



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE AGROALIMENTARI

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN SCIENZE E TECNOLOGIE  
ALIMENTARI

**STUDIO INTEGRATO DI TRATTAMENTI  
CON OZONO E DIPPING SU MELE DI IV  
GAMMA: QUALITÀ, SICUREZZA E  
PROLUNGAMENTO DELLA SHELF LIFE**

Tesi di laurea magistrale in Qualità e Formulazione degli alimenti

**Relatore**

**Prof. Pietro Rocculi**

**Presentata da**

**Francesco Orazzo**

**Correlatore**

**Giulio Giannini**

---

**dicembre duemilaventicinque**

**Anno Accademico 2024/2025**

## Indice

Introduzione .....	4
1 Processo di produzione delle frutta di IV gamma .....	5
1.1 Criteri di selezione della materia prima .....	5
1.2 Principali cause del deterioramento.....	6
1.3 Operazioni unitarie di processo .....	6
2 Modifiche delle qualità indotte dal taglio .....	8
2.1 Produzione di etilene.....	9
2.2 Respirazione .....	10
2.3 Imbrunimento enzimatico .....	11
2.4 Texture .....	13
2.4.1 Modifiche della Texture nella frutta di IV gamma.....	14
2.5 Perdita di acqua.....	15
2.6 Microbiologia .....	15
2.6.1 Legislazione igienico-sanitaria dei prodotti di IV gamma .....	17
3.1 Dipping.....	18
3.1.1 Agenti anti-imbrunimento.....	18
3.1.2 Agenti texturizzanti .....	18
3.1.3 Agenti antimicobici .....	19
3.2 Packaging.....	21
3.3 Modified atmosphere packaging (MAP) .....	21
3.4 Active Packagings .....	24
3.4.1 Adsorbitori .....	24
3.4.2 Emettitori di composti antimicobici .....	25
3.5 Edible coatings.....	26
3.6 Ozono .....	28
3.6.1 Impianti di produzione Ozono.....	29
3.6.2 Caratteristiche fisiche dell'ozono in fase gassosa.....	31
3.6.3 Caratteristiche fisiche dell'ozono in fase acquosa .....	31
3.6.4 Attività antimicobica dell'ozono.....	32
3.6.5 Effetti dell'ozono sulle caratteristiche chimiche e nutrizionali .....	33
3.6.6 Effetti sulle caratteristiche sensoriali .....	34
3.7 Luce Ultravioletta (UV) .....	35
3.8 Luce pulsata.....	36
3.9 Acqua elettrolizzata (EW).....	36
4 Materiali e metodi.....	37

[Digitare qui]

[Digitare qui]

[Digitare qui]

4.1 Preparazione del campione .....	37
4.2 Trattamenti .....	37
4.3 Determinazioni analitiche .....	38
4.3.1 Colore .....	38
4.3.2 Analisi d'immagine .....	38
4.3.3 Sostanza secca .....	39
4.3.4 Texture .....	39
4.3.5 Respirazione .....	40
4.3.7 Microbiologia .....	41
4.3.8 pH .....	42
4.4 Analisi statistica .....	42
5 Risultati .....	43
5.1 Analisi di immagine e colorimetria .....	43
5.2 Analisi della sostanza secca .....	46
5.3 Texture .....	47
5.4 Respirazione e calorimetria in isotermia .....	49
5.5 Analisi microbiologica .....	53
5.6 pH .....	56
6 Conclusioni .....	58

## Introduzione

La vita frenetica del consumatore moderno è scandita da impegni lavorativi e attività ricreative. In questo contesto è sempre più difficile trovare il tempo e le energie necessarie per preparare piatti nutrienti. Inoltre, la ricerca del benessere e l'educazione alimentare lo porta a perseguire uno stile di vita sano. Le scelte al supermercato, di conseguenza, sono sempre più indirizzate verso dei prodotti di facile fruizione come frutta di quarta gamma.

Secondo la legge del 13 maggio 2011, n. 77 “Si definiscono prodotti ortofrutticoli di quarta gamma i prodotti ortofrutticoli destinati all'alimentazione umana freschi, confezionati e pronti per il consumo”.

Questi prodotti hanno però una shelf-life limitata dallo sviluppo di imbrunimento enzimatico, dalla perdita di texture e dalla proliferazione microbica. Storicamente, questi prodotti sono stati facilmente conservati tramite l'uso di solfiti. Tuttavia, nel 1994 l'ente statunitense Food and Drug Administration (FDA) ha vietato il loro utilizzo negli Stati Uniti in quanto allergeni; di conseguenza, l'industria alimentare è stata incentivata a cercare nuovi metodi di conservazione come nuove molecole naturali, packaging attivi, *“edible coatings”*, l'utilizzo di atmosfere modificate passive, trattamenti non termici, migliorie della catena del freddo ed assorbitori di etilene.

La presente tesi ha avuto l'obiettivo di valutare l'efficacia di un trattamento ad ozono in fase gassosa (60 mg/L per 1 minuto) in linea per le mele 'Cripps Pink' di IV gamma. Il trattamento è stato confrontato con l'immersione in una soluzione di acido ascorbico e carbonato di calcio, e con l'applicazione combinata di entrambi i metodi, al fine di determinare la loro capacità di migliorare la qualità microbiologica, preservando al contempo le caratteristiche fisico-chimiche, monitorandola per i successivi 14 giorni di conservazione in cella a 4-6 °C.

## 1 Processo di produzione delle frutta di IV gamma

Il processo di produzione della frutta di IV gamma ha come obiettivo quello di preservare, per quanto possibile, le caratteristiche qualitative della materia prima. Infatti, la frutta di IV gamma è soggetta ad alterazioni di colore, sapore e odore, oltre a perdita di texture, peso e, infine, alla proliferazione micobica.

Per contrastare questi fenomeni, le aziende devono disporre di una serie di accorgimenti durante tutto il processo produttivo, che verranno brevemente discussi nei seguenti paragrafi.

### 1.1 Criteri di selezione della materia prima

Il processo di produzione inizia dalla selezione della materia prima (De Corato, 2019). Essa ricopre un ruolo fondamentale, poiché non tutte le varietà si dimostrano adatte alla trasformazione in prodotti ortofrutticoli di IV gamma. La scelta risiede fondamentalmente nella capacità del prodotto di resistere ai cambiamenti fisiologici indotti dal taglio, che verranno approfonditi successivamente.

Dopo aver scelto la cultivar, è importante stabilire il momento ottimale per la raccolta e garantire una corretta gestione della frutta nella fase post-raccolta, decisiva nella qualità finale del prodotto. In questi stadi della filiera, una manipolazione corretta del prodotto evita danni meccanici e, se abbinata ad una efficiente refrigerazione, è in grado di garantire un miglioramento di base della qualità del prodotto finale (De Corato, 2019).

I criteri di selezione della materia prima per la frutta di IV gamma sono legati ad aspetti visivi, sensoriali e chimici. In questo caso particolare, le mele sono selezionate in base alla assenza di difetti visivi (macchie, ferite), alla grandezza e alla forma. In generale, vengono scelte mele con diametro superiore a 70 mm, in quanto dimensioni inferiori possono ridurre la resa fino al 50% (Soliva-Fortuny, 2020). Per quanto concerne i parametri chimici, questi sono strettamente correlati all'aspetto gustativo. In generale, è necessario scegliere il giusto compromesso tra il rapporto zuccheri/acidi per avere un prodotto gustoso ma non eccessivamente deperibile. Nel caso della mela,

10.5 °BRIX viene preso come valore soglia minimo (Soliva-Fortuny, 2020).

Ad ogni modo, tutti i criteri di selezione della materia prima devono essere conformi con le disposizioni della norma sulle mele del CODEX STAN 299-2010 (CODEX Alimentarius Commission, 2010).

## 1.2 Principali cause del deterioramento

La frutta di IV gamma, mele incluse, è soggetta ad un rapido deterioramento della qualità.

Di seguito sono espresse le principali cause della perdita della qualità nelle mele di IV gamma:

- Grado di maturazione non idoneo al momento della lavorazione (frutti immaturi o troppo maturi).
- Manipolazione non corretta delle materie prime precedente alla lavorazione (danni meccanici, urti).
- Mancato mantenimento della catena del freddo.
- Danni meccanici dovuti a condizioni non idonee durante la lavorazione (lame non affilate, cadute eccessive,).
- Uso non corretto dei materiali di confezionamento (la permeabilità non consente di raggiungere l'equilibrio tra consumo di O<sub>2</sub> e produzione di CO<sub>2</sub>, sviluppando una condizione di anaerobiosi). (Soliva-Fortuny et al., 2020).

## 1.3 Operazioni unitarie di processo

Il primo step della lavorazione della frutta di IV gamma è sempre il lavaggio in soluzioni di agenti disinfettanti, che possono, tuttavia, lasciare residui sulla frutta. Di conseguenza, vengono rimossi con un'operazione di risciacquo (Francis et al., 1999).

La fase successiva è l'operazione di taglio, da effettuarsi con numerose accortezze, dal momento che è una fase cruciale ai fini della shelf-life finale del prodotto. In primo piano c'è il grado di affilatura delle lame, di cui Incardona et al., (2025) hanno misurato l'influenza sulla qualità visiva finale di fette di mela. Lo studio, che ha identificato 4 diversi gradi di affilatura, ha concluso che le fette ottenute con lame meno affilate (ossia, dal grado di affilatura più basso) hanno, dopo 14 giorni di conservazione, un aspetto visivamente più deteriorato rispetto a quelle tagliate con lame più affilate. Nel medesimo studio, misurando le variazioni di colore secondo la scala CIElab, si è osservato come il valore L\*(luminosità) per le fette tagliate con lame poco affilate si

abbassa del 4.9% lungo i 14 giorni di conservazione, mentre **a\***(rosso/verde) passa da 1.22 a 3.32. Tali valori restano invece stabili per quelle fette di mela per tagliate con le lame più affilate, mostrando come le fette si insuriscano e passino progressivamente verso il rosso a causa del grado di affilatura delle lame. Inoltre, tagliare la frutta con lame poco affilate comporta un aumento della produzione di etilene e di cattivi odori (Hodges, 2008; Toivonen,

2008). È da sottolineare come diversi stili di taglio (fette, cubetti, strisce) influenzino la superficie esposta e l'intensità delle reazioni di imbrunimento: strumenti più affilati producono tagli più puliti, limitando i danni ai tessuti (Ahvenainen, 1996).

La fase successiva può prevedere, se necessario in base al tipo di frutto, l'applicazione di un trattamento conservante. In genere, tali conservanti vengono applicati tramite *dipping*, ovvero un'immersione di pochi minuti in soluzioni contenenti composti capaci di ritardare il deterioramento fisiologico della frutta. A questo punto la frutta è pronta per essere asciugata, confezionata e stoccatà a temperatura di refrigerazione. In figura 1 è riassunto il processo produttivo.

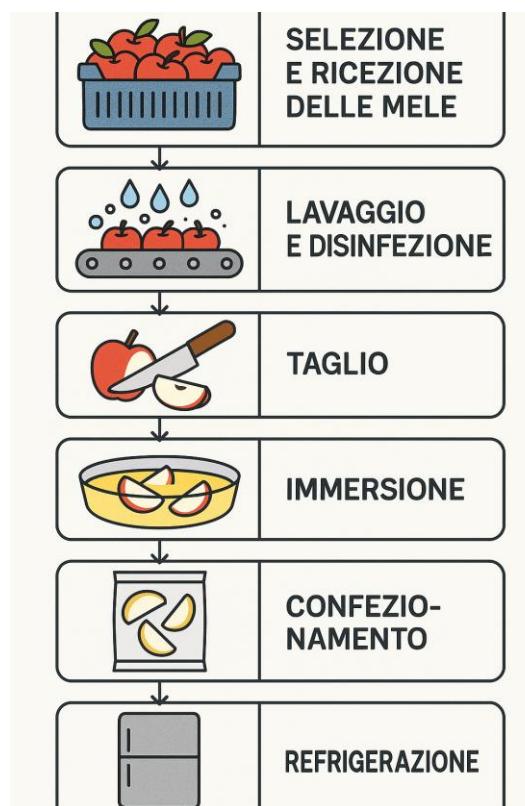


Figura 1. Schema del processo delle operazioni unitarie del processo produttivo delle mele di IV gamma. rielaborato da (De Corato, 2019).

## 2 Modifiche delle qualità indotte dal taglio

Il taglio ha conseguenze significative sulla shelf-life della frutta di IV gamma. Infatti, la frutta tagliata è molto più deperibile della frutta intera. La maggiore deperibilità è dovuta alla produzione di ormoni come risposta alla ferita. Tra questi, l'etilene ricopre un ruolo fondamentale, perché l'aumento della sua sintesi, conseguente al taglio, porta all'aumento del tasso di respirazione, accelerando il naturale processo di senescenza (Baldwin et al., 2011). Il taglio, inoltre, porta ad un rapido deterioramento della parete cellulare, perché attiva alcuni enzimi che ne compromettono la struttura, con conseguente calo della texture del frutto. L'esposizione all'aria della polpa porta anche ad un rapido cambio di colore (imbrunimento enzimatico) della superficie di taglio. Anche questo fenomeno dipende dall'azione di enzimi che coinvolgono i composti fenolici. Infine, la polpa esposta della frutta si dimostra un buon substrato per la crescita micròbica che può essere contaminata nelle fasi successive del processo di produzione. Queste, appena descritte in breve, sono le principali modifiche che avvengono ai danni della frutta di IV gamma che nei paragrafi successivi verranno approfondite.

Alcune delle cause del deterioramento sono presenti già a partire dalla frutta intera, come ad esempio respirazione e produzione di etilene. Altre invece sono conseguenza del taglio come l'imbrunimento enzimatico e crescita micròbica.

**TABLE 4.2**  
**Wound Responses**

- Increased ethylene production
- Cell wall degrading enzymes (PG)—softening
- Chlorophyll degradation (chlorophyllase)—degreening
- Membrane leakage (lipoxygenase)—water soaking
- Carotenoid synthesis, anthocyanin synthesis—color development
- Phenolic metabolism
- Volatile synthesis (?)
- Susceptibility to pathogens
- Reduced shelf life
- Phenolic metabolism (polyphenyloxidase [PPO], peroxidase [POD], and phenylalanine ammonia-lyase [PAL])
- Browning
- Secondary metabolites like lignin (toughening of asparagus) or coumarin (bitterness in carrots)
- Increased respiration
- Use up sugars, acids—poor flavor
- Use up ascorbic acid—reduced nutrition
- Generated heat
- Reduced shelf life

*Figura 2. Schema riassuntivo delle reazioni fisiologiche conseguenti al taglio (Baldwin e Bai, 2011).*

## 2.1 Produzione di etilene

L'etilene è un idrocarburo alifatico volatile ( $C_2H_6$ ) ed è un ormone prodotto dalle piante. È coinvolto in numerosi processi dalla crescita delle radici alla maturazione dei frutti. In relazione alla produzione di etilene, la frutta viene classificata in due categorie: frutti climaterici e non climaterici.

I frutti climaterici mostrano un aumento significativo della respirazione (picco climatico) e della produzione di etilene durante la maturazione, anche dopo la raccolta. Questo aumento induce cambiamenti fisiologici e biochimici che portano alla maturazione completa del frutto (Beckles., Kader, et al., 2025).

I frutti non climaterici non mostrano un aumento significativo della respirazione né della produzione di etilene dopo la raccolta e, pertanto, non maturano ulteriormente. Essi devono essere raccolti quando hanno raggiunto la maturazione desiderata sulla pianta (Beckles, Kader et al., 2025).

In particolare, la stimolazione della maturazione dei frutti climaterici è da considerare sia un aspetto positivo che negativo. Infatti, è sì responsabile della comparsa di caratteristiche ricercate nella frutta come aromi, cambi di colore desiderati e modifica della texture; tuttavia, gli stessi effetti nel post raccolta si convertono in negativi dal momento che la produzione di etilene è la causa di un'eccessiva perdita di consistenza, produzione di aromi indesiderati, tutti aspetti che si riassumono in una generale perdita della qualità del

frutto (Martínez-Romero et al., 2007). La biosintesi dell'etilene nelle piante inizia partendo dall'aminoacido Metionina. La metionina subisce 3 reazioni catalizzate dai seguenti enzimi, in ordine: (S-adenosilmethionine) SAM sintetasi, (1-aminoacilciclopropano 1-carbossilico) ACC sintetasi e ACC ossidasi fino ad arrivare all'etilene (Yang e Hoffman, 1984).

