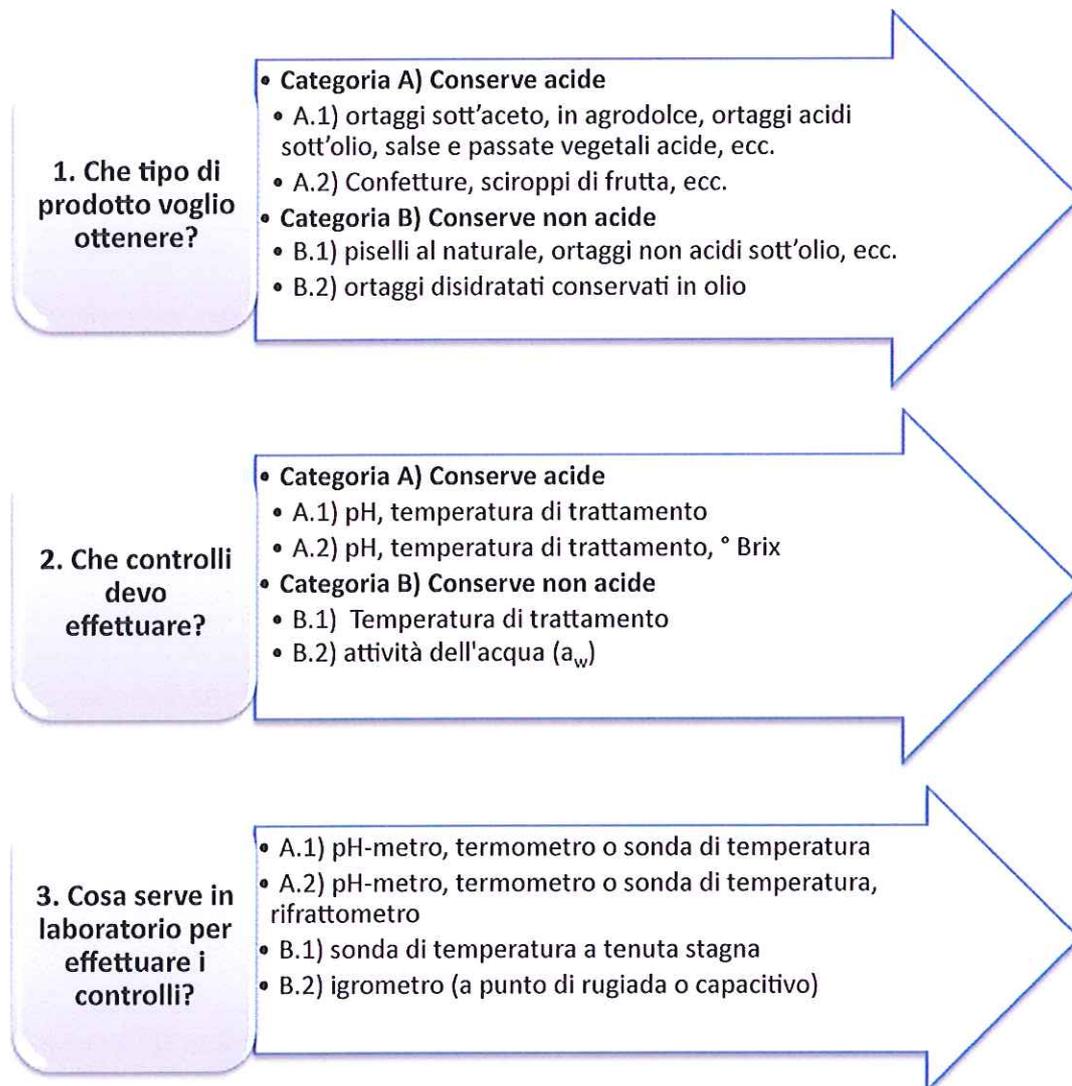
volta la curva di temperatura in funzione del tempo di trattamento termico. Tale determinazione si può effettuare come segue:

- 1- posizionare la sonda di temperatura centralmente, a circa metà altezza di un vaso campione contenente il prodotto. Per l'inserimento della sonda applicare centralmente al coperchio un piccolo foro che verrà successivamente isolato per evitare l'ingresso di acqua.
- 2- Collocare il vasetto in posizione centrale all'interno della vasca di pastorizzazione
- 3- Registrare la temperatura ad intervalli di tempo determinati
- 4- Mantenere la temperatura di pastorizzazione per il tempo strettamente necessario all'inattivazione del microrganismo "target". L'entità del trattamento termico deve essere tale da eliminare i microrganismi, minimizzando tuttavia i danni termici a carico del prodotto che potrebbero influenzare negativamente le caratteristiche sensoriali e nutrizionali del prodotto. Questa operazione richiede il calcolo del corretto trattamento termico e presuppone la conoscenza di appropriate equazioni matematiche e di alcune variabili (quali microrganismo target, tempo di morte termica, tempo di riduzione decimale, carica iniziale, ecc.). A livello domestico o di piccole produzioni alimentari difficilmente tali dati sono noti ed è quindi opportuno sovratrattare gli alimenti per garantirne la sicurezza microbiologica. Ad esempio, un trattamento di 90°C al cuore del prodotto è sufficiente per una efficace pastorizzazione.

Per le **conserve non acide (pH > 4.5)** è necessario procedere con la **sterilizzazione** avvalendosi di apposite autoclavi che sviluppano una sovrappressione e consentono il riscaldamento del prodotto a temperature superiori a 100°C, causando la devitalizzazione delle spore batteriche. Per questi prodotti il trattamento termico rappresenta l'unico ostacolo allo sviluppo di patogeni e pertanto assume un ruolo fondamentale in relazione alla sicurezza microbiologica degli stessi. Alcune variabili possono inficiare la riuscita della sterilizzazione, incluse: la tipologia di alimento (densità e viscosità del prodotto, presenza o meno di sostanze grasse, ecc., sono questi aspetti che influiscono sullo scambio di calore e quindi sulla tempistica del trattamento stesso) e la presenza di sacche di aria all'interno della camera di sterilizzazione (che impediscono al vapore di distribuirsi uniformemente e riducono l'efficacia del trattamento). Considerata questa variabilità di prodotti e produzione, è opportuno monitorare la temperatura all'interno di più campioni in diversi punti dell'autoclave mediante l'ausilio di sonde termiche a tenuta

stagna in grado di rilevare e registrare le temperature raggiunte al cuore del prodotto. Dai dati registrati dalle sonde e attraverso opportuni software, è possibile ricavare l'effetto letale o "F" che viene generalmente riconosciuto appropriato quando $F_{121^{\circ}\text{C}} = 3 \text{ min}$ (corrispondente al così detto *Botulinum cook*). A loro volta, le sonde dovranno essere sottoposte a periodica verifica e calibrazione da parte del costruttore o di enti preposti. In merito a tali considerazioni, per la sterilizzazione domestica o su piccola scala dei prodotti alimentari è opportuno avvalersi di professionisti, al fine di definire operativamente le procedure corrette.