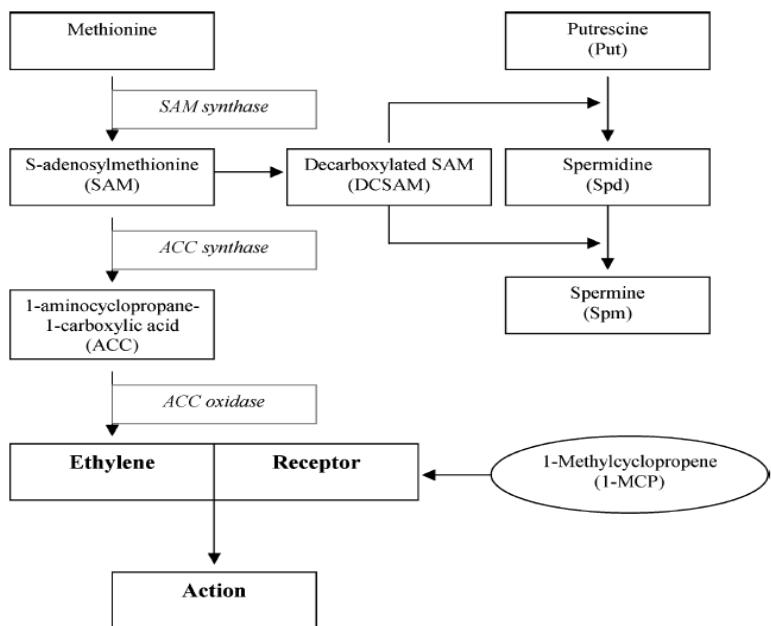


Figura 3. Parziale biosintesi dell'etilene nelle piante (Martínez-Romero et al., 2007).

Ad ogni modo, l'etilene è un ormone che viene prodotto dal frutto, indipendentemente se climatico o non, come risposta fisiologica al taglio (Toivonen et al., 2008). Le conseguenze dell'aumento della produzione di etilene sono una più rapida maturazione ed una riduzione della consistenza (Cortellino et al., 2015), osservabili già a distanza di poche ore (Toivonen et al., 2008).

## 2.2 Respirazione

La respirazione è il processo attraverso il quale le piante producono energia, assorbendo ossigeno ( $O_2$ ) e rilasciando anidride carbonica ( $CO_2$ ) nell'atmosfera.

La fisiologia della respirazione comprende tre vie metaboliche associate ai carboidrati: glicolisi, ciclo degli acidi tricarbossilici con annessa catena di trasporto degli elettroni, ed in minima parte la via del pentoso fosfato (Baldwin e Bai, 2011).

La relazione tra O<sub>2</sub> consumato e CO<sub>2</sub> rilasciata durante la respirazione è detta rapporto di respirazione (RQ) (Baldwin e Bai, 2011).

Nella frutta di IV gamma, il RQ può aumentare dalle 3 alle 7 volte rispetto al frutto intero. Un rapporto di respirazione elevato è generalmente associato ad un shelf-life più breve. Infatti, Kays (1991) riporta come frutta e ortaggi con RQ più basso come mele, cipolle, limone e patate riescono ad estendere la propria shelf-life.

È stata osservata una correlazione positiva tra aumento del rapporto di respirazione e produzione di etilene; il taglio, dunque, è una delle condizioni principali che inducono un aumento dello stress metabolico, quindi della respirazione e della produzione di etilene (Toivonen et al., 2008), portando la frutta ad un peggioramento rapido di qualità generale, perdita di durezza, riduzione del contenuto zuccherino, aroma e sapore (Gross et al., 2016).

È possibile osservare il fenomeno della respirazione monitorando la concentrazione di O<sub>2</sub> all'interno del packaging: essa si riduce con il prolungarsi del periodo di conservazione, allo stesso modo aumenta la concentrazione della CO<sub>2</sub> (Silveira Alexandre et al., 2022).

### 2.3 Imbrunimento enzimatico

L'imbrunimento enzimatico è un cambiamento di colore della polpa che interessa frutta come mele e pere, avviene in seguito al taglio ed interessa solo la parte della polpa esposta all'aria in seguito a quest'operazione (Toivonen et al., 2008).

La reazione di imbrunimento enzimatico avviene a carico di due enzimi, la polifenolossidasi (PPO) e, marginalmente, dalla polifenol-perossidasi (POD), enzimi che in condizioni normali sono coinvolti in formazione di colori, smaltimento dell'ossigeno e difesa contro i patogeni (Queiroz et al., 2008), il cui pH ottimale è compreso tra 4.0 e 7.0 in relazione alla specie osservata. In particolare, per le mele è compreso tra 6.0-6.2 in base alla varietà (Zhang, 2023).

La PPO catalizza la ossidazione di sostanze fenoliche in chinoni in presenza di ossigeno (cofattore), mentre la POD utilizza come cofattore il perossido di idrogeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Per comprendere perché queste reazioni non avvengano in condizioni normali ma dipendano dal taglio bisogna dare uno sguardo alla struttura cellulare.

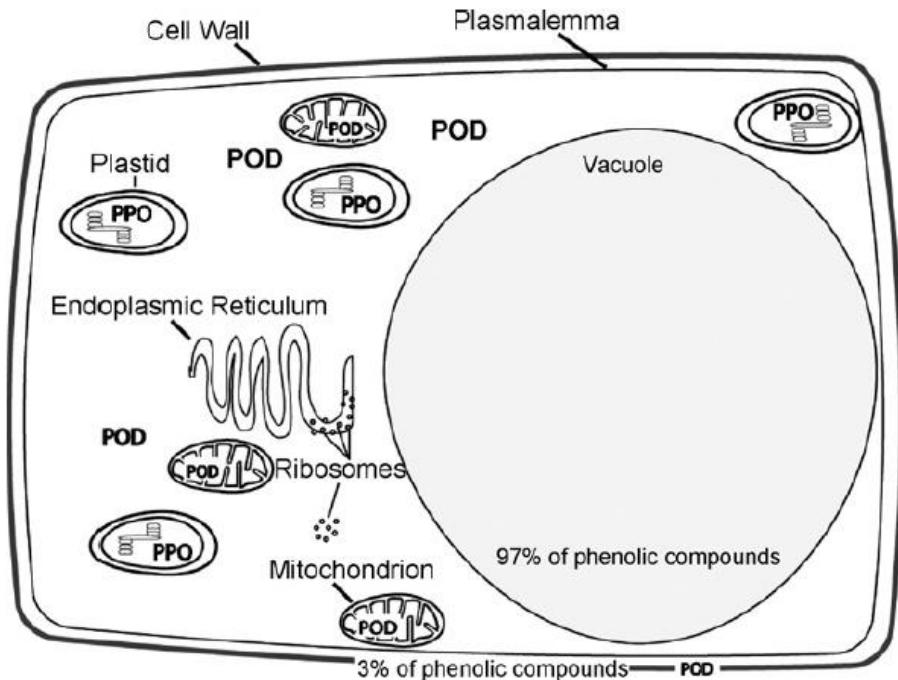


Figura 4. Schema della distribuzione all'interno di una cellula vegetale di composti fenolici ed enzimi associati all'imbrunimento enzimatico (Toivonen et al., 2008)

La fig. 4 ci permette di individuare tutti i composti coinvolti in questa reazione: troviamo i fenoli all'interno dei vacuoli, mentre gli enzimi (PPO e POD) sono sparsi per il citoplasma o dentro altri organelli (Toivonen et al., 2008). Il taglio, quindi, causa l'esposizione della superficie interna all'aria (ossigeno) e la rottura del vacuolo, con riversamento delle sostanze fenoliche all'interno del citoplasma. Così facendo, gli enzimi hanno facile accesso a substrato e cofattore, catalizzando velocemente il processo.

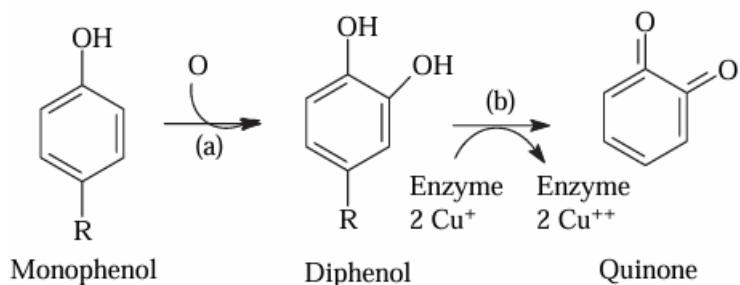


Figura 5. Meccanismo di reazione PPO (Queiroz et al., 2008).

L'imbrunimento enzimatico avviene in due fasi: nella prima i fenoli reagiscono attraverso l'azione degli enzimi PPO e POD, portando prima alla formazione dei Chinoni, come mostrato nella fig. 5.

I chinoni reagiscono spontaneamente con loro stessi o con altri fenoli, portando alla formazione di composti bruni, le melanine, responsabili della colorazione scura. Questa fase, a differenza della precedente, non prevede il coinvolgimento di alcun enzima (Nath et al., 2022).

Nelle mele i composti che subiscono questo processo sono ovviamente i fenoli. Il composto fenolico più presente, indipendentemente dalla varietà, è l'acido clorogenico, con una media di  $28.42 \text{ mgL}^{-1}$  (Kuram et al., 2018). Altri polifenoli molto rappresentati nelle mele sono catechine ed epicatechine (Łata et al., 2009).

L'imbrunimento enzimatico è un fenomeno osservato in tutte le varietà di mele, ma è stato riscontrato da Persic et al. (2017) che l'entità della variazione del colore può essere più o meno incisiva a seconda della varietà presa in esame.

## 2.4 Texture

La texture è una proprietà che influenza moltissime caratteristiche dei prodotti di IV gamma, tra le quali durezza, succosità, croccantezza e granulosità (Harker et al., 1994).

Di queste, le proprietà meccaniche che risultano più facilmente osservabili e che hanno rilevanza per il consumatore sono durezza e succosità, dal momento che sono facilmente percepibili al palato (Toivonen et al., 2008).

La durezza è intesa come la sensazione di compattezza percepita al tatto di un frutto. Principalmente è influenzata dalla sua anatomia fisica, incluse le dimensioni, forma e disposizione delle cellule, spessore e resistenza della parete cellulare, adesione tra cellule e turgore. Un ulteriore fattore che condiziona la tonicità è il grado di maturazione che progressivamente ne compromette l'intensità. La maturazione dapprima porta ad un aumento della tonicità, fino ad ottenere livelli ideali (maturazione fisiologica), per poi passare a livelli sempre meno accettati dal consumatore (Toivonen et al., 2008).

Un'altra caratteristica del tessuto associata alla tonicità è il turgore cellulare.

Il turgore è la pressione esercitata sulle pareti dall'acqua in esse contenuta. L'organello deputato alla regolazione del turgore cellulare nei vegetali è il vacuolo. Il contenuto di acqua nei vacuoli dipende dall'equilibrio osmotico interno alla cellula e dalla permeabilità della membrana plasmatica che lo riveste. Una volta che la mela è stata raccolta si crea una condizione ipotonica che favorisce la fuoriuscita dell'acqua dai vacuoli e successivamente dalle cellule quindi una generale perdita di turgore nel frutto (Oey et al., 2007).

La perdita di turgore è associata all'accumulo d'acqua nello spazio intercellulare come conseguenza di quanto detto in precedenza. Può essere condizionata, inoltre, da fattori ambientali quali la quantità di luce che arriva sul frutto durante la maturazione oppure la quantità d'acqua che perde durante questo processo (Toivonen et al., 2008).

La succosità della frutta è la capacità di rilasciare i succhi cellulari in seguito a stress meccanici come ad esempio morso o taglio. Dipende dalla dimensione delle cellule, generalmente cellule più grandi hanno un contenuto maggiore di succo cellulare e tendono a rompersi più facilmente.

La succosità percepita dipende anche da come il tessuto si rompe durante taglio o masticazione: se a rompersi sono le cellule, il frutto risulterà succoso al palato. Al contrario, se il tessuto si rompe lungo le lamelle intercellulari il frutto non risulterà succoso.

I test di trazione, quindi, sono un ottimo sistema per determinare la succosità in maniera empirica. Generalmente, la frutta più croccante come, ad esempio, le mele e le pere è anche quella più succosa. Al contrario, frutta che risulta più morbida come albicocche e banane risulta anche meno succosa.

Frutti con una consistenza succosa in bocca contengono, presumibilmente, cellule ricche di liquidi intracellulari, che vengono facilmente rilasciati durante la masticazione, grazie all'indebolimento delle pareti cellulari durante la maturazione. La durezza può variare rapidamente durante la maturazione del frutto e durante la conservazione; perciò, vengono applicati numerosi trattamenti durante la manipolazione e la conservazione per rallentare i cambiamenti della consistenza (Toivonen et al., 2008).

#### 2.4.1 Modifiche della Texture nella frutta di IV gamma

La perdita di texture è tra le principali modifiche a cui la frutta di IV gamma va incontro. Il taglio, come già accennato, causa l'aumento della produzione di etilene e del rapporto di respirazione, accelerando il naturale processo di senescenza che avviene nella frutta una volta raccolta (Toivonen et al., 2008).

La membrana cellulare con il proseguire della maturazione va incontro a deterioramento, in questo processo sono coinvolti alcuni enzimi che agiscono in maniera coordinata e

interdipendente, come la pectin metilesterasi (PME), la pectato-liasi (PL), la poligalatturonasi (PG), l'eso-poligalatturonasi, la  $\beta$ -galattosidasi ( $\beta$ -GAL), l' $\alpha$ -arabinofuranosidasi ( $\alpha$ -Af) (Liu et al., 2021). Gli enzimi presi, ad esempio, agiscono depolimerizzando le pectine di cui le membrane sono costituite. Nel dettaglio, la PME esterifica i residui metilici delle pectine liberando metanolo; la PG idrolizza legami glicosidici tra i vari residui di acido galatturonico che costituiscono le pectine (Paniagua et al., 2020). La PL agisce in maniera simile alla PG ma su altri tipi di legame ( $\beta$ -GAL) e ( $\alpha$ -Af), depolimerizzando catene di galattosio e arabinosio associate alla pectina e contribuendo alla perdita di stabilità delle membrane. Nella figura 6 è mostrato graficamente come questi enzimi agiscono sulla pectina.

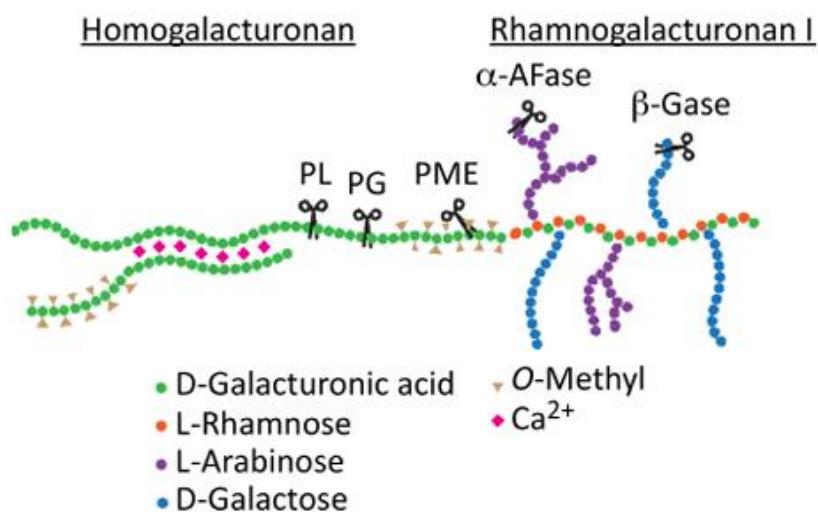


Figura 6. Schema di azione degli enzimi responsabili del deterioramento delle membrane cellulari nella frutta (Wang et al., 2018)

## 2.5 Perdita di acqua

Il taglio è causa della fuoriuscita dei succhi cellulari ed espone le parti più interne della polpa a condizioni ipotoniche, che generano avvizzimento, perdita di liquidi (nello spazio intercellulare), perdita di texture e perdita di nutrienti (Soares et al., 2018).

## 2.6 Microbiologia

L'operazione di taglio rende la frutta di IV gamma molto più suscettibile alla crescita di microrganismi, perché ne viene rimossa la barriera naturale, ossia l'epicarpo, esponendo così l'interno a contaminazioni. Inoltre, l'interno di molti frutti è ricco di

zuccheri e ha un'alta attività dell'acqua (vicina a 1), il che crea un ambiente ideale per la proliferazione microbica (Marquez, 2017).

La frutta minimamente lavorata, proprio per il suo alto contenuto di nutrienti e acqua, può favorire la crescita di batteri, funghi e altri microrganismi, inclusi alcuni potenzialmente pericolosi per la salute (Graça et al., 2015). Un altro aspetto importante è la carica microbica iniziale: se questa è troppo alta o se le operazioni di lavorazione e confezionamento non sono fatte correttamente e igienicamente, i microrganismi possono sopravvivere e moltiplicarsi nel prodotto, aumentando così il rischio di intossicazioni alimentari (Beuchat, 2002).

In sintesi, il taglio e la manipolazione della frutta di IV gamma facilitano la contaminazione e la crescita microbica. Per questo motivo è fondamentale partire da materie prime di buona qualità e seguire protocolli igienici rigorosi in tutta la filiera produttiva, dalla raccolta al confezionamento.

Secondo la letteratura, i microrganismi presenti sulle mele possono essere di diversa natura, principalmente funghi e batteri. Diversi studi confermano questa realtà. La crescita microbica provoca la comparsa di cattivi odori, sapori sgradevoli, perdita di consistenza e cambiamenti nel colore, tutti segnali tipici di una contaminazione in corso (Putnik et al., 2017a).

Tabella 1. Alcune contaminazioni microbiche nelle mele intere e d IV gamma

Prodotto	Microorganismo	Risultato	Fonte
Mela intera	<i>Cladosporium</i> , <i>Alternaria</i> , lieviti	Presenza di microrganismi fungini superficiali	Teixidó et al., 1999
Mela intera	<i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i> patogeni	Assenza rilevata durante il processo produttivo e shelf-life	Abadias et al., 2006
Mela intera	<i>Pantoea</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Escherichia</i>	Possibile presenza naturale di enterobatteri non necessariamente patogeni	Marquez et al., 2017
Mela di IV gamma	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Listeria monocytogenes</i>	I patogeni possono sopravvivere nella frutta fresh-cut conservata a 10 °C	Abadias et al., 2009; Alegre et al., 2010

Nella Tabella 1 sono riportati alcuni studi che analizzano la contaminazione microbica sia sulle mele intere sia sulle mele minimamente lavorate di IV gamma.

### 2.6.1 Legislazione igienico-sanitaria dei prodotti di IV gamma

Per i prodotti ortofrutticoli di IV gamma in Italia vengono seguiti due regolamenti Europei: Il Regolamento (CE) n. 2073/2005 e il 1 Reg CE n. 852/2004, regolamento pilastro del cosiddetto *pacchetto Igiene*, il cui obiettivo principale è garantire la sicurezza alimentare lungo tutta la filiera, dalla produzione primaria fino alla distribuzione e vendita al consumatore finale.

Il Regolamento (CE) n. 2073/2005 è la normativa di riferimento dell'Unione Europea che disciplina i criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari. Il suo obiettivo principale è garantire un elevato livello di sicurezza alimentare e protezione della salute pubblica, fissando limiti precisi per la presenza di microrganismi nei prodotti alimentari e stabilendo le modalità di controllo e gestione di eventuali contaminazioni. Inoltre, all'interno della sezione allegati, il regolamento stabilisce specifici protocolli per il campionamento e l'analisi dei prodotti alimentari. In particolare, nell'allegato I capitolo 1 vengono stabiliti nel dettaglio i criteri di sicurezza per quanto riguarda frutta tagliata e pronta al consumo:

- *Listeria monocytogenes*: deve essere assente in 25g di prodotto
- *Salmonella* ssp. deve essere assente in 25 g di prodotto

Nel capitolo 2 dell'allegato 1 sono stabiliti i criteri di sicurezza di igiene di processo:

*Escherichia coli*: i limiti sono stabiliti da un minimo (m) di  $1*10^2$  a un massimo (M) di  $1*10^3$  UFC/g durante il processo di lavorazione. Sono definite tre categorie: idoneo se 5 unità su 5 sono sotto il limite inferiore, accettabile se 2 unità su 5 sono tra m ed M, e inaccettabile se meno di 2 unità su 5 sono sotto il limite inferiore e più di una è sopra il limite superiore.

## 3 Trattamenti per la frutta di IV gamma

In questo capitolo si presentano le principali tecniche usate o testate sulle mele di IV gamma, con particolare attenzione a quelle sperimentate in questa tesi. Le tecniche si dividono in tre categorie principali: *dipping* (immersione), confezionamento innovativo e trattamenti non termici.

### 3.1 Dipping

#### 3.1.1 Agenti anti-imbrunimento

Dopo il taglio, le mele fresh-cut tendono naturalmente a imbrunire a causa dell'attività della polifenolossidasi (PPO). Per limitarlo, le fette vengono immerse in soluzioni di antiossidanti, spesso acidi organici come acido citrico, ascorbico, sorbico e benzoico (Sahu et al., 2019; Plesoianu et al., 2022). Questi acidi agiscono con diversi meccanismi: abbassano il pH a valori compresi tra 3 e 4 rallentando la formazione dei composti scuri; sequestrano gli ioni rame ( $Cu^{2+}$ ) necessari all'attività della PPO; e interferiscono direttamente con i chinoni, impedendo la formazione di melanine. Spesso questi effetti si combinano per garantire una più efficace prevenzione dell'imbrunimento (Zhou et al., 2020).

In uno studio di (Plesoianu et al., 2022), fette di mela sono state trattate per 5 minuti con soluzioni di acido citrico (2%), acido benzoico (0,2%), acido sorbico (0,2%) e acido ascorbico (0,5%) e conservate a 8 °C per 14 giorni. Tutti i trattamenti hanno significativamente ridotto l'imbrunimento rispetto al controllo immerso in acqua distillata. Inoltre, il dipping non solo ha limitato l'imbrunimento ma ha migliorato la texture e rallentato la crescita microbica, come sarà approfondito nei paragrafi successivi.

#### 3.1.2 Agenti texturizzanti

Il dipping è una tecnica efficace per mantenere la texture di frutta e verdura di IV gamma. Tra i composti utilizzati, i sali di calcio sono i più efficaci: gli ioni calcio si legano ai gruppi carbossilici delle pectine nelle pareti cellulari, rafforzandole e preservando così la consistenza del prodotto (Alandes et al., 2006).

I sali di calcio più comunemente impiegati sono il cloruro di calcio ( $CaCl_2$ ), il lattato di calcio, l'ascorbato di calcio e il propionato di calcio, spesso abbinati ad acidi organici. Tra questi, il cloruro di calcio resta molto utilizzato (Martin-Diana et al., 2007). Uno studio di Varela et al. (2007) ha mostrato che fette di mela trattate con  $CaCl_2$  all'1%, 2% e 3% per 3 minuti mantengono una migliore texture rispetto al controllo anche a distanza di 16 giorni di conservazione a 8-10 °C, senza grosse differenze tra le varie concentrazioni. Tuttavia, il  $CaCl_2$ , pur estendendo la shelf-life, può lasciare un retrogusto amaro dovuto ai residui clorurati (Martin-Diana et al., 2007), motivo per cui sono state esplorate alternative.

Il lattato di calcio rappresenta un'ottima alternativa al CaCl<sub>2</sub>. Luna-Guzman et al. (2007) hanno dimostrato che sia il lattato di calcio che il cloruro di calcio contribuiscono a mantenere la fermezza di frutta fresh-cut, come il melone, durante 12 giorni di conservazione a 5 °C. L'aumento di consistenza osservato è stato del 25-33% rispetto al controllo trattato con sola acqua. Il trattamento prevedeva immersioni di 1 minuto in soluzioni al 2,5% a temperatura ambiente o riscaldate. A differenza del CaCl<sub>2</sub>, il lattato di calcio non introduce sapori amari, rendendolo una scelta preferibile per conservare la qualità strutturale senza alterare il gusto.

Anche l'ascorbato di calcio si è rivelato efficace; trattamenti a concentrazioni di almeno il 6%, seguiti da conservazione in atmosfera modificata, permettono di prolungare la shelf-life fino a 28 giorni. Con concentrazioni più elevate (12-20%), l'ascorbato di calcio ha la capacità di arricchire il prodotto con vitamina C, fino a 3,8 g/kg di mela fresh-cut (Aguayo et al., 2010). Questo sale di calcio unisce un potente effetto antiossidante alla capacità di conservare la texture, risultando quindi particolarmente indicato per questo tipo di lavorazione.

Il propionato di calcio, infine, è un additivo ampiamente riconosciuto per le sue proprietà antimicrobiche, soprattutto nella prevenzione della crescita di muffe e lieviti, e viene adottato per mantenere la qualità microbiologica delle mele fresh-cut (Aguayo et al., 2008; Fan et al., 2023). Sebbene il propionato di calcio da solo sia poco efficace nel ridurre l'imbrunimento enzimatico, esso contribuisce significativamente al mantenimento della durezza e dell'integrità della texture, rallentando il naturale processo di rammollimento dovuto al deterioramento cellulare (Giacalone e Chiabrandi, 2013; Fan et al., 2023).

Va comunque segnalato che, in alcuni casi, il propionato di calcio può essere associato a un aumento dell'imbrunimento e alla formazione di sapori anomali o off-flavor, rendendolo meno indicato come trattamento unico per prodotti destinati al consumo diretto, a meno che non sia parte di una formulazione controllata e bilanciata (Giacalone e Chiabrandi, 2013; Fan et al., 2023).

### 3.1.3 Agenti antimicrobici

Molti dei composti descritti nei paragrafi precedenti dimostrano proprietà antimicrobiche come il CaCl<sub>2</sub>, il propionato di calcio e tutti i sali contenenti cloro. L'applicazione di sostanze antimicrobiche ai soli fini di disinfezione e di solito effettuata durante il lavaggio

della frutta intera, prima del taglio, applicare sostanze antimicrobiche nella fase successiva di dipping non dovrebbe essere necessario se si mantiene una corretta catena del freddo e si hanno buone pratiche di lavorazione.

I composti più usati per contenere la carica microbica di frutta e verdura sono ipoclorito di sodio ( $\text{NaClO}$ ), diossido di cloro ( $\text{Cl}_2\text{O}$ ) e cloro molecolare ( $\text{Cl}_2$ ). Questi composti, una volta discolti in acqua, producono acido ipocloroso ed altri composti reattivi del cloro in grado di danneggiare simultaneamente diverse componenti delle cellule, dimostrandosi efficaci anche contro i virus quando vengono usati a concentrazioni tra 50 e 200 ppm I.C. (Mendoza et al., 2022).

I composti contenenti cloro, malgrado la loro efficacia contro i microrganismi, secondo la European Food Safety Authority (EFSA), possono causare problemi alla tiroide e accelerare la produzione di metamioglobina, riducendo la capacità di questa di trasportare sangue.

A seguito di indagini l'EFSA ha stabilito limiti massimi di residui (LMR) di clorati negli alimenti, definiti dal Regolamento UE 2020/749, che variano generalmente tra 0,01 mg/kg e 0,7 mg/kg a seconda della tipologia di alimento e delle modalità di trattamento nella frutta. Per le pomacee (classificazione a cui appartengono le mele) il limite di residui è di 0,5 mg/kg. Questi limiti sono provvisori e soggetti a revisione.

Alternative ai composti con cloro sono diverse e si dimostrano altrettanto efficaci (Abadias et al., 2010) ha valutato l'efficacia di diversi agenti antimicrobici alternativi al cloro, come acido perossiacetico, vanillina, perossido di idrogeno, N-acetil-l-cisteina e Citrox, nel ridurre le popolazioni di *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella spp.* e *Listeria spp.* su mele fresh-cut inoculate con i patogeni. Le riduzioni batteriche ottenute con acido perossiacetico, perossido di idrogeno, vanillina e N-acetil-l-cisteina sono risultate pari o superiori a quelle ottenute con il tradizionale ipoclorito di sodio (100 mg/L). Inoltre, i livelli microbici sono rimasti bassi durante sei giorni di conservazione a 10 °C. Nessun patogeno è stato rilevato nelle soluzioni di lavaggio con acido perossiacetico, perossido di idrogeno, Citrox e ipoclorito. Questi risultati indicano che acido perossiacetico, perossido di idrogeno e N-acetil-l-cisteina sono potenziali disinfettanti alternativi al cloro per l'industria della frutta minimamente processata.

### 3.2 Packaging

Il packaging alimentare è uno strumento utilizzato per contenere, proteggere e conservare la frutta di IV gamma ed altri prodotti alimentari durante tutta la catena di distribuzione, facilitandone anche la manipolazione e il trasporto. Esso svolge la funzione principale di proteggere gli alimenti da contaminazioni fisiche, chimiche e microbiologiche che possono influenzarne la qualità e la sicurezza. Inoltre, il packaging serve anche a fornire l'identità iniziale del prodotto al consumatore e può includere sistemi innovativi come packaging attivo e intelligente che interagiscono con l'ambiente del prodotto per prolungarne la durata. La scelta del materiale di packaging deve considerare fattori come il costo, la qualità del prodotto e la capacità di mantenere la freschezza degli alimenti (Alamri, 2021).

Caratteristiche fondamentali del materiale del packaging di IV gamma:

- la giusta permeabilità ai gas (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub> ed etilene),
- contribuire al controllo della crescita microbica (atmosfere modificate o controllate)
- contenere la perdita d'acqua che può causare il cambio di colore della superficie e generale scadimento dell'appetibilità del prodotto.
- può incorporare sostanze bioattive che ritardino fenomeni come imbrunimento enzimatico
- deve essere sostenibile con attenzione al ciclo di vita e all'impatto ambientale legato alla produzione e smaltimento degli imballaggi (Rojas-Grau et al., 2009).

### 3.3 Modified atmosphere packaging (MAP)

La tecnica attualmente più utilizzata per il confezionamento della frutta di IV gamma consiste nel modificare la composizione dell'atmosfera all'interno della confezione, rendendola diversa quella esterna, rallentando così il processo di maturazione e di crescita microbica, quindi diverse combinazioni della concentrazione di O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> e azoto (N) (Sandhya, 2010).

La concentrazione di O<sub>2</sub> di solito è tenuta tra 1% e 5% per rallentare la respirazione, la produzione di etilene e la crescita microbica. Mantenere la giusta percentuale di ossigeno è fondamentale per evitare condizioni di anossia che porterebbero allo sviluppo di muffe anaerobiche e alla formazione di metaboliti indesiderati. Inoltre, il livello ideale di ossigeno deve essere bilanciato con la concentrazione di CO<sub>2</sub> e la temperatura di

conservazione per massimizzare la shelf-life e la qualità organolettica del prodotto fresco confezionato (Sandhya, 2010).

Le concentrazioni di CO<sub>2</sub> per la frutta sono tenute a valori compresi tra l'1% ed il 20%. CO<sub>2</sub> contribuisce alla riduzione della respirazione, aumenta la fase di latenza dei microrganismi e reagisce con l'acqua formando acido carbonico H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, abbassando il pH e di conseguenza inibendo l'attività enzimatica di alcuni microorganismi. Allo stesso tempo, concentrazioni basse di CO<sub>2</sub> favoriscono la crescita dei microrganismi anaerobici (Sandhya, 2010).

L'azoto non risulta avere nessun effetto sulla shelf-life del prodotto: esso, infatti, viene aggiunto per mantenere la pressione all'interna alla confezione.

Per quanto riguarda le mele di IV gamma, le concentrazioni ottimali di O<sub>2</sub> oscillano tra 0.5–1%. Per quanto riguarda CO<sub>2</sub>, i valori ottimali sono tra 10-15%, con tolleranza fino a concentrazioni di 25–30%, che non generano odori indesiderati. Questi valori sono dovuti alla maggior permeabilità delle fette di mela a questi gas rispetto ai frutti interi, fattore che le rende più tolleranti. Infine, le concentrazioni di CO<sub>2</sub> più elevate del 30% possono portare all'aumento della concentrazione di metaboliti come etanolo ed acetaldeide senza conseguenze sulle caratteristiche organolettiche delle mele (Soliva-Fortuny et al., 2022). Nella tabella 3 sono riportati alcuni esempi di applicazioni per delle MAP per le mele di IV gamma.