4. SCHEMA OPERATIVO DI LAVORO: obiettivi, controlli e dotazioni di laboratorio



1. Che tipo di prodotto voglio ottenere?

La decisione rispetto alla categoria di prodotto spetta ovviamente al produttore che, per ottenere un risultato ottimale, deve effettuare una serie di operazioni coerenti con l'obiettivo iniziale. Per questo si propongono alcuni esempi di diagrammi di lavorazioni che sono stati delineati in seguito ad alcune visite conoscitive effettuate in laboratori di trasformazione del Carso triestino, ma che comunque possono essere estese ad altre realtà geografiche.

Per la categoria A) **Conserve acide**,

Sottocategoria A.1) ortaggi sott'aceto, in agrodolce, ortaggi acidi sott'olio, salse e passate vegetali acide, ecc.

Diagramma di lavorazione di ortaggi conservati in aceto.

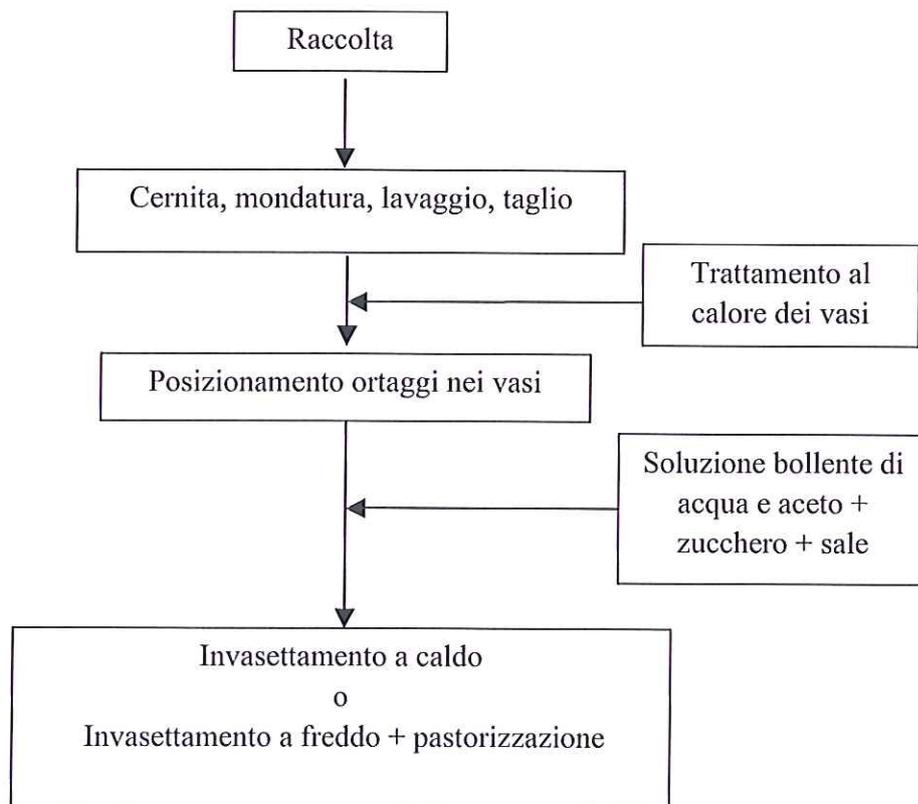
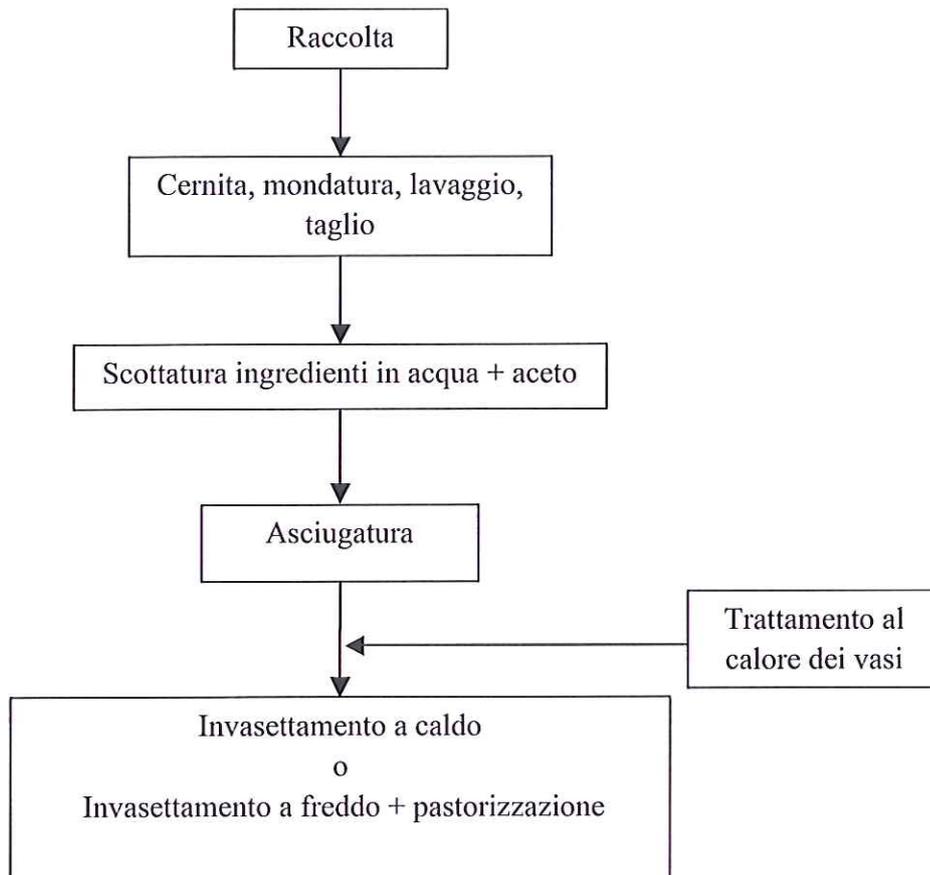