[Digitare qui]

[Digitare qui]

[Digitare qui]

Tabella 1 Alcune applicazioni di MAP su alcune varietà di mele di IV gamma

Tipo di campione	Concentrazioni CO <sub>2</sub> (%)	Concentrazioni O <sub>2</sub> (%)	Effetti principali	Fonte
Fette di mele (Bravo de Esmolfe, Cox's Orange, Fuji, Golden Delicious)	3-7	1-5	Riduzione della respirazione e etilene, controllo dell'imbrunimento, prolungamento shelf life (fino a 7 mesi per alcune varietà)	Cortellino et al., 2022
Mele fresche tagliate	5-10	1-3	Miglior conservazione della qualità, inibizione microrganismi, ritardo del deterioramento	Gulzar et al., 2015
Mele Golden Delicious, fette	5-7	2.5	Controllo dell'etilene, mantenimento della consistenza, conservazione sensoriale	Gil et al., 2012
Mele Golden Delicious, fette	7	5	Effetto antimicrobico, shelf life migliorata fino a 35 giorni, riduzione di imbrunimento	Li et al., 2014
Mele d'Anjou fresche, tagliate	5-8	1-3	Shelf life estesa, riduzione di muffe e lieviti, mantenimento della qualità	Chitarra et al., 2019
Mele Golden Delicious, fette	5	1-5	Inibizione dell'etilene, capacità di controllo dell'imbrunimento e conservazione microbiologica	Anese et al., 2017

### 3.4 Active Packagings

Tra le innovazioni nel settore del packaging, gli active packaging rappresentano una delle tecnologie di maggiore interesse per l'estensione della shelf-life dei prodotti. La Comunità Europea, attraverso il Regolamento 450/2009, li definisce come sistemi di confezionamento che incorporano componenti in grado di rilasciare o assorbire sostanze all'interno del cibo o dell'ambiente circostante, con l'obiettivo di prolungarne la conservabilità o migliorarne la qualità. Questi sistemi vanno quindi oltre il ruolo passivo tradizionale dell'imballaggio, interagendo dinamicamente con l'alimento.

Gli active packaging sono principalmente di due tipi:

- sacchetti contenenti composti reattivi, che però possono essere poco accettati dai consumatori in quanto percepiti come corpi estranei all'interno della confezione.
- sistemi multistrato, nei quali uno strato del materiale di imballaggio incorpora sostanze adsorbenti o attive, in grado di attivarsi in specifiche condizioni.

Nell'ambito della frutta di IV gamma, gli active packaging più utilizzati sono assorbitori di ossigeno, assorbitori di etilene ed emettitori di sostanze antimicrobiche e antiossidanti, strumenti fondamentali per il controllo dei processi di degradazione e per il prolungamento della shelf-life dei prodotti (Yildirim et al., 2018).

#### 3.4.1 Adsorbitori

Gli adsorbitori di ossigeno sono comunemente impiegati per stabilizzare la concentrazione di O<sub>2</sub> all'interno delle confezioni in atmosfera modificata (MAP), agendo principalmente tramite un meccanismo chimico. I più diffusi sono quelli a base di ferro, che in presenza di umidità reagiscono formando complessi ossidi stabili. Esistono anche sistemi non metallici, come gli idrocarburi insaturi; tra questi, il 1,4-polibutadiene è il più comune, spesso usato insieme al neodecanoato di cobalto come catalizzatore, oppure acidi organici quali l'acido ascorbico, che può essere integrato direttamente nel rivestimento della confezione. Un esempio applicativo è rappresentato dalle mele di IV gamma confezionate con film multistrato a base di poliamidi e PET, capaci di ridurre la trasmissione di ossigeno senza alterare il colore del prodotto.

Gli adsorbitori di etilene, invece, risultano particolarmente importanti per la conservazione di frutta e verdura climateriche, altamente sensibili a questo gas che accelera i processi di maturazione.

Questi adsorbitori possono essere applicati sotto forma di piccole bustine contenenti materiali adsorbenti, oppure incorporati direttamente nei film plastici.

Il permanganato di potassio ( $KMnO_4$ ) è il componente più comune nelle bustine, in grado di ossidare l'etilene; tuttavia, a causa della sua tossicità, non può essere a contatto diretto con gli alimenti. Per questo motivo, sono preferite alternative più sicure come zeoliti, carboni attivi, pomici o nanopolveri (ad esempio  $TiO_2$ ), che possono essere inserite nei polimeri come il polietilene, migliorando le proprietà di conservazione, come dimostrato su fragole confezionate.

L'incorporazione degli adsorbitori direttamente nei materiali di imballaggio rappresenta una soluzione promettente, in quanto elimina i limiti legati all'uso delle bustine, quali il rischio di rottura o la scarsa accettazione da parte dei consumatori. È comunque fondamentale adattare questa tecnologia alle caratteristiche specifiche del prodotto, considerando la sua respirazione, la sensibilità all'etilene e le condizioni di stoccaggio.

### 3.4.2 Emettitori di composti antimicrobici

Gli active packaging antimicrobici rappresentano un'innovazione di rilievo nel campo del confezionamento alimentare. A differenza del packaging tradizionale, che funge da semplice barriera, questi sistemi rilasciano sostanze in grado di inibire o rallentare la crescita microbica, aumentando così la sicurezza e la shelf-life dei prodotti.

Il meccanismo si basa sul rilascio controllato di agenti antimicrobici come oli essenziali, acidi organici, enzimi, peptidi o ioni metallici (ad esempio argento e zinco), che agiscono prevalentemente sulla superficie degli alimenti, dove si concentrano le contaminazioni.

Tra i vantaggi vi sono la riduzione della necessità di conservanti aggiunti direttamente al prodotto, la protezione mirata delle zone più esposte e una maggiore sicurezza microbiologica, in linea con la crescente richiesta di alimenti più naturali e meno trattati.

Permangono tuttavia alcune sfide: regolare il rilascio delle sostanze attive, evitare effetti indesiderati sul gusto o sull'odore, garantire la conformità alle normative e contenere i costi di produzione.

In sintesi, gli active packaging antimicrobici rappresentano una strategia sostenibile e innovativa per la conservazione degli alimenti, con il potenziale di ridurre gli sprechi e rispondere alle esigenze del mercato, anche se la loro diffusione su larga scala richiede ulteriori ricerche e ottimizzazioni (Yildirim et al., 2018).

### 3.5 Edible coatings

Gli edible coatings sono sottili strati di materiale commestibile applicati sulla superficie degli alimenti per controllare umidità, scambio di gas e ossidazioni. Nel caso della frutta di IV gamma, possono essere utili a ricreare la barriera persa durante le lavorazioni, oltre che come matrici per incapsulare composti bioattivi (antiossidanti, antimicrobici, probiotici) che migliorano qualità e shelf-life degli alimenti, offrendo protezione e rilascio controllato (Quirós-Sauceda et al., 2014).

Il rivestimento può essere di natura proteica, polisaccaridica, lipidica o combinata e si applica direttamente sugli alimenti attraverso immersione, spray oppure pennellatura (Quirós-Sauceda et al., 2014). La natura del rivestimento usato ha delle conseguenze sul prodotto finito a causa delle caratteristiche intrinseche del prodotto.

I coating proteici vengono con proteine che provengono sia da fonti animali (caseina, gelatina, collagene, albumina d'uovo, surimi) sia vegetali (proteine di soia, mais, piselli, quinoa, leguminose). Rappresentano una valida alternativa sostenibile ai materiali di packaging tradizionali, con ottime proprietà protettive e meccaniche, funzionali per estendere la shelf-life degli alimenti, pur con alcune limitazioni tecniche ed economiche (Mihalca et al., 2021).

I principali composti polisaccaridi usati per i coatings (es. chitosano, pectina, carragenina, cellulosa, amido, alginato) rappresentano una promettente alternativa sostenibile e sicura ai film sintetici per la conservazione della frutta, offrendo protezione efficace contro deterioramento e contaminazioni mantenendo qualità e freschezza. Tuttavia, devono essere attentamente progettati e formulati per superare limiti di idrofilicità, adesione e stabilità, spesso attraverso l'aggiunta di agenti funzionali naturali o nanostrutturati (Pilai et al., 2024).

I lipidi forniscono idrofobicità e coesione, creando barriere efficaci contro il vapore acqueo, l'ossigeno e i microrganismi, essenziali per mantenere la freschezza di frutta e verdura. Possono essere usati puri, ma spesso sono combinati con proteine o polisaccaridi, per formare film o rivestimenti composti con migliori caratteristiche meccaniche e protettive. Cere naturali (cera d'api, carnauba, candelilla), resine (shellac), oli e acidi grassi (oleico, stearico, palmitico) sono tra i più usati.

Ognuno di essi contribuisce a migliorare la resistenza all'acqua, la stabilità termica, e la protezione antimicrobica e antiossidante degli alimenti. I film e rivestimenti lipidici sono

utilizzati principalmente su frutta e verdura per ridurre la perdita di peso, rallentare la maturazione, mantenere la fermezza e prevenire la crescita microbica (Deviet al., 2024). Nella tabella 2 sono presenti alcuni esempi d'impiego su frutta di IV gamma. Ulteriori ricerche sono auspicabili per ottimizzare formulazioni, valutare rilascio e bioaccessibilità degli additivi funzionali, e per favorire l'adozione commerciale su larga scala (Pilai et al., 2024)

*Tabella 3. Esempi di edible coatings su frutta di IV gamma*

Frutta	Tipo di rivestimento	Effetto	Fonte
Pere	Alginato, pectina, gellan	Riduzione imbrunimento e mantenimento consistenza	Oms-Oliu et al., 2008
Mele	Purea di mela - Alginato + antimicrobici	Inibizione <i>E. coli O157:H7</i> , aumento shelf-life	Rojas-Graü et al., 2007
Mango (cubetti Kent)	Alginato + acidi ascorbico e citrico	Maggior attività antiossidante, preservazione colore e qualità nutrizionale	Robles-Sánchez et al. 2013
Papaya, mela	Alginato o gellan + bifidobatteri	Trasporto di probiotici vitali in frutta fresca tagliata	Tapia et al., 2007
Melone	Alginato + oli essenziali (palmarosa, limone, lemongrass)	Aumento shelf-life microbiologica e fisico-chimica	Raybaudi-Massilia et al., 2008
Avocado	Candelilla wax + ellagic acid	Miglioramento shelf-life e qualità, riduzione danni da funghi	Saucedo-Pompa et al., 2009
Fragola	Alginato + probiotici	Protezione dei batteri probiotici durante lo stoccaggio a basse temperature	Moayednia et al., 2009; 2010
Spicchi di mela	Alginato-calcio + acidi grassi/aromi	Aumento della produzione di composti aromatici	Olivas et al., 2012

### 3.6 Ozono

L'ozono è una delle tecnologie non termiche più efficaci per il controllo della crescita microbica, applicata in vari settori come la depurazione dell'acqua e la conservazione di frutta e verdura, carne e prodotti più o meno trasformati.

Può essere applicato come gas a contatto diretto oppure diluito in acqua Brodowska et al., (2015). L'impiego sia in fase gassosa che in soluzione liquida è legalmente autorizzato dal 2001 dal FDA (Tzortzakise Chrysargyris, 2016) e solo dal 2023 con il REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2023/1078 DELLA COMMISSIONE del 2 giugno 2023 se ne autorizza l'utilizzo come biocida sulle categorie 2,4,5 e 11 del REGOLAMENTO (UE) n. 528/2012 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 22 maggio 2012.

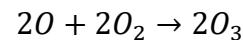
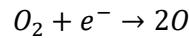
L'ozono ha un forte potere antimicrobico, dovuto ad un potere ossidativo superiore del 50% rispetto ai clorati. Infatti, si dimostra particolarmente efficace contro batteri Gram +, batteri Gram – e le spore di quest'ultimi (Guzel-Seydim et al., 2004). Può risultare pericoloso anche per gli operatori perché nocivo anche a bassissime concentrazioni (4ppm) se ci si sottopone ad un'esposizione prolungata, per questo diventa fondamentale adoperare sistemi di sicurezza che salvaguardino la salute del personale aziendale (De Corato, 2019). Altra caratteristica peculiare è la sua breve emivita (intervallo di tempo in cui un composto dimezza la sua concentrazione rispetto al suo valore iniziale) di sol 20 min a 20°C, non lasciando residui sugli alimenti. Sempre a causa della sua corta emivita, non può essere conservato come un gas normale (Brodowska et al., 2018). L'ozono viene sempre prodotto in loco, principalmente attraverso due metodi:

- Corona discharge method (CDM)
- Radiazione ultravioletta

Entrambi i metodi producono ozono partendo dall'aria, oppure da una miscela di gas contenente O<sub>2</sub> o direttamente ossigeno molecolare, fornendo al gas un forte stress energetico, attraverso scariche elettriche (corona discharge method) oppure attraverso radiazione ultravioletta (UV) attualmente in disuso per motivi di resa e di sostenibilità economica (Brodowska et al., 2018).

Il meccanismo di reazione che porta alla formazione dell'ozono consiste di due reazioni nella prima reazione parte dell'ossigeno molecolare ( $O_2$ ) viene investito dalla corrente di elettroni che si separa in due ioni ossigeno  $O_2^-$ ; nella seconda reazione gli ioni  $O_2^-$  reagiscono con altro ossigeno molecolare ( $O_2$ ) presente nella miscela di gas, formando ozono  $O_3^+$ .

La fig.7 schematizza il meccanismo appena descritto.



*Equazione 1 e 2. Meccanismo di reazione della produzione dell'ozono (Brodowska et al., 2015).*

### 3.6.1 Impianti di produzione Ozono

Gli impianti per la produzione ad ozono sono costituiti da poche parti fondamentali:

- Contenitore gas (aria o ossigeno puro)
- Generatore di ozono
- Fonte di alimentazione elettrica
- Reattore (punto di contatto tra gas e alimento)
- Unità di eliminazione del gas in eccesso
- Analizzatore di ozono

Nel caso sia usata aria come fonte di ossigeno, questa deve essere portata al punto di condensazione (-65°C) per migliorare l'efficienza e ridurre la produzione di ossidi di azoto, che accelerano la corrosione degli elettrodi (Brodowska et al., 2018). In aggiunta, torri di zeolite fungono da ulteriore barriera ai composti azotati (Pan et al., 2017).

Il gas di partenza, una volta purificato e seccato, entra nel generatore di ozono costituito da un elettrodo ad alta tensione, un dielettrico (di solito vetro), una cavità (spazio attraverso il quale passano la corrente elettrica ed il gas) ed un elettrodo a bassa tensione. Tra gli elettrodi viene fatta passare una corrente elettrica a bassa frequenza 50 Hz ed alto voltaggio 7-9 kV (Xie et al., 2024), oppure ad elevata frequenza 100-200 Hz a 10 kV (Brodowska et al., 2018). Al generatore di ozono è necessario collegare un sistema di raffreddamento, per preservare gli elettrodi ed evitare che la temperatura salga troppo, data la scarsa emivita dell'ozono. Una volta prodotto, l'ozono viene convogliato verso una zona di contatto con gli alimenti ed una zona atta ad eliminare quello in eccesso, che può avere due destini: diluito con l'aria in caso di trattamenti a basse concentrazioni,

oppure eliminato attraverso filtri ai carboni attivi (Bablon, et al., 2019). L'applicazione sugli alimenti viene effettuata in sistemi statici (camere chiuse); più rara, l'applicazione in linea (Sitoé et al., 2025).