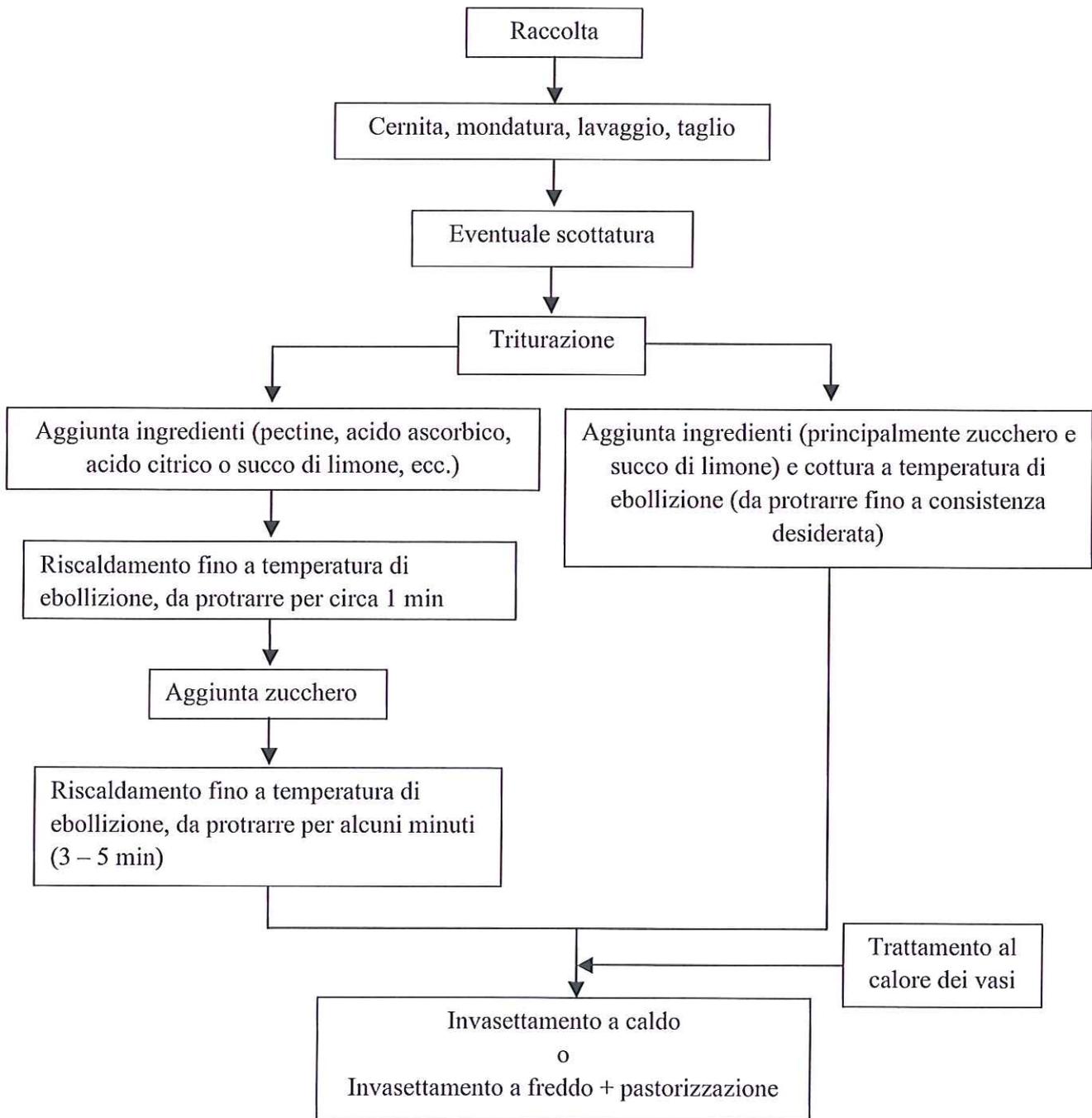
Diagramma di lavorazione di fagiolini acidificati, conservati in olio.



Per la categoria A) **Conserve acide**,

sottocategoria A.2) Confetture

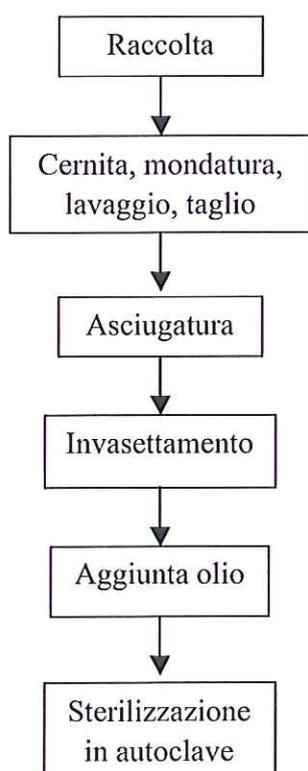
Diagramma di lavorazione di confetture.



Per la categoria **B) Conserve non acide**

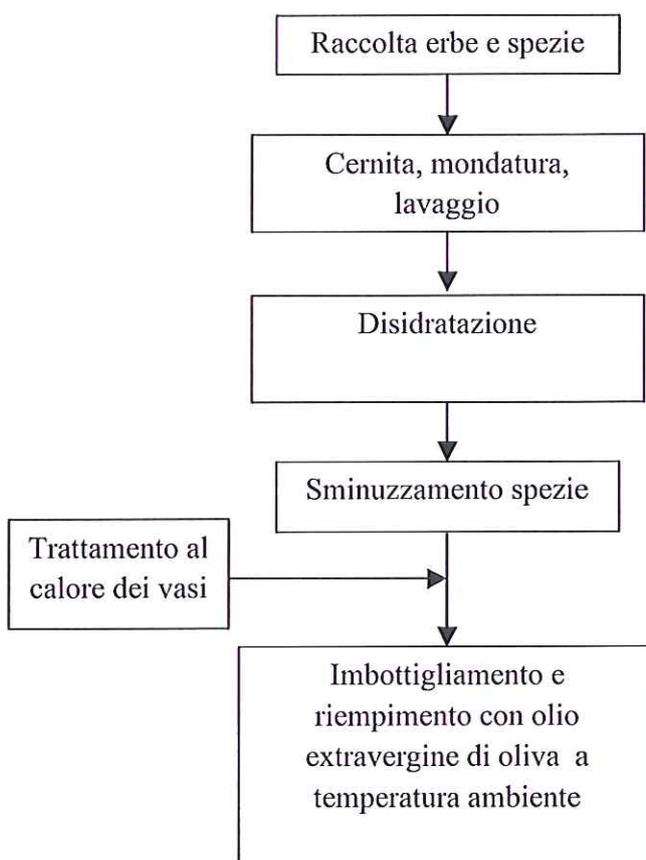
Sottocategoria B.1) ortaggi sott'olio

Diagramma di lavorazione di ortaggi conservati in olio.