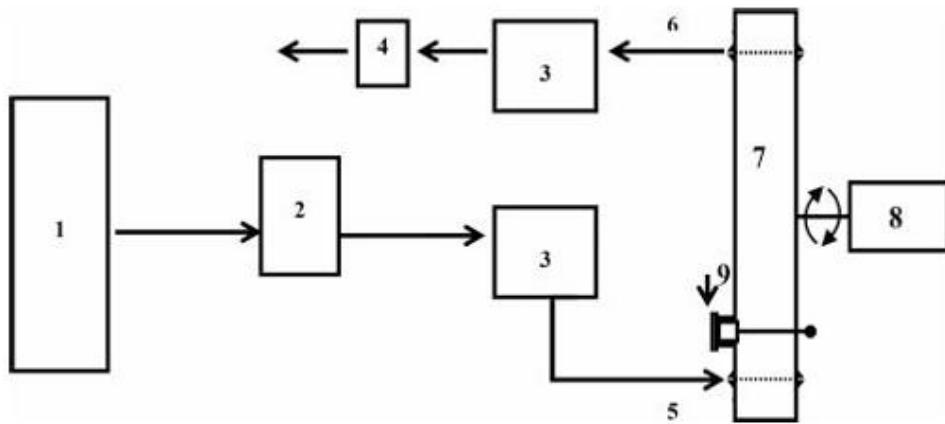


Figura 8. Schema semplificato per un impianto per la produzione di ozono 1 bombola di ossigeno; 2 generatore d'ozono; 3 analizzatore di ozono; 4 eliminatore di ozono in eccesso; 5 iniezione di ozono; 6 uscita ozono; 7 camera di reazione; 8 sistema di sicurezza con sistema di scossa e rotazione, 9 ingresso campione (Brodowska et al., 2015).

L'ozono, come già accennato, può essere applicato anche miscelato con acqua (forma acquosa), comportando alcuni cambiamenti nell'impianto di produzione. All'impianto in fase gassosa viene aggiunto un contattore (componente che serve alla miscelazione di ossigeno e ozono) ed un sistema per gestire la miscela dell'acqua ozonata mostrato in fig.9 (Brodowska et al., 2018).

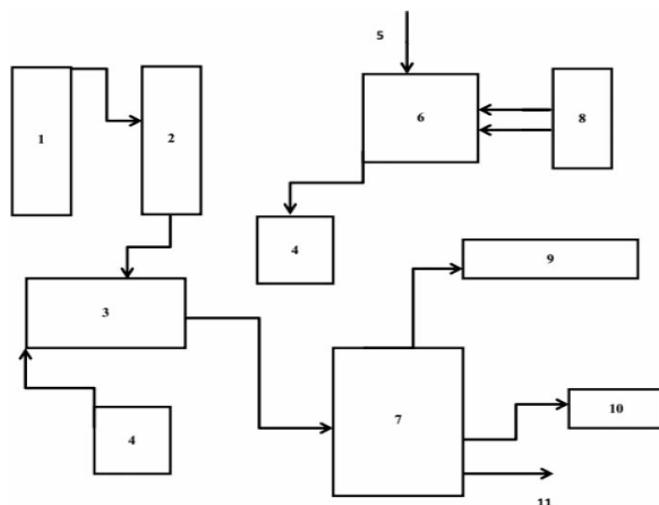


Figura 9. Schema per il sistema della produzione di ozono in fase acquosa: 1 bombola dell'ossigeno; 2 generatore di ozono; 3 dissolutoro di ozono; 4 pompa; 5 acqua; 6 contenitore dell'acqua; 7 contenitore per la dissoluzione; 8 sistema di refrigerazione; 9 catalizzare dell'ozono; 10 controllo ozono; 11 contenitore di acqua e ozono (Brodowska et al., 2018).

### 3.6.2 Caratteristiche fisiche dell'ozono in fase gassosa

Per ozono in fase gassosa si intende gas ozono puro, oppure miscelato con O<sub>2</sub>.

L'ozono in fase gassosa risulta relativamente stabile, rispetto a rispetto all'ozono in fase acquosa, per ragioni collegate al suo decadimento (Miller. et al., 2013).

Condizioni di elevata pressione, temperature elevate, presenza di contaminanti o dimensioni ridotte del contenitore possono comportare un elevato rischio di esplosioni, che aumenta a seconda della concentrazione di O<sub>2</sub>. Per contenere questo rischio, risulta opportuno

- mantenere pressione a livelli atmosferici
- evitare cambi bruschi di temperatura
- evitare le contaminazioni di qualsiasi altro tipo di composto
- produrre ozono in situ
- evitare (quando miscelato) concentrazioni di O<sub>2</sub> superiori al 9-16% per una mole di ozono (Brodowska et al., 2018).

Concentrazioni di ossigeno più elevate sono sconsigliate perché l'ossigeno molecolare può reagire con il vapore acqueo, producendo dei radicali idrossilici che a loro volta reagiscono con l'ozono accelerandone il decadimento (Perry et al., 1997); altre sostanze che possono reagire con l'ozono possono essere residui di cloro, di ossidi di azoto (NO, NO<sub>2</sub>), ossidi solforici, come acido solforico (Miller et al., 2005).

In conclusione, per lavorare con ozono in fase gassosa è opportuno operare in condizioni che riducano rischi di esplosioni spontanee e decadimento rapido del composto.

### 3.6.3 Caratteristiche fisiche dell'ozono in fase acquosa

Il principale impiego dell'ozono è quello del trattamento di sanificazione delle acque: in acqua l'ozono ha un'elevata solubilità, dieci volte superiore all'ossigeno (CO<sub>2</sub> = 1,3 x 10<sup>-3</sup> mol/dm<sup>3</sup>; CO<sub>3</sub>=1,2 x 10<sup>-2</sup> mol/dm<sup>3</sup>; 293 K; 101,3 kPa) (Ullmann's Encyclopedia, 2002).

L'ozono si solubilizza in acqua a pH inferiore a 7 condizione non reagisce con le altre molecole, infatti, già quando si diluisce ad un pH leggermente superiore (7,5) l'emivita dell'ozono cala drasticamente ed aumenta la produzione di radicali molto reattivi come radicali idrossilici. È stato poi dimostrato che a pH 8 la conversione di ozono in radicali come perossidi e ossigeno avviene non oltre i 10 min (Manousaridis et al., 2005). La stabilità dell'ozono nell'acqua non dipende solo dal pH ma anche dalla purezza dell'acqua: l'emivita può variare da pochi secondi se l'acqua è particolarmente torbida ad alcune ore per acqua pura.

La concentrazione dell'ozono in acqua cala seguendo una cinetica di primo ordine, stabilendo un'emivita secondaria che è il tempo impiegato per passare dalla concentrazione del 50% al 25%. In acqua distillata l'emivita secondaria a temperatura ambiente è di 25s a pH 10, 17 min a pH 7 e arriva a 7 ore a pH 4 (Hoigné, 1998).

Altro fattore che influenza la solubilità dell'ozono in acqua è la temperatura: più è alta la temperatura più è bassa la solubilità. Infatti, a 0°C la solubilità è di 0.640 litri ozono/litri d'acqua e a 60 °C la solubilità è di 0.0001 litri ozono/litri acqua (Guzel-Seydim et al., 2004).

Ricapitolando, la stabilità dell'ozono in acqua dipende dal pH, dalla temperatura, ma anche dall'alcalinità e dalla sostanza organica. Generalmente l'emivita a temperatura ambiente è tra i 20-30 min in acqua distillata.

### 3.6.4 Attività antimicrobica dell'ozono

Una delle ragioni principali per la capacità disinettante dell'ozono è il suo potenziale di ossidoriduzione (2,08 eV) e l'aumento delle specie reattive dell'ossigeno intracellulare (ROS), che sono responsabili della lisi della cellula batterica e dell'effetto dannoso sugli acidi nucleici (Xue et al., 2023). L'ozono attacca principalmente le membrane cellulari, attraverso due possibili meccanismi d'azione: il primo riguarda l'ossidazione dei gruppi solfidrilici degli aminoacidi presenti nelle proteine di membrana e negli enzimi che sintetizzano piccole proteine; il secondo riguarda l'ossidazione degli acidi grassi polinsaturi a perossidi (Brodowska et al., 2018). L'azione dei due meccanismi descritti porta alla lisi delle cellule (Fig. 9). Altro aspetto interessante dell'attività antimicrobica dell'ozono è la capacità attaccare il rivestimento delle spore e dei capsidi dei virus (Guzel-Seydim et al., 2004).

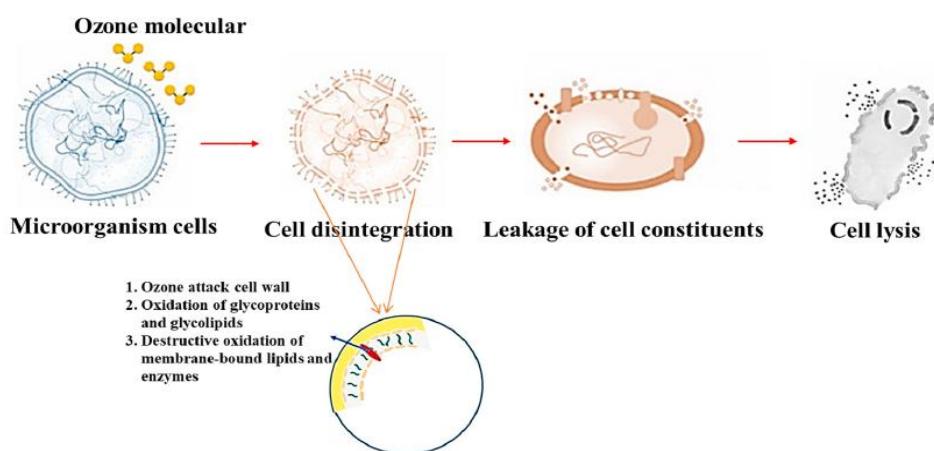


Figura 10. Meccanismi d'azione ozono contro i microrganismi (Xue et al., 2022).

In **fase gassosa**, l'ozono viene generalmente applicato a concentrazioni più basse, dell'ordine dei microgrammi per litro ( $\mu\text{g/L}$ ), e per tempi di contatto più lunghi. In particolare, trattamenti prolungati (circa 20 minuti) sono impiegati per controllare la carica microbica e preservare le caratteristiche fisiche di frutta e verdura di IV gamma.

In **fase liquida**, invece, l'ozono è applicato a concentrazioni più elevate, dell'ordine dei milligrammi per litro ( $\text{mg/L}$ ), per tempi di contatto compresi tra 30 secondi e 15 minuti. Questa modalità è principalmente utilizzata per il lavaggio o il risciacquo di frutta e verdura, con l'obiettivo di mantenerne le caratteristiche fisico-chimiche e la qualità microbiologica (Botondi et al., 2021). Tanti sono i microrganismi suscettibili all'azione dell'ozono: di particolare interesse per l'industria alimentare sono i batteri patogeni come *Lysteria monocitogenes*, *E.coli* e *Salmonella Typhimorium*, la cui concentrazione si riduce rispettivamente di 3.06, 2.56, 2.89 log quando sottoposti a un trattamento di ozono in fase gassosa dalla concentrazione 9 $\mu\text{g/L}$  per una durata di 0.5h (Alwi e Ali, 2014).

Altri batteri patogeni su cui è stata dimostrata l'efficacia dell'ozono sono *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* (Nogales et al., 2014).

Oltre ai batteri, i trattamenti all'ozono si sono rivelati efficaci anche nel controllo di funghi e muffe, microrganismi in grado di danneggiare severamente la qualità dei prodotti alimentari, producendo micotossine metaboliti termoresistenti che, accumulandosi sugli alimenti, possono causare problemi alla salute umana e animale (Milicevic et al., 2010). In questo caso, l'ozono inibisce la crescita di funghi e muffe attraverso alterazioni del metabolismo, portando all'apoptosi e allo stress ossidativo, contenendone la crescita (Savi et al., 2014).

Trattamenti di ozono in fase gassosa (60  $\mu\text{mol/mol}$  for 40, 60, 90, and 120 min) si sono dimostrati ottimi nel contenere la crescita di muffe e funghi *Fusarium graminearum* e *Penicillium citrinum*. Savi et al., (2014), Beber-Rodrigues et al., (2015) hanno osservato differenti suscettibilità all'esposizione all'ozono da parte di *Acremonium*, *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Aspergillus*, e *Penicillium*.

### 3.6.5 Effetti dell'ozono sulle caratteristiche chimiche e nutrizionali

Quando disiolto in acqua, l'ozono non crea particolari cambiamenti sotto il profilo chimico e nutrizionale, riuscendo a penetrare negli alimenti solo per pochi millimetri e in particolari condizioni di contatto. Al contrario, quando è usato in fase gassosa in trattamenti da alcuni minuti, riesce a penetrare anche di 10 cm (Shynkaryk et al., 2015).

### 3.6.6 Effetti sulle caratteristiche sensoriali

Per gli ortaggi di IV gamma, le caratteristiche sensoriali possono essere definite come l'insieme delle proprietà esterne quali colore, aroma e texture, che influenzano la scelta del consumatore al momento dell'acquisto. Tali caratteristiche risultano determinanti anche nella propensione al riacquisto, in particolare per quanto riguarda aroma e sapore. Esse raggiungono il loro massimo livello al momento della raccolta, o immediatamente dopo, e le tecnologie alimentari hanno il compito di preservarle il più a lungo possibile durante la vita commerciale del prodotto. I trattamenti all'ozono sono un metodo efficace per il mantenimento di queste caratteristiche.

Su un melone fresh-cut, è stato osservato che il trattamento con ozono gassoso a 6,34 mg/m<sup>3</sup> per 3 ore ha prevenuto la traslucidità. Questo risultato è attribuibile a un rallentamento del processo di maturazione delle fette di melone durante la conservazione e consente una commerciabilità del prodotto fino a 12 giorni (Dilmaçünal et al., 2014). Una delle caratteristiche sensoriali che ha ricevuto maggiori attenzioni e studi è l'imbrunimento enzimatico. In studi su fette di patata fresh-cut è stato osservato che l'ozono non possiede proprietà anti-imbrunimento. Dopo 14 giorni di conservazione a 4 °C in condizioni di confezionamento modificato (MAP), le strisce di patata fresca immerse in acqua ozonata o trattate con ozono— hanno mostrato un aumento significativo dell'imbrunimento dovuto alla conservazione prolungata (Beltrán, 2005). Sui trattamenti con ozono acquoso nelle mele di IV gamma i risultati sono stati contrastanti rispetto a quelli in fase gassosa. Tuttavia, l'articolo riporta che i trattamenti con ozono acquoso a 1,4 mg/L hanno un effetto significativo nel ridurre l'attività degli enzimi responsabili dell'imbrunimento enzimatico, in particolare della polifenolossidasi (PPO) e della perossidasi (POD). Durante la conservazione a 4 °C per 12 giorni, i campioni trattati hanno mostrato un'attività di PPO inferiore rispetto al controllo, indicando l'efficacia dell'ozono nell'abbassare l'attività di questo enzima. Allo stesso modo, l'ozono ha ridotto significativamente l'attività della POD nelle fasi più avanzate della conservazione. Questo effetto è attribuibile all'alto potere ossidante dell'ozono, che ossida rapidamente gli enzimi coinvolti nel processo di imbrunimento (Liu, et al., 2016).

### 3.7 Luce Ultravioletta (UV)

La luce ultravioletta (UV) è una sezione della radiazione elettromagnetica con lunghezza d'onda compresa tra 400 e 100 nm, suddivisa in tre fasce principali: UVA (315-400 nM), caratterizzata da bassa intensità; UVB (280-315 nM), a media intensità; e UVC (100-280 nm), che ha la massima intensità. Recentemente, questa tecnologia è stata impiegata nell'industria alimentare come valida alternativa all'uso di clorati grazie al suo potere antimicrobico, anche su frutta di IV gamma.

Tra i tre tipi di UV, l'UVC è quello che trova maggiore applicazione. I raggi UVC, infatti, sono in grado di danneggiare sia le membrane cellulari sia gli acidi nucleici dei microrganismi presenti sulla superficie trattata (Uraban et al., 2016). Questo metodo è apprezzato anche per la facilità di utilizzo e per i costi contenuti di installazione e manutenzione. Inoltre, non è soggetto a limitazioni normative, risulta letale per un'ampia gamma di patogeni e agenti di deterioramento, non lascia residui alimentari e provoca una minima perdita delle caratteristiche sensoriali e dei nutrienti termolabili (Babilnot et al., 2020).

Come osservato da Gómez et al., (2010), l'uso della radiazione UV-C è particolarmente efficace per prolungare la shelf-life microbiologica delle mele fresh-cut. Tuttavia, per evitare effetti indesiderati come l'imbrunitimento, è necessario combinare il trattamento con pretrattamenti anti-imbrunitimento, in particolare mediante immersione in soluzioni contenenti acido ascorbico e cloruro di calcio, che preservano anche la consistenza del frutto. La combinazione di questi trattamenti consente di ottenere mele fresh-cut con maggiore sicurezza microbiologica e una qualità estetica mantenuta fino a una settimana di conservazione refrigerata.