Sottocategoria B.2) ortaggi disidratati sott'olio

Diagramma di lavorazione di olio aromatizzato.



2. Che controlli devo effettuare?

Per la categoria A) Conserve acide

Sottocategoria A.1) ortaggi sott'aceto, in agrodolce, ortaggi acidi sott'olio.

Monitoraggio e registrazione del pH prima e dopo l'acidificazione e sul prodotto finale.

Monitoraggio e registrazione di tempo e temperatura (cinetica) di pastorizzazione al cuore del prodotto.

Sottocategoria A.2) Confetture

Monitoraggio e registrazione del pH prima e dopo eventuale acidificazione e sul prodotto finale.

Determinazione della concentrazione in solidi solubili (in °Brix) di frutta e prodotto finito.

Monitoraggio e registrazione di tempo e temperatura di pastorizzazione al cuore del prodotto.

Per la categoria B) Conserve non acide

Sottocategoria B.1) piselli al naturale, ortaggi non acidi sott'olio, ecc.

Monitoraggio e registrazione della cinetica di sterilizzazione (trattamento termico in autoclave). Verifica dell'effetto sterilizzante.

Sottocategoria B.2) ortaggi disidratati sott'olio

Monitoraggio e registrazione della attività dell'acqua degli ortaggi, erbe, spezie dopo l'essiccamento.

3. Cosa serve in laboratorio per effettuare i controlli?

Per la categoria **A) Conserve acide**

Sottocategoria A.1) ortaggi sott'aceto, in agrodolce, ortaggi acidi sott'olio, salse e passate vegetali acide, ecc.

- . pH-metro (si rimanda alle pagine seguenti per la procedura di misurazione)
- . Termometro o sonda di temperatura (le sonde di temperatura si posizionano più agevolmente all'interno del campione fornendo, in genere, una misura più precisa)
- . Cronometro o orologio

Sottocategoria A.2) Confetture

- . pH-metro (si rimanda alle pagine seguenti per la procedura di misurazione)
- . Rifrattometro (scala compresa tra 0 ° - 80° Brix; oppure due rifrattometri con scala compresa tra 0 ° - 32° Brix e 28 ° - 62° Brix)
- . Termometro o sonda di temperatura
- . Cronometro o orologio

Per la categoria **B) Conserve non acide**

Sottocategoria B.1) piselli al naturale, ortaggi non acidi sott'olio

- Sonda termica a tenuta stagna

Sottocategoria B.2) ortaggi disidratati sott'olio

- . Igrometro (a punto di rugiada o capacitivo)

4.1. Determinazione del pH

Per la determinazione del pH si può far riferimento alla procedura dettagliata tratta dal Code of Federal Regulations (CFR, Title 21) della statunitense FDA, di seguito riportata.

Accorgimenti per il corretto funzionamento del pH-metro

- Monitorare regolarmente il livello della soluzione di KCl, in assenza della quale l'elettrodo si danneggia.
- Il bulbo sensibile dell'elettrodo deve essere mantenuto umido mediante l'applicazione di apposita soluzione (liquido di conservazione e mai acqua distillata), da inserire nel cappuccio di protezione.
- Alcune ore prima dell'uso gli elettrodi devono essere immersi in una soluzione tampone, acqua distillata o deionizzata, o altri liquidi specificati dal produttore.
- Gli elettrodi devono essere risciacquati con acqua prima di essere immersi nei tamponi standard per la calibrazione.
- Tra una determinazione e la successiva, gli elettrodi devono essere risciacquati con acqua o con la successiva soluzione da analizzare.

Eventuali ritardi nelle riposte possono indicare invecchiamento o incrostazioni degli elettrodi, in questo caso si può procedere con operazioni standard di pulizia oppure con operazioni straordinarie di pulizia*. Le incrostazioni oleose causate da oli e grassi presenti nei campioni possono essere rimosse utilizzando etere etilico. Nel caso di incrostazioni oleose è consigliabile pulire e standardizzare lo strumento frequentemente. Sono reperibili in commercio diverse soluzioni appositamente formulate per la rimozione di incrostazioni proteiche o oleose.

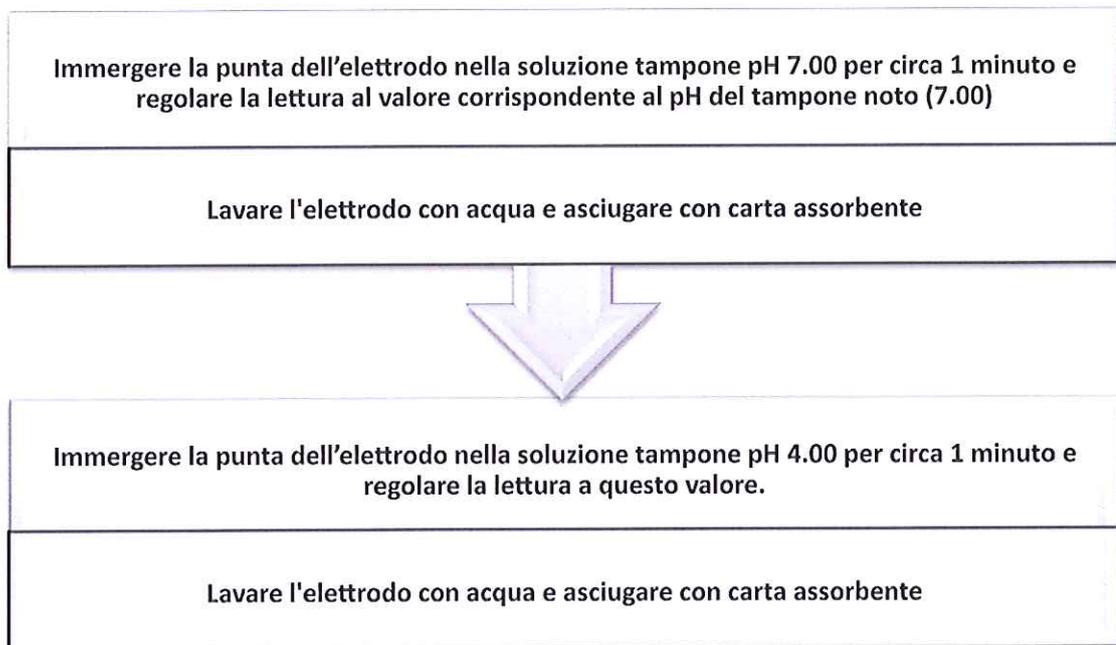
Nonostante la maggior parte degli strumenti sia dotata di compensatore automatico di temperatura, è opportuno mantenere elettrodi, soluzioni tampone e campioni ad una temperatura uniforme e compresa tra 20°C e 25°C (ottimale 25°C).

**In caso di incrostazioni, FDA raccomanda: inserire gli elettrodi in una soluzione 0.1 molare di idrossido di sodio per 1 minuto e poi trasferirli in soluzione di acido cloridrico 0.1 molare per 1 minuto. Il ciclo deve essere ripetuto due volte terminando con la soluzione acida. Gli elettrodi devono poi essere accuratamente risciacquati.*

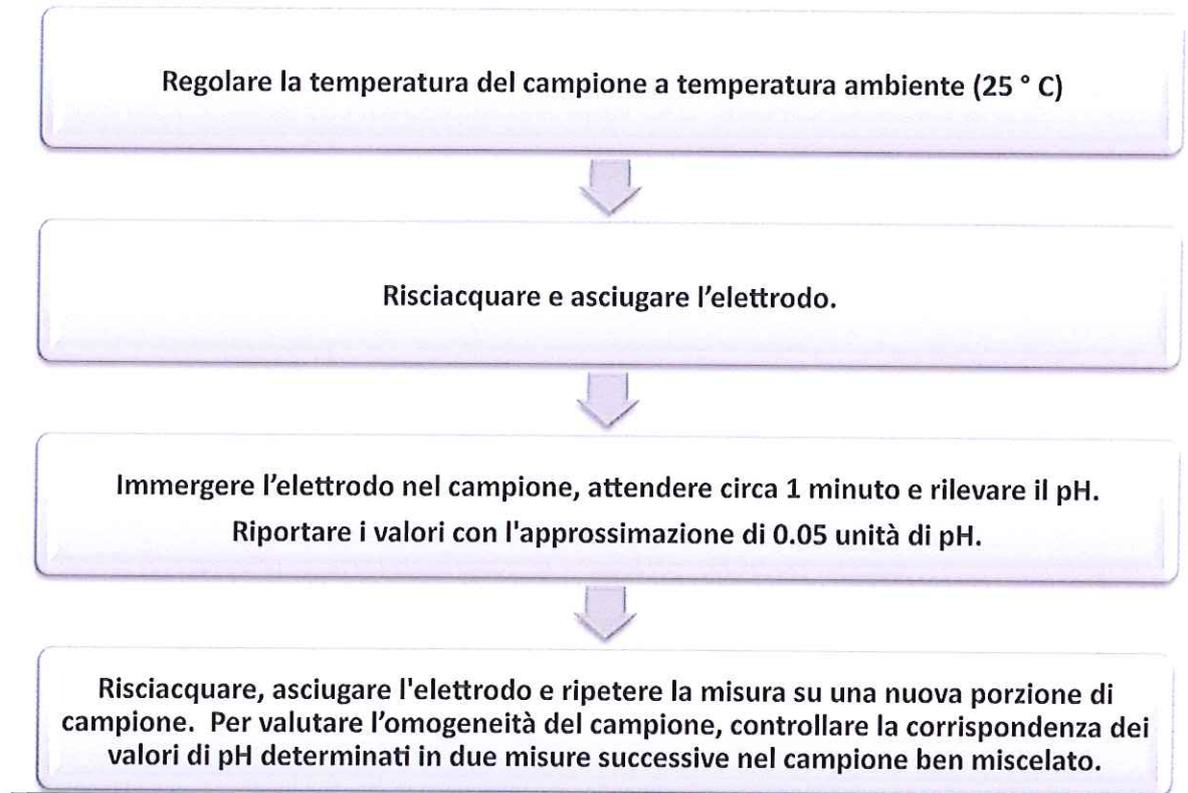
Procedura generale per la determinazione del pH.

Accendere lo strumento per consentire ai componenti elettronici di stabilizzarsi prima di procedere con la standardizzazione e successivamente con le misurazioni.

1- La standardizzazione dello strumento ed elettrodi con apposite soluzioni, già pronte e disponibili in commercio, si effettua seguendo le istruzioni dello strumento. Se non diversamente specificato, generalmente si procede come segue:



2- Determinazione del pH dei campioni



Quella del pH è una determinazione che si rende spesso necessaria, sia in fase di lavorazione, sia sul prodotto finito. La preparazione del campione per l'analisi del pH non può prescindere da alcune considerazioni relative alle caratteristiche proprie degli alimenti. Alcuni prodotti sono eterogenei e possono consistere in miscele di componenti liquidi e solidi a diversa acidità; altri possono essere semisolidi. Ciascuna categoria deve soggiacere a adeguate operazioni di preparazione del campione.

MISURA DEL pH SU PRODOTTO FINITO: PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

La procedura contemplata nei documenti del Code of Federal Regulations (CFR, Title 21) della FDA fornisce le seguenti indicazioni di carattere generale rispetto alla tipologia di prodotto.

Miscele di componenti solidi e liquidi

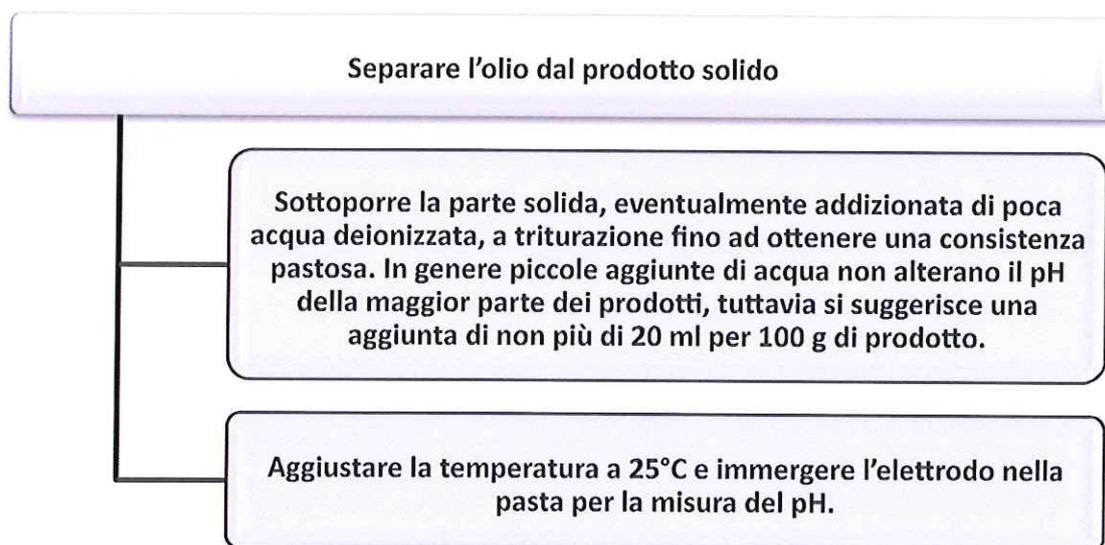
Sgocciolare il contenuto del contenitore per 2 minuti su un setaccio, preferibilmente di acciaio inossidabile, inclinato a 17 - a 20 gradi. Registrare il peso della porzione liquida e solida e tenere separate le due frazioni.