In conclusione, l'utilizzo della radiazione UVC su frutta di IV gamma si dimostra efficace nel prolungare la shelf-life, soprattutto per il controllo della carica microbica. Sebbene possa avere effetti negativi sulla colorazione, questi possono essere minimizzati se il trattamento è combinato con dippings contenenti agenti anti-imbrunenti.

### 3.8 Luce pulsata

Il trattamento con luce pulsata consiste nell'esporre gli alimenti a impulsi brevi e intensi di luce che emette uno spettro di radiazioni simile a quello della luce solare. Questo spettro comprende non solo la luce ultravioletta, ma anche la luce visibile e la radiazione infrarossa, con lunghezze d'onda che vanno approssimativamente da 170 a 2600 nm (Manzocco et al., 2017). L'efficacia antimicrobica della luce pulsata è attribuita ad effetti fototermici e fotofisici localizzati, ma soprattutto alla capacità della componente UV di modificare la struttura delle biomolecole (Krishnamurthy et al., 2008).

Un'interessante applicazione della luce pulsata riguarda le mele di IV gamma, come descritto da Manzocco et al. (2017). In questo studio, si evidenziano alcuni aspetti negativi associati all'utilizzo della luce pulsata, quali un aumento dell'imbrunimento nelle fasi iniziali e una disidratazione superficiale che comporta una progressiva perdita di texture durante tutto il periodo di conservazione. Tuttavia, la luce pulsata modula anche la risposta metabolica delle mele allo stress da taglio, influenzando la respirazione e la formazione di composti volatili, apportando così possibili benefici alla shelf-life e alla qualità delle mele fresh-cut.

### 3.9 Acqua elettrolizzata (EW)

L'acqua elettrolizzata (EW) è un tipo di soluzione antimicrobica. La produzione di EW avviene mediante elettrolisi di una soluzione diluita di sale ad esempio NaCl, MgCl<sub>2</sub>, KCl o di acido cloridrico diluito, all'interno di una camera divisa da una membrana in due sezioni, anodo e catodo (Zhao e Yang, 2021). Il principale vantaggio dell'EW risiede nella sua sicurezza e nel rispetto ambientale: quando l'acqua elettrolizzata entra in contatto con materiali organici o viene diluita con acqua di rubinetto, torna a essere acqua comune, riducendo così gli effetti negativi sull'ambiente e sulla salute umana (Du et al., 2024).

Sotto l'effetto di una tensione in corrente continua applicata agli elettrodi, gli ioni cloruro (Cl<sup>-</sup>) e idrossido (OH<sup>-</sup>) migrano verso l'anodo, dove si generano gas ossigeno (O<sub>2</sub>), gas cloro (Cl<sub>2</sub>), ioni ipoclorito (ClO<sup>-</sup>), acido ipocloroso (HClO) e acido cloridrico (HCl); allo stesso tempo, gli ioni idrogeno (H<sup>+</sup>) e sodio (Na<sup>+</sup>) si spostano verso il catodo, formando gas idrogeno (H<sub>2</sub>) e idrossido di sodio (NaOH) (Du et al., 2024).

Il trattamento con acqua elettrolizzata leggermente acida (SAEW) ha dimostrato di inibire la crescita microbica, ridurre la perdita di vitamina C e zuccheri totali, rallentare i processi di perdita di peso e imbrunimento, e mantenere stabili i valori di pH dei tessuti; tutto ciò contribuisce a rallentare il deterioramento di importanti parametri qualitativi nelle mele di IV gamma durante la conservazione, prolungandone la shelf-life.

Questi risultati rappresentano un valido supporto per l'applicazione della SAEW nel processo di lavorazione della frutta fresh-cut (Gao et al., 2023).

## PARTE Sperimentale

### 4 Materiali e metodi

#### 4.1 Preparazione del campione

I campioni sono stati preparati presso l'azienda Agribologna, nello stabilimento Fresco Senso, situato in Via Ferrara 6/8, 40018 San Pietro in Casale (BO). La campionatura comprendeva 72 spicchi di mela della varietà Cripps Pink suddivisi in quattro gruppi. Gli spicchi sono stati ottenuti tramite spicchatrice e detorsolatrice automatica modello CB8 della PND. Le dimensioni di ogni spicchio erano di circa 5x2x3 cm.

#### 4.2 Trattamenti

Il primo gruppo, costituito da 18 spicchi, non ha ricevuto alcun trattamento ed è stato utilizzato come controllo (ctrl). Il secondo gruppo è stato immerso per 1 minuto in una soluzione contenente carbonato di calcio allo 0,8% e acido ascorbico al 3% (aa). Il terzo gruppo è stato sottoposto a un trattamento con acqua e ozono nebulizzato (oz), mentre il quarto gruppo ha ricevuto una combinazione dei due trattamenti precedenti (immersione nella soluzione antiossidante seguita da esposizione a ozono nebulizzato (ozaa). L'ozono è stato applicato a una concentrazione di 60 mg/L per 60 secondi, utilizzando un generatore pilota realizzato dall'azienda Met Ozone Experts.

Per le prove sperimentali è stato inoltre impiegato un sistema costituito da un nastro trasportatore racchiuso in un tunnel di plexiglass, progettato per consentire l'esposizione controllata dei campioni in atmosfera satura di ozono, simulando le condizioni di una linea di produzione industriale.

Dopo i trattamenti, gli spicchi sono stati confezionati in vaschette a chiusura a incastro fornite dall'azienda, dotate di un piccolo camino di sfogo per permettere la fuoriuscita della CO<sub>2</sub> prodotta, limitando così la formazione di condizioni anaerobiche. Ogni vaschetta conteneva 9 spicchi.

Successivamente i campioni sono stati trasportati nei laboratori dell'Università di Bologna (sede di Cesena) mantenendo la catena del freddo e stoccati a 4–6 °C. Le analisi sono iniziate il giorno successivo alla preparazione e ripetute successivamente ai giorni 4, 8, 11 e 14.

## 4.3 Determinazioni analitiche

### 4.3.1 Colore

L'analisi del colore è stata eseguita utilizzando un Colorimetro spettrofotometrico tristimolo HunterLab (ColorFlex EZ, Virginia, USA), dotato di oculare da 0.50''. Per ciascuna delle 9 fette per campione la misura è stata effettuata in due punti differenti, ottenendo così un totale di 18 repliche per campione. Sono stati calcolati valori **L\*a\*b\***.

### 4.3.2 Analisi d'immagine

L'analisi d'immagine è stata condotta scattando una fotografia per ciascuno degli spicchi di mela utilizzati nell'analisi colorimetrica. Le immagini sono state acquisite con una fotocamera D7000 (Nikon, Japan) equipaggiata con obiettivo da 105 mm (AF-S Micro Nikkor, Nikon, Japan) posizionata all'interno di una camera nera su sfondo nero, in condizioni di illuminazione controllata costituita da quattro lampade fluorescenti a luce diurna (TL-D Deluxe, Natural Daylight, 18 W/965, Philips, USA) con temperatura di colore pari a 6500 K (standard D65). I tubi fluorescenti, lunghi 60 cm, sono stati posizionati a 35 cm di distanza dal campione e inclinati con un angolo di 45°.

I parametri di acquisizione sono stati impostati a:

- F-stop: f/9
- Tempo di esposizione: 1/10 s
- Esposizione: 0 passaggio

Le immagini sono state successivamente elaborate tramite il software Fiji ImageJ (NIH, USA), misurando i parametri colorimetrici *Lab\**, dai quali sono stati calcolati Chroma (*C\**), imbrunimento enzimatico (BI) e area d'imbrunimento (BA). In particolare, la Chroma è stata determinata applicando l'equazione (4).

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

*Equazione 3. Calcolo del parametro colorimetrico Chroma (*C\**) (McClellan et al., 1995)*

L'indice di imbrunimento enzimatico è stato calcolato attraverso l'equazione 5.

$$B.I. = \frac{(a^* + 1.75L^*)}{(L^* + a^* - 3.012b^*)}$$

*Equazione 4. Calcolo dell'indice colorimetrico BI. (Chen. et al., 2025)*

L'area imbrunita è stata definita come un rapporto percentuale tra il numero di pixel relativi all'area imbrunita e il numero di pixel dell'area totale del campione:

$$B.A. (\%) = \frac{pixel\ imbruniti\ (px)}{pixel\ totali\ (px)} * 100$$

*Equazione 5. Calcolo dell'indice colorimetrico B.A. (Palau et al., 1999).*

#### 4.3.3 Sostanza secca

L'analisi della sostanza secca è stata eseguita su tre repliche per campione. Le tazze di pesata sono state prima essicate in stufa a  $70 \pm 2$  °C per 1 ora; quindi, raffreddate in essiccatore per 1 ora e successivamente pesate vuote. In ciascuna tazza sono stati quindi inseriti circa 3 g di campione, che è stato essiccato in stufa (UF110, Memmert, Schwabach, Germany) a  $70 \pm 2$  °C per 48 ore. Al termine dell'essiccazione, le tazze sono state lasciate raffreddare in essiccatore per 30 minuti e quindi ripesate.

Il contenuto di sostanza secca è stato determinato tramite la seguente formula:

$$SS = \frac{100(c - a)}{(b - a)} \%$$

*Equazione 6. Formula per il calcolo della sostanza secca: dove a= peso della tazza vuota; b= peso della capsula con il campione prima dell'essiccameto, c= peso capsula con campione post essiccameto (Gazzetta ufficiale 14-6-12 serie generale n.137).*

#### 4.3.4 Texture

La texture è stata analizzata utilizzando un Texture Analyser TA XT2 (Stable Micro Systems, Surrey, UK) tramite sforzo di taglio con una lama da taglierino affilata. Lo strumento è stato impostato con i seguenti parametri:

- Velocità pre-test: 10.00 mm/s.
- Velocità di test: 1.00 mm/s.
- Velocità post-test: 10.00 mm/s.
- Deformazione (strain): 35%.
- Forza applicata: 0.098 N.
- Cella di carico: 5 kg.

Dai grafici ottenuti sono stati ricavati il valore dello sforzo massimo (max force) e la regressione lineare dello sforzo (m). Sono state svolte due misurazioni su ognuna delle nove fette di mela per un totale di 18 repliche.

#### 4.3.5 Respirazione

L'analisi della respirazione è stata condotta su campioni prelevati presso l'azienda. Da mele intere sono state ricavate sezioni cilindriche (diametro 5 mm, lunghezza 4 cm) mediante una sonda cilindrica cava in acciaio inox. Dopo i trattamenti, ciascun cilindro è stato pesato e inserito ermeticamente in ampolle di vetro da 20 mL, quindi stoccati a 4–6 °C. Le analisi dei gas sono state effettuate utilizzando un analizzatore per ossigeno e anidride carbonica (MFA III, WITT Gas, USA). Per ciascuna misura, sono stati prelevati 3 mL di aria dallo spazio di testa delle ampolle, quindi iniettati nell'analizzatore per determinare le concentrazioni di O<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub>. Le rilevazioni sono state effettuate a 24, 47 e 72 ore dal momento della campionatura.

I dati ottenuti sono stati elaborati per calcolare il tasso di respirazione dell'ossigeno (RR O<sub>2</sub>) e il tasso di respirazione di anidride carbonica (RR CO<sub>2</sub>) (Eq. 6):

$$RR\ O_2 \left( \frac{mol\ O_2}{kg} \right) = \frac{mmO_2 * V * \Delta\% * P}{t * m * R * T}$$

*Equazione 6. Formula rapporto di respirazione (Tappi S. et al., 2016)*

Dove:

- mmO<sub>2</sub>: massa molare dell'O<sub>2</sub>
- V: volume ampolla (dm<sup>3</sup>)
- Δ%: consumo percentuale di O<sub>2</sub> (20.9 - %O<sub>2</sub>) /100 o rilascio percentuale di CO<sub>2</sub> (%CO<sub>2</sub> – 0.04) /100
- P: pressione atmosferica (101.235 KPa)
- T: tempo (giorni)
- m: massa del campione (g)
- R: costante universale dei gas (8.314472 dm<sup>3</sup> K<sup>-1</sup> mol<sup>-1</sup>)
- T: temperatura di stoccaggio (K)

#### 4.3.6 Calorimetria in isoterma

Il campionamento per queste analisi è stato eseguito con le stesse modalità descritte per l'analisi della respirazione. I campioni sono stati pesati e inseriti in apposite ampolle da 20 mL, chiuse ermeticamente per l'analisi in calorimetria in isoterma. Il calorimetro utilizzato (TAM II, TA Instruments, New Castel, USA) aveva una precisione di  $\pm 10 \mu\text{W}$  per misurare la produzione di calore. Come materiale di riferimento è stata scelta l'acqua; la sua quantità è stata calcolata secondo Panarese, Laghi et al., (2012). L'analisi è stata condotta a 10 °C per 24 ore, registrando la linea di base (30 minuti) prima e dopo ciascuna misurazione. La potenza termica specifica ( $\text{mW}\cdot\text{g}^{-1}$ ) è stata calcolata secondo Gómez Galindo, Wadsö, Vicente e Dejmek (2008). La produzione media di calore metabolico è stata determinata integrando i profili di calore metabolico.

#### 4.3.7 Microbiologia

Le campionature per l'analisi microbiologica sono state effettuate prelevando 2 fette di mela che venivano riposte in buste da stomacher per un peso a campione di circa 20 g.

Le analisi microbiologiche condotte sono state carica microbica totale (mesofila), conteggio dei lieviti, conteggio dei coliformi, conteggio dei batteri lattici.

Un'aliquota di 10 g è stata pesata e diluita con 90 mL di soluzione fisiologica sterile (0,9% NaCl), omogeneizzata tramite stomacher per 2 minuti per poi passare alle analisi successive.

Per la determinazione della carica microbica totale (mesofila), sono state eseguite otto serie di diluizioni decimali e seminati 1 mL di ciascuna diluizione su Plate Count Agar (PCA) mediante semina superficiale. Le piastre sono state incubate a 30°C per 48-72 ore. Dopo l'incubazione, le colonie sono state contate e i risultati espressi in log UFC/g campione.

Per la stima dei lieviti, si è utilizzato Sabouraud Dextrose Agar (SDA) o agar glucosato con cloramfenicolo per inibire la crescita batterica. Sono state seminate 1 mL di diluizione decimale superficiale e incubate a 25-28°C per 3-5 giorni. Le colonie tipiche sono state contate e i risultati espressi in log UFC /g campione.

La conta dei coliformi totali è stata condotta mediante il metodo della filtrazione su membrana. Un'aliquota di 1 mL del campione diluito è stata filtrata attraverso una membrana da 0,45  $\mu\text{m}$  e la membrana posta su m-Endo Agar LES.

[Digitare qui]

[Digitare qui]

[Digitare qui]

Le piastre sono state incubate a  $36 \pm 1^{\circ}\text{C}$  per 24 ore. Le colonie rosso brillante sono state espresse come log UFC/g campione.

La determinazione dei batteri lattici è stata effettuata mediante semina superficiale su MRS agar, incubando le piastre anaerobicamente (barattolo anaerobio o atmosfera modificata) a  $30^{\circ}\text{C}$  per 48-72 ore. Le colonie tipiche (piccole, bianco-latte) sono state contate e riportate come log UFC/g.

#### 4.3.8 pH

Il pH è stato misurato mediante un pHmetro (Easyfive Plus, Mettler Toledo, Columbus, USA). L'analisi è stata effettuata dopo aver omogeneizzato 5 g di polpa di mela in 10 mL di acqua distillata a 10'000 rpm per 30 secondi tramite Ultra-Turrax (T25 digital, IKA Works, Wilmington, USA).

### 4.4 Analisi statistica

I dati ottenuti sono stati raccolti come media e deviazione standard, i valori sono sottoposti a test della varianza ANOVA ( $p<0.05$ ) test di Tukey con software R ed eventualmente l'indice di correlazione di Pearson tra le variabili.

## 5 Risultati

### 5.1 Analisi di immagine e colorimetrica

La Chroma ( $C^*$ ) nello spazio CIELAB è intesa come la saturazione o l'intensità del colore indipendentemente dalla sua luminosità, più alti sono i suoi valori più intenso risulterà il colore.

La figura 11 riporta i valori medi di  $C^*$  per tutti i campioni di mela di IV gamma durante lo stoccaggio.

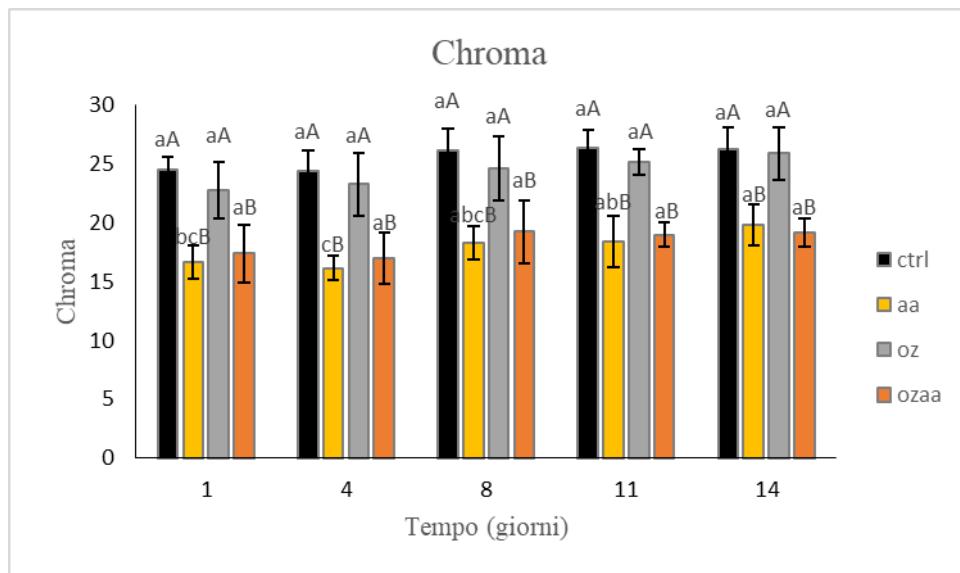


Figura 11. Valori di Chroma nei campioni di mela relativi ai trattamenti: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

Il valore di *Chroma* è rimasto complessivamente stabile durante lo stoccaggio, senza evidenziare differenze significative nei trattamenti *ctrl*, *oz* e *ozaa*. Al contrario, il trattamento *aa* ha mostrato differenze significative tra il giorno 4 e i giorni 11 e 14, con un lieve ma significativo incremento dell'intensità del colore, suggerendo un principio di imbrunimento.

Nel confronto tra trattamenti, le differenze significative si mantengono costanti per l'intera durata della conservazione: i valori di *Chroma* dei campioni *ctrl* e *oz* risultano significativamente superiori rispetto a quelli di *aa* e *ozaa*, indicando che la presenza di acido ascorbico sia il fattore determinante circa il mantenimento del colore e prevenzione dell'imbrunimento.

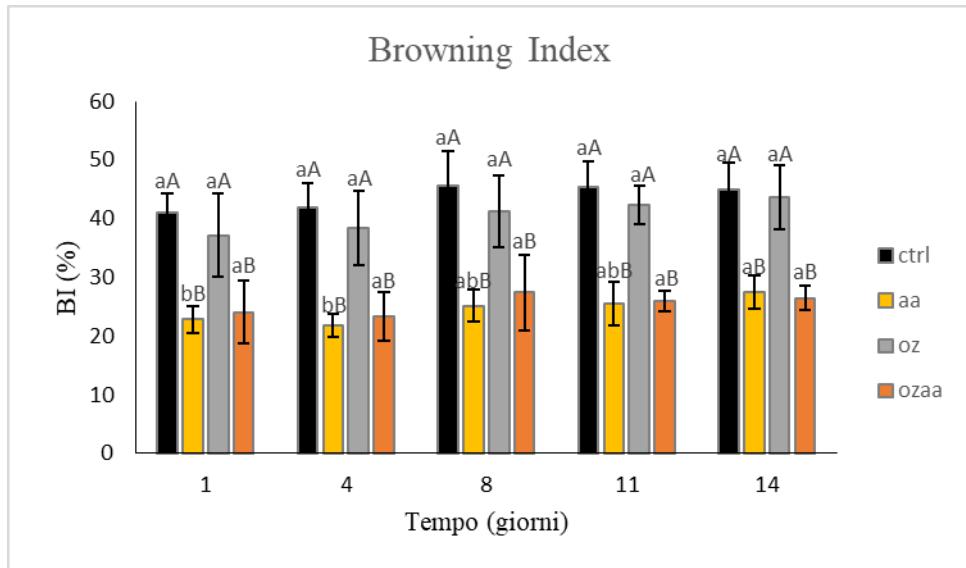


Figura 12. Valori dell'indice di imbrunimento enzimatico nei campioni di mela relativi ai trattamenti: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

Il grafico relativo all'imbrunimento enzimatico (B.I.) (Fig. 12) mostra risultati coerenti con l'andamento del valore  $C^*$ . Nel confronto tra trattamenti, la coppia *aa*–*ozaa* evidenzia un'efficace capacità di prevenire l'imbrunimento, confermando l'efficacia dell'acido ascorbico, mentre la coppia *ctrl*–*oz* mostra valori di imbrunimento quasi doppi. Il confronto dello stesso trattamento nel tempo offre però uno spunto interessante: seppur *ctrl*, *oz* e *ozaa* non mostrano variazioni significative nel tempo, *aa* presenta un incremento significativo al giorno 14. Tale differenza, seppur significativa, è molto piccola; dunque, non consente di affermare un effetto migliorativo del trattamento combinato *ozaa* rispetto al solo *aa*, ma suggerisce, poiché coerente con  $C^*$ , un potenziale effetto protettivo della combinazione tra ozono e acido ascorbico.

Questo comportamento, anche se contenuto, è coerente con quanto riportato in letteratura da Liu et al. (2016). Il lavoro descrive infatti la capacità dell'ozono di inibire enzimi coinvolti nei processi di imbrunimento, quali la polifenolossidasi (PPO) e la perossidasi (POD), a condizione che concentrazione e tempo di esposizione siano adeguati. Tuttavia, Li et al. (2022) hanno osservato che trattamenti lievi con ozono (2, 4 e 6 mg L<sup>-1</sup> per 20 minuti) non inducono effetti protettivi rispetto al controllo. L'effetto antiossidante dell'acido ascorbico, al contrario, era atteso ed è ampiamente documentato in letteratura (Remorini et al., 2015).

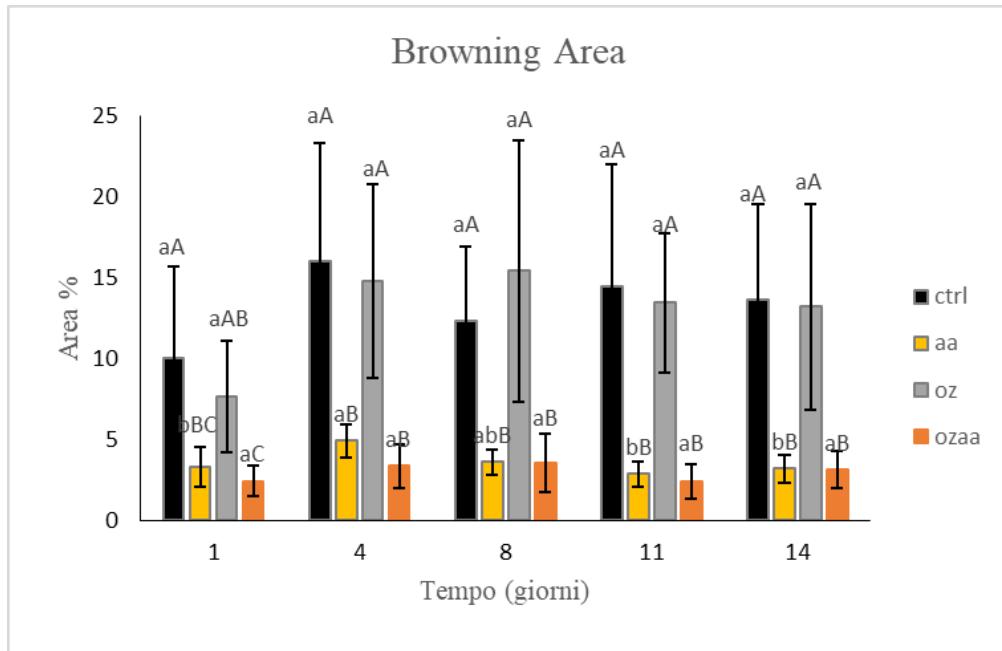


Figura 13. Valori % dell'area imbrunita nei campioni di mela relativi ai trattamenti: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

Questi risultati sono parzialmente supportati dall'analisi di immagine (fig. 13) che risulta nel parametro di Area Imbrunita (AI). I dati mostrano come nel confronto tra trattamenti siano mantenute le differenze tra le due coppie di campioni, ovvero come vi sia una distanza significativa tra ctrl-oz (imbruniti) e aa-ozaa (non imbruniti). Tuttavia, per quanto riguarda il confronto dello stesso trattamento durante lo stoccaggio, quella leggera tendenza osservata precedentemente scompare. I trattamenti ctrl, ozaa e oz non mostrano differenze significative, mentre aa vede sì delle piccole differenze significative, ma imputabili alla variabilità sperimentale. Infatti, i valori di AI sono significativamente più bassi nei tempi 1, 11 e 14, mentre più alti nei tempi 4 e 8.

Tabella 2. Valori  $r$   $X=$  variabile 1;  $Y=$  variabile 2;  $r=$  indice di Pearson; B.A. = area di imbrunitamento; B.I. = Indice di imbrunitamento enzimatico; C\* = Chroma.

X	Y	r
B.A.	B.I.	0.928321
B.A.	C*	0.904999
C*	B.I.	0.995038

In ogni caso, l'andamento coerente dei tre parametri analizzati è stato confermato dall'analisi di correlazione di Pearson (Tab. 4), che ha evidenziato una forte correlazione positiva tra tutte le combinazioni considerate:  $C^*-BA$ ,  $BA-BI$  e, in particolare,  $C^*-BI$ ,

con un coefficiente di correlazione ( $r$ ) pari a 0,99. Tali risultati sono in accordo con quanto riportato da Subhashree et al. (2017), che hanno osservato una correlazione positiva tra  $C^*$  e  $BI$  in mele *Fuji* di IV gamma.

## 5.2 Analisi della sostanza secca

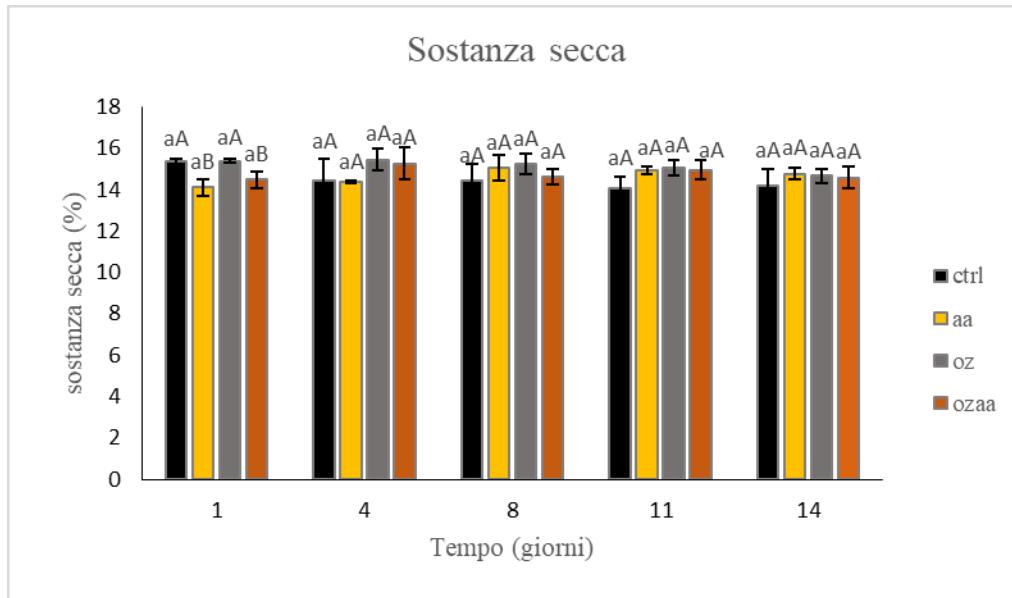


Figura 14. Valori della sostanza secca nei campioni di mela relativi ai trattamenti: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

La figura 14 mostra l'andamento della sostanza secca (%) nei campioni sottoaposti ai diversi trattamenti durante 14 giorni di conservazione. I valori medi di SS (%) rimangono pressoché stabili nel tempo per tutte le condizioni testate. Se si considera lo stesso campione lungo i giorni di conservazione, non si riscontrano differenze significative. Se si osservano i diversi campioni nei giorni si nota che al giorno 1 c'è una differenza significativa tra i campioni *aa* e *ozaa* che hanno valori più bassi rispetto ai campioni *ctrl* e *oz*, ciò va contro tendenza a ciò che ci si potrebbe aspettare. Il dipping, che conteneva lo 0.8% di  $\text{CaCO}_3$ , può avere effetti minimi sulla sostanza secca (Lamikanra, 2006). Alcuni sali di calcio, inoltre, possono rallentare la perdita d'acqua durante la conservazione elevando i valori della sostanza secca come nel caso del  $\text{CaCl}_2$  (Chepngeno et al., 2016). In letteratura non si trovano studi in cui sono stati sperimentati concertazioni così basse di  $\text{CaCO}_3$ . Ad ogni modo, già dal giorno 4 i valori tendono ad allinearsi e non emergono differenze significative tra i gruppi.

### 5.3 Texture

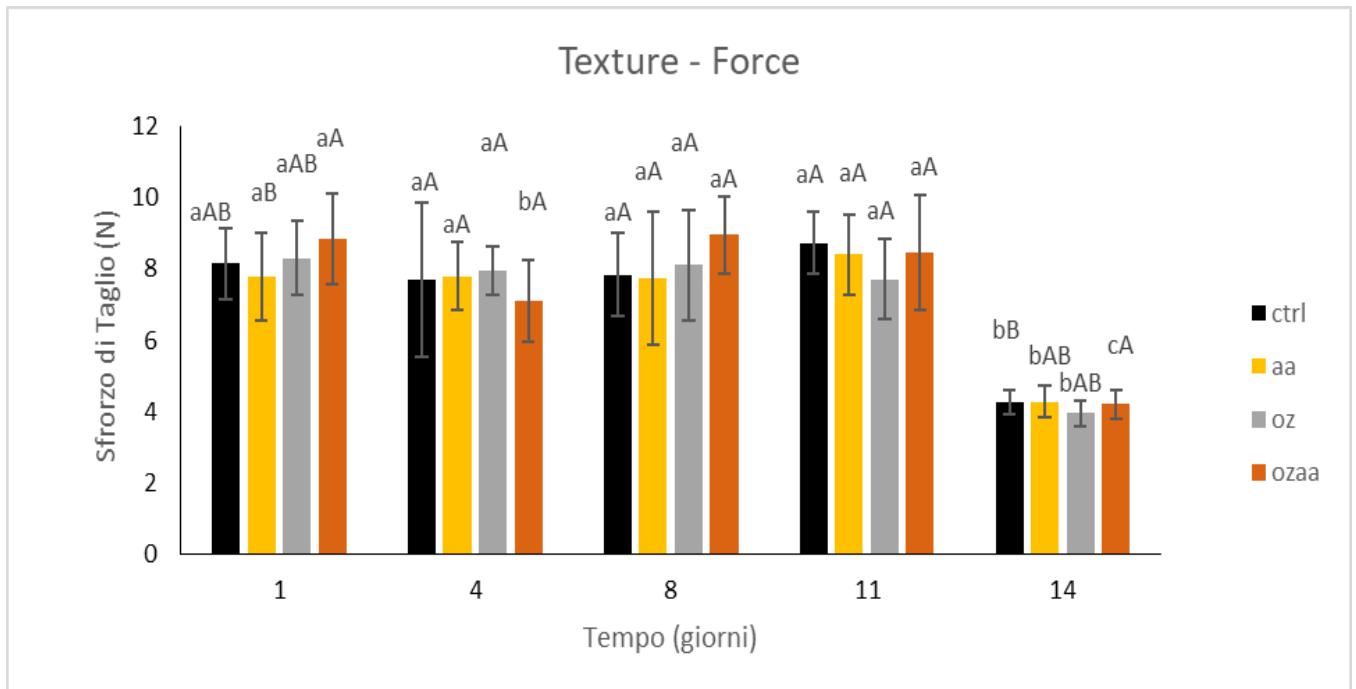


Figura 15. Valori dello sforzo di taglio nei campioni di mela relativi ai trattamenti controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

Nella fig.15 sono rappresentati i risultati della analisi della texture, espressa come resistenza allo sforzo di taglio (N).