1- Se il liquido è molto oleoso e tale da determinare incrostazioni all'elettrodo, separare la fase oleosa dalla fase acquosa mediante imbuto separatore, eliminare la fase oleosa e conservare la fase acquosa. Portare la temperatura a 25°C e misurare il pH.

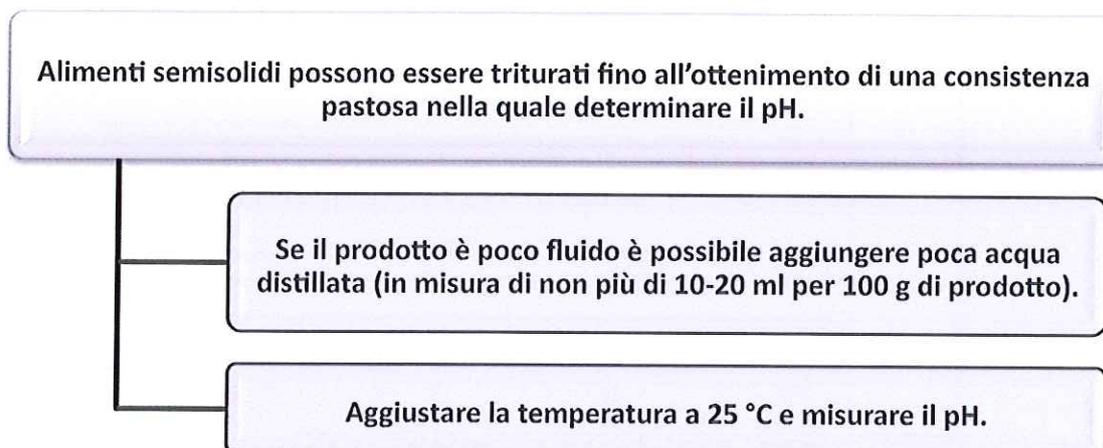
2- Rimuovere dal setaccio le porzioni solide sgocciolate, sottoporle a triturazione fino a ottenere una pasta uniforme, aggiustare la temperatura a 25°C e misurare il pH.

3- Miscelare le frazioni solida e liquida nello stesso rapporto inizialmente presente nel contenitore e tritare il tutto fino ad ottenere una consistenza omogenea. Aggiustare la temperatura a 25°C e determinare il pH all'equilibrio. Alternativamente, tritare l'intero contenuto della confezione fino ad ottenere una pasta omogenea, aggiustare la temperatura a 25°C e misurare il pH.

Prodotti marinati e conservati in olio

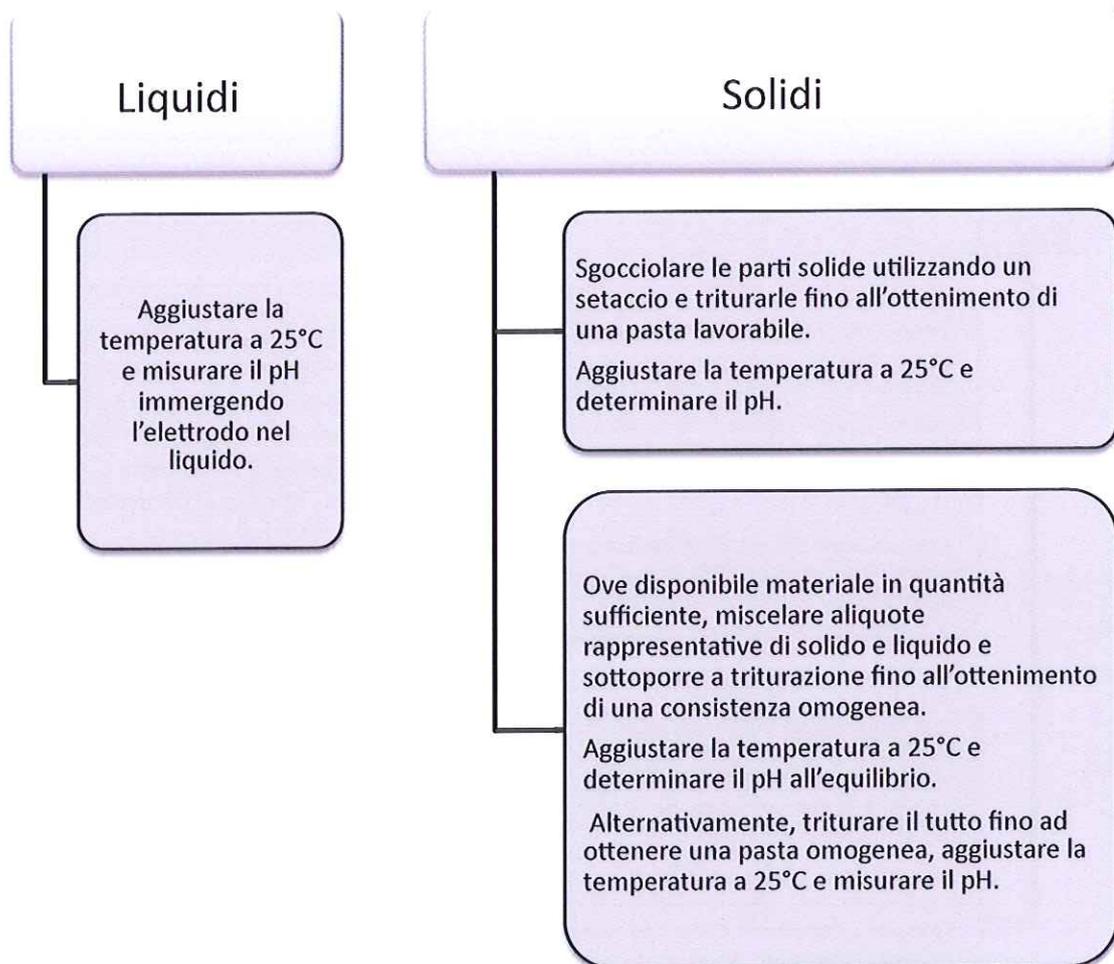


Prodotti semisolidi



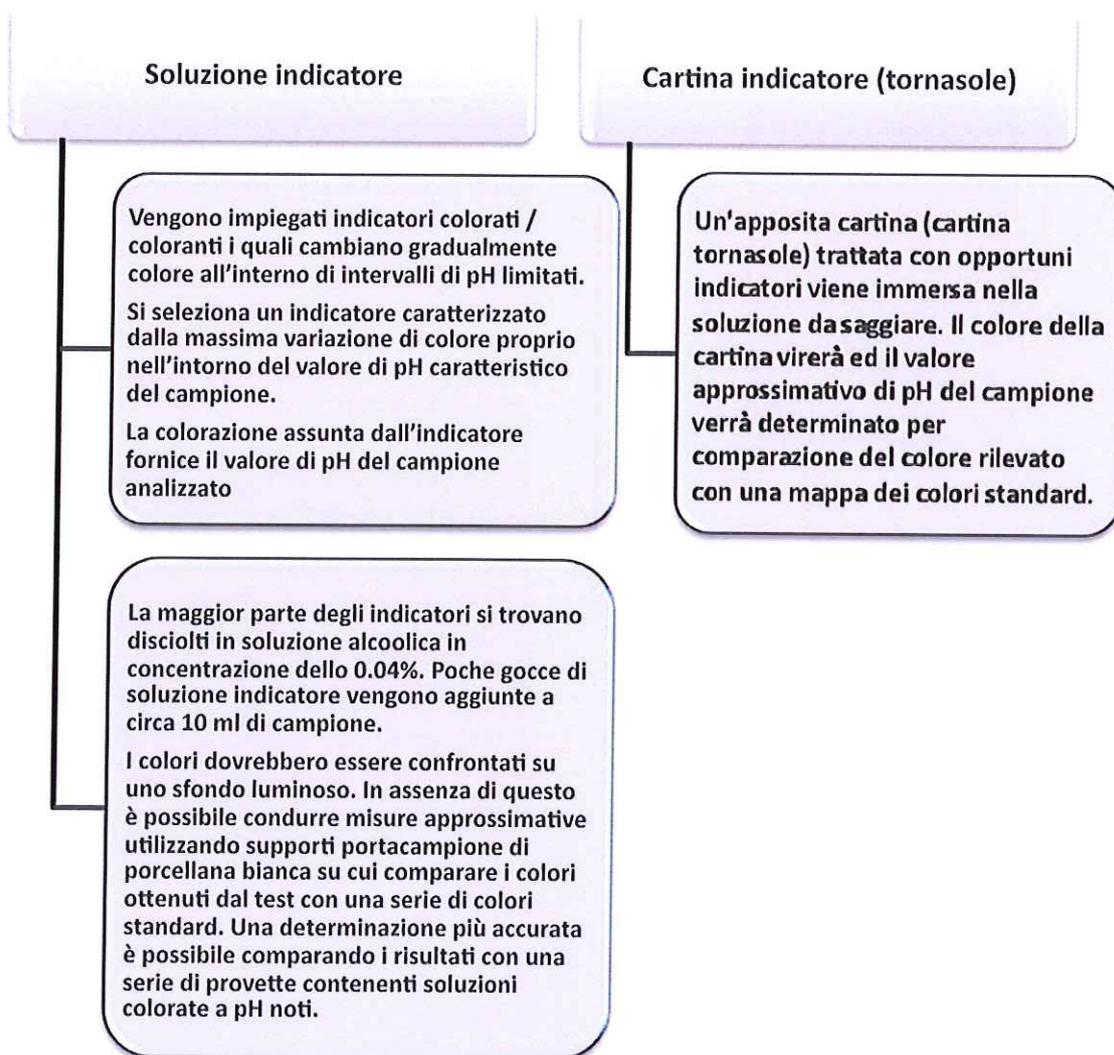
MISURA DEL pH IN FASE DI TRASFORMAZIONE: PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

Analogamente a quanto riportato per i prodotti finiti, si può procedere alla misurazione del pH in fase di trasformazione, sia sui liquidi sia sui solidi.



Qualora il pH del prodotto finito fosse inferiore a 4, per abbreviare i tempi di analisi, le misure di pH in fase di trasformazione possono anche essere effettuate con metodi alternativi al potenziometro (pH-metro), inclusi i metodi colorimetrici.

METODI COLORIMETRICI



5. ESEMPI DI PROBLEMATICHE DURANTE LA PRODUZIONE

Durante le visite conoscitive relative alla produzione di conserve vegetali acide a livello artigianale o domestico sono state rilevate alcune problematiche, tra cui:

- i. Quale ingrediente alternativo all'aceto per una efficace acidificazione di materie prime non acide?
 - ii. Acidità insufficiente degli ingredienti minori;
 - iii. Utilizzo di olio a temperatura ambiente e assenza di pastorizzazione per la produzione di sott'olio acidificati;
 - iv. Ridotta efficacia del riempimento a caldo.
- i. Spesso i prodotti orticoli presentano $\text{pH} > 4.5-4.6$ e il tradizionale intervento di acidificazione mediante scottatura in soluzione acqua/aceto o l'aggiunta di aceto può modificare in modo inaccettabile le caratteristiche sensoriali dell'alimento. Da esperienza diretta effettuata in ambito sperimentale utilizzando una macchina prototipo, ma estendibile anche ad altre realtà produttive, è stata accertata la possibilità di intervento con acidi a basso impatto sensoriale quali succhi vegetali acidi (ad esempio succo di limone, mela o kiwi) per produrre un lieve, ma sufficiente, abbassamento del pH. A titolo esemplificativo in **tabella 9** si riportano i valori di pH di peperoni tritati rilevati prima e dopo l'aggiunta di succo di kiwi e di un sugo a base di ortaggi misti ottenuto con l'aggiunta di succo di mela.

Tabella 9. Valori di pH di ortaggi tritati e di succhi di frutta e delle relative miscele.

Ingrediente	pH
Passata di kiwi	3.43
Peperoni freschi	4.95
Peperoni tritati + passata di kiwi	4.34
Miscela ortaggi tritati (peperoni, zucchine, pomodori)	4.72
Succo di mela limpido	2.75
Miscela ortaggi + succo di mela	4.19

- ii. Spesso vengono trascurate le misure di pH degli ingredienti minori (aglio, cipolla, basilico, ginepro, spezie ed erbe aromatiche varie, ecc.) che, tuttavia, possono essere poco acidi e rappresentare un pericolo dal punto di vista microbiologico. Si suggerisce di sottoporre tutti gli ingredienti alla procedura di acidificazione (sia per scottatura o con metodi alternativi) e verificare la conformità del prodotto al cuore con i valori di pH di sicurezza. In caso di mancata acidificazione al cuore si suggerisce di ridurre la pezzatura dell'ingrediente e sottoporlo nuovamente a scottatura.
- iii. L'impiego di olio a temperatura ambiente per la produzione di sott'olio acidificati/ acidi è una prassi ancora frequente nelle piccole produzioni che tuttavia va sconsigliata per evitare successivi problemi degradativi dell'alimento. E' opportuno operare con un riempimento a caldo, provvedendo al riscaldamento dell'olio al di sotto del suo punto di fumo. In queste condizioni le variazioni delle caratteristiche qualitative dell'olio sono minime nel breve periodo di conservazione, anche se nel tempo l'olio può risultare meno stabile all'ossidazione. La **figura 8** mostra a titolo esemplificativo l'evoluzione della temperatura al cuore del prodotto (fagiolini acidificati) durante la fase di riempitura con olio riscaldato a 120°C.

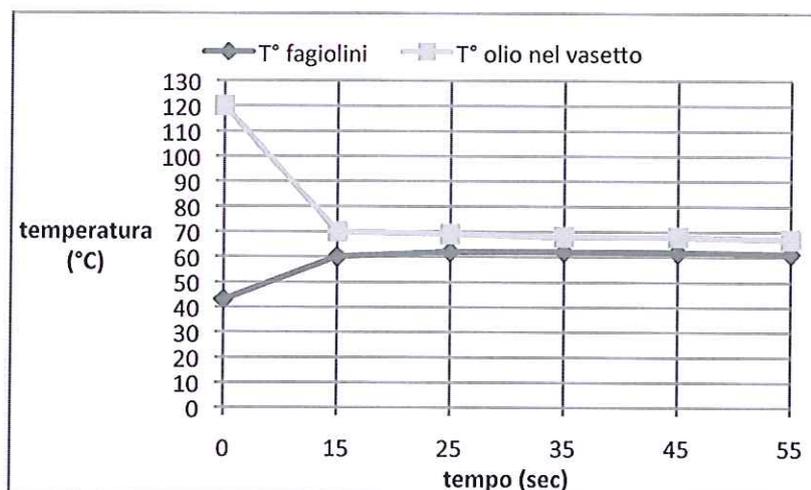


Figura 8: Evoluzione della temperatura durante la fase di invasettamento a caldo

Qualora la temperatura dell'olio fosse troppo bassa (di poco superiore ai 100 °C) e/o il rapporto prodotto/olio fosse troppo elevato, il riscaldamento sarebbe meno efficace. In questo caso è possibile ottimizzare il rapporto solido-liquido e/o aumentare la temperatura dell'olio.

- iv. Il riempimento a caldo dei vasi può essere effettuato anche mediante aggiunta di liquido di governo caldo. Tuttavia, la temperatura raggiunta al cuore del prodotto può non essere sufficiente a determinare il desiderato effetto termico. Similmente al caso precedente, per incrementare l'efficacia del trattamento termico è possibile diminuire il rapporto prodotto/liquido di governo in modo da poter garantire una più elevata temperatura al cuore. A titolo di esempio si riportano i dati relativi a ortaggi misti confezionati a caldo con liquido di governo (figura 9).

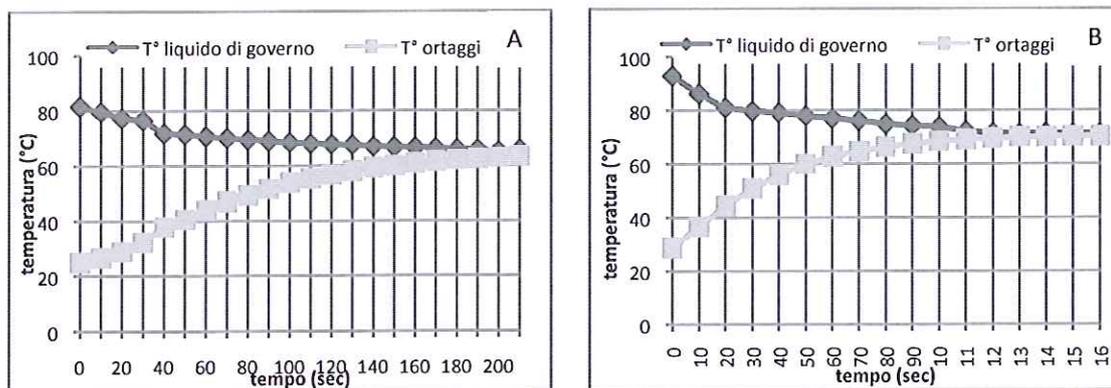


Figura 9. Cinetica di temperatura durante la fase di invasettamento di ortaggi misti in soluzione acqua/aceto/zucchero a caldo. Dati acquisiti precedentemente (A) e successivamente (B) alla riduzione della quantità in peso degli ortaggi.

La diminuzione di solidi ha portato ad un aumento di temperatura di circa 8°C al cuore del prodotto e questo si è tradotto in un trattamento termico equivalente F_{70} di 1.1 minuti, pari a 7.7 riduzioni decimali di *L. monocytogenes*. Complessivamente, la modifica apportata ha contribuito ad innalzare un “ostacolo” supplementare a garanzia della stabilità del prodotto finito.

6. BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

USDA 2009. Complete Guide to Home Canning. Guide 1. Principles of home canning. National Institute of Food and Agriculture. United States Department of Agriculture.

FDA 2012. CFR - Code of Federal Regulations Title 21, Volume 2. U.S. Department of Health & Human Services. Disponibile on line: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=110&showFR=1>

Regolamento (CE) n. 2073/2005 della commissione del 15 novembre 2005: sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. *Gazzetta ufficiale n. L 338 del 22/12/2005*.

Regolamento (CE) n. 1441/2007 della commissione del 5 dicembre 2007, che modifica il regolamento (CE) n. 2073/2005: sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. *Gazzetta ufficiale n. L 322 del 7/12/2007*.

LA PRESENTE GUIDA, CHE NON HA LA PRETESA DI ESSERE ESAUSTIVA, RAPPRESENTA UN SUPPORTO TECNICO-OPERATIVO PER LA TRASFORMAZIONE SU PICCOLA SCALA DI PRODOTTI ALIMENTARI DI ORIGINE VEGETALE E CONSIDERA PRINCIPALMENTE GLI ASPETTI MICROBIOLOGICI.

Progetto MIERI: “Miniaturizzazione e semplificazione di linee di trasformazione per piccole produzioni agroalimentari ed impiego di energie rinnovabili”, finanziato dal MiPAAF (Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali).

Udine, 26 settembre 2012