Analizzando il confronto tra i trattamenti nei vari giorni di stoccaggio, è possibile osservare che nel giorno 1 è presente una differenza statisticamente significativa tra campioni oz e ozaa, con leggere differenze statisticamente significative tra i campioni ctrl e aa con i due sopraccitati, differenze che non sono evidenti nei giorni 4,8 e 11. Detto ciò, rimangono piuttosto costanti i valori complessivi medi. Al giorno 14 riemergono differenze statisticamente significative tra i campioni ctrl e ozaa e leggermente significative tra aa e oz, insieme ad un drastico calo dei valori medi, indicativo della perdita di compattezza fisiologicamente attesa nei prodotti di IV gamma durante la conservazione prolungata. Risultati analoghi sono stati riportati da Wang et al. (2023), che hanno osservato come il trattamento con ozono gassoso a 1 mg/L per 10 minuti, applicato su kiwi fresco di IV gamma conservato a 4 °C per 12 giorni, permetta di mantenere relativamente stabile la texture rispetto al gruppo non trattato.

Se si guarda all'andamento della texture dei singoli campioni lungo tutto il periodo di conservazione si osserva un andamento simile e si osservano differenze significative solo

in corrispondenza del quattordicesimo giorno di conservazione confermando quanto detto in precedenza.

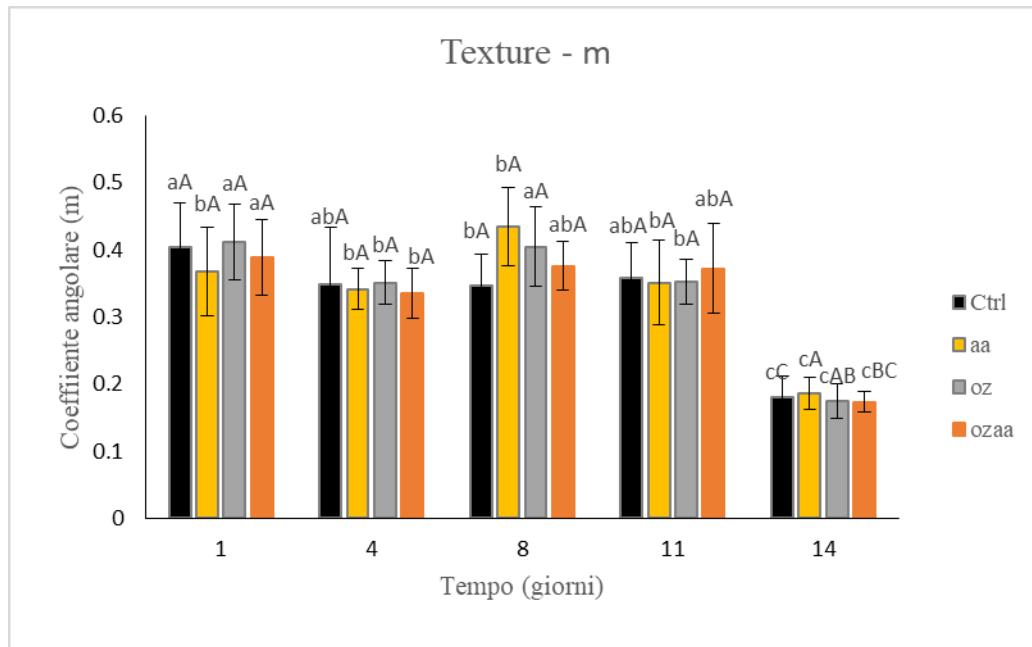


Figura 16. valori del coefficiente angolare dello sforzo di taglio: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

La fig. 16 mostra l'andamento del coefficiente angolare indicato (m) della curva dello sforzo di taglio nelle mele di IV gamma. Se prendiamo in esame i singoli campioni durante tutta la conservazione possiamo osservare come le differenze dei valori tra il primo giorno e il quattordicesimo sì progressivamente più accentuata.

Guardando ai diversi campioni confrontati nello stesso giorno vediamo come non ci sono differenze significative per il giorno 1, 4, 8 e 11 mentre nel giorno 14 è possibile notare come differenze statisticamente significative o leggermente significative siano presenti per tutti i campioni, oltre ad avere un crollo del valore come accaduto per lo sforzo di taglio. Per approfondire quest'aspetto è stato calcolato l'indice di correlazione di Pearson tra queste due grandezze che risulta essere positivo e molto vicino a 1 (esattamente 0.939).

Questo significa che, all'aumentare della resistenza al taglio, aumenta anche rapidamente lo sforzo richiesto, indicando che la struttura dei campioni rimane compatta e stabile fino al giorno 11, mentre decade al giorno 14. In letteratura, questa relazione è considerata molto importante per comprendere le proprietà della texture. Ad esempio, lo studio di Garcia Loredo et al., (2014) utilizza la tecnica Partial Least Squares (PLS), che è simile

all'indice di correlazione di Pearson ma più adatta a misurare la correlazione tra molte variabili contemporaneamente.

## 5.4 Respirazione e calorimetria in isoterma

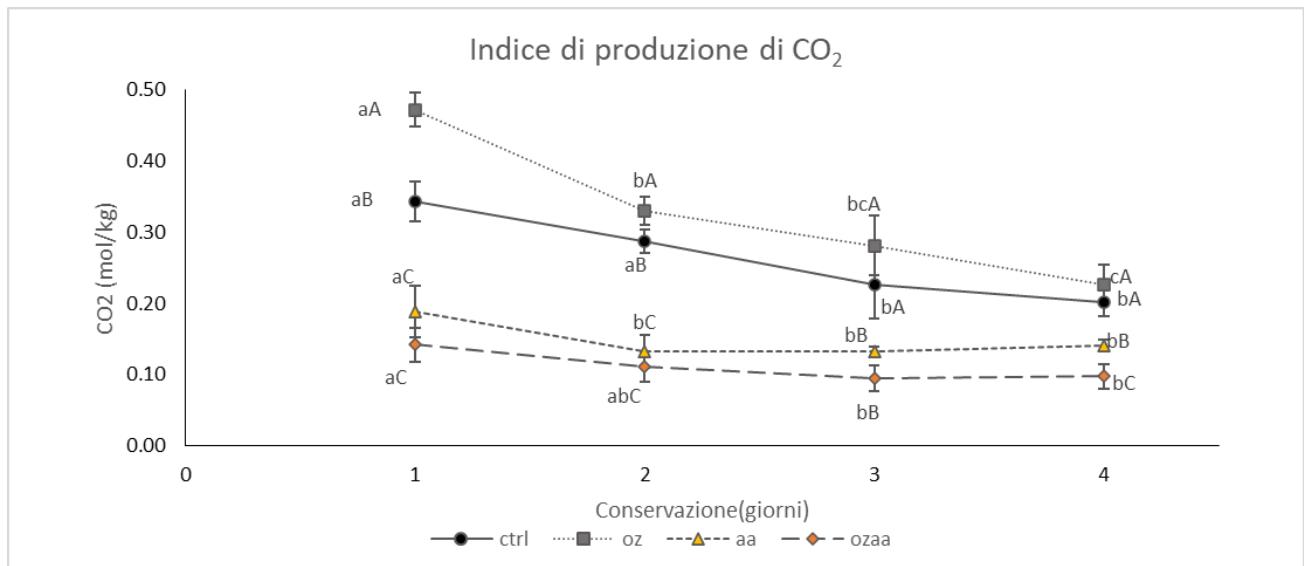


Figura 17. Valori della produzione di  $\text{CO}_2$  durante i giorni di conservazione: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

Dal grafico dell'indice di produzione di  $\text{CO}_2$  (Fig.17) è possibile individuare due coppie di campioni *oz-ctrl* e *aa-ozaa*. La prima coppia presenta valori mediamente più alti, in particolare il campione *oz*, indice di un metabolismo accelerato in seguito a stress. Analizzando l'andamento dei trattamenti nei giorni, tutti i campioni mostrano picchi di respirazione i primi giorni con valori significativamente più alti rispetto al giorno 4. Queste differenze sono maggiormente marcate per i campioni più stressati come *oz* e *ctrl*. Al contrario, *ozaa* e *aa* mettono in evidenza una curva più piatta indicando minori cambiamenti metabolici indotti dai trattamenti. Questo andamento conferma ulteriormente l'effetto protettivo dell'acido ascorbico, che in questo caso riesce a limitare lo stress ossidativo indotto sia dal taglio che dal trattamento con ozono.

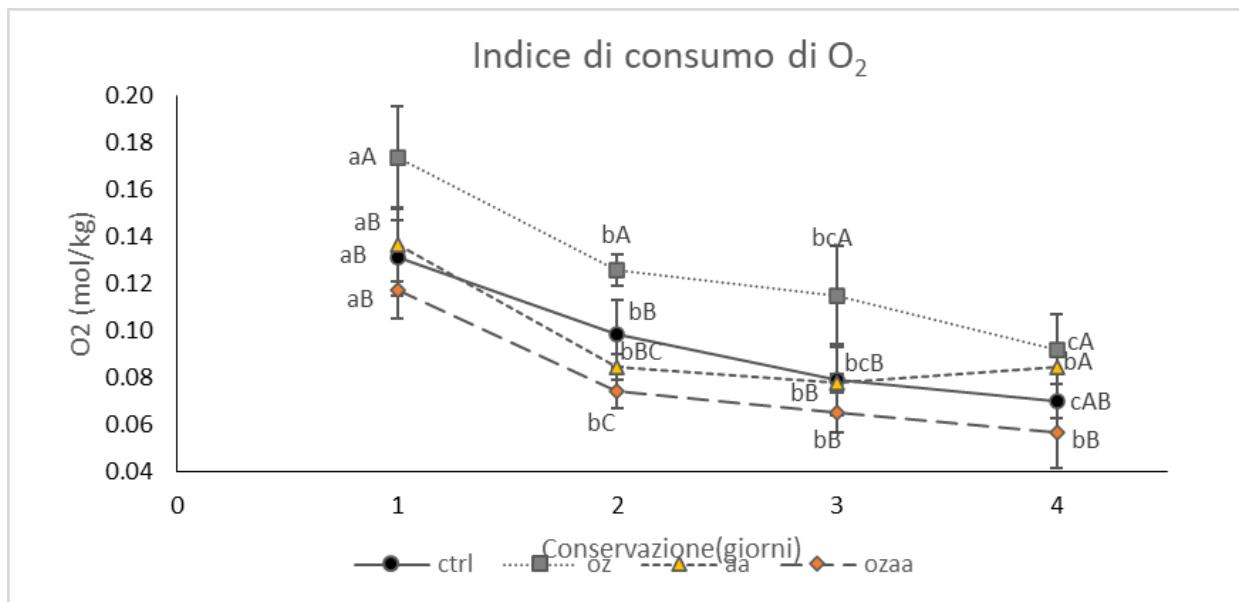


Figura 18. Valori del consumo di  $O_2$  durante i giorni di conservazione: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0.05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

L'analisi dell'indice di consumo dell'ossigeno (Fig.18) riporta un andamento simile a quanto osservato nella figura precedente, ma con alcune differenze. Il campione trattato con ozono risulta avere la curva più alta indicando il maggiore stress ossidativo. In questo caso non si riescono a distinguere chiaramente le due coppie di campioni trattati con acido ascorbico e non, ad ogni modo, la curva di respirazione ozaa risulta significativamente più bassa della curva *ctrl* su tutti i punti, e consistentemente inferiore ai campioni aa e *ctrl* su tutti i punti anche se non sempre in modo significativo. Dunque, se dall'analisi della  $CO_2$  viene messo in evidenza l'effetto protettivo dell'acido ascorbico (Rocculi et al., 2006), osservando l'andamento dell'ossigeno, non perfettamente coerente con l'andamento della anidride carbonica, viene messo in evidenza un effetto protettivo della combinazione acido ascorbico + ozono (ozaa).

Tuttavia, questo comportamento può essere associato all'effetto del dipping in acido ascorbico e in altri acidi organici che talvolta rallentano il consumo di ossigeno soprattutto nelle ore successive al taglio e all'immersione (Rocculi et al., 2006).

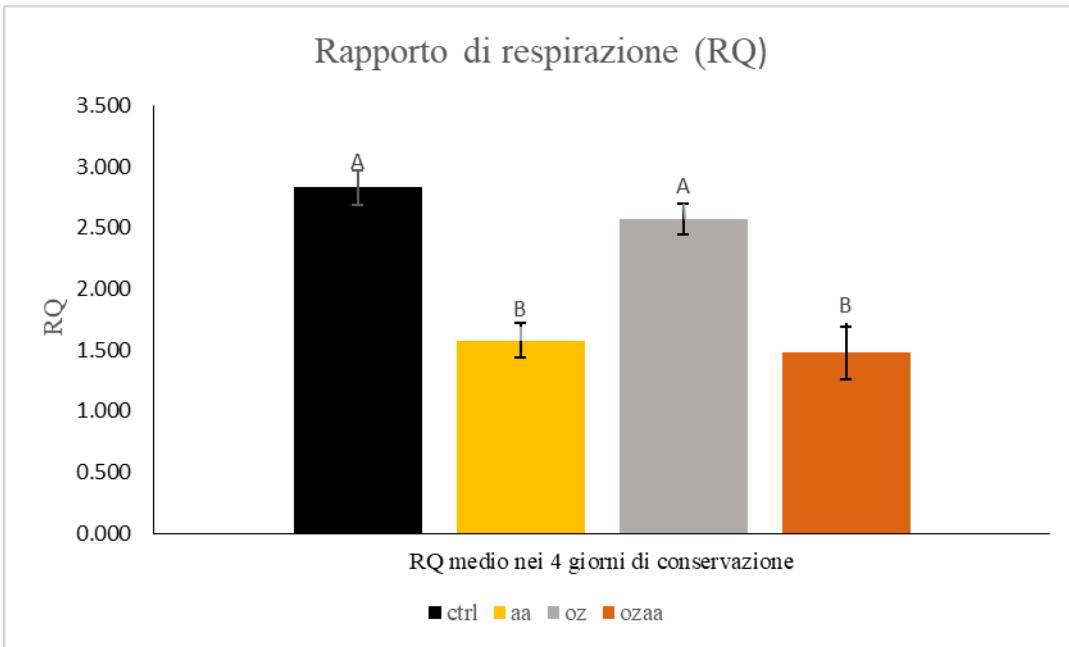


Figura 19. Rapporto di respirazione medio durante la conservazione: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0.05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

RQ è un indice metabolico associato a fermentazione ed in minima parte a stress metabolico quando nei campioni  $RQ > 1$  (Deng et al., 2025).

L'analisi dei valori di RQ (Fig.19) permette inoltre di distinguere meglio i due cluster già evidenziati nelle precedenti analisi: *ctrl-oz* e *aa-ozaa*. I due cluster sono evidenziati anche dall'analisi statistica dei campioni diversi nei giorni, in questo caso i campioni *oz* e *ctrl* presentano valori quasi doppi rispetto ai campioni *aa* e *ozaa* facendoci supporre che anche il rapporto di respirazione possa essere abbassato dall'azione dell'acido ascorbico. Tappi et al., (2012) confermano come dippings in acido ascorbico ed altri soluti possono abbassare la produzione di  $CO_2$  l'assorbimento di  $O_2$  nelle mele di IV gamma e quindi anche il valore di RQ. Quando il valore di  $RQ > 1.3$  è considerato indicatore per possibili fermentazioni e di stress metabolico (Bessemans et al., 2020).

La calorimetria isoterma misura direttamente il calore rilasciato o assorbito durante le interazioni molecolari tra le biomolecole presenti negli alimenti, come proteine, enzimi e carboidrati. Questa tecnica permette di valutare parametri termodinamici fondamentali, quali l'entalpia delle interazioni e l'affinità di legame, senza alterare il campione. In questo caso, questa analisi si applica per misurare il calore emesso dal tessuto vegetale come indice di stress da ferita o trattamento (Rocculi et al., 2012)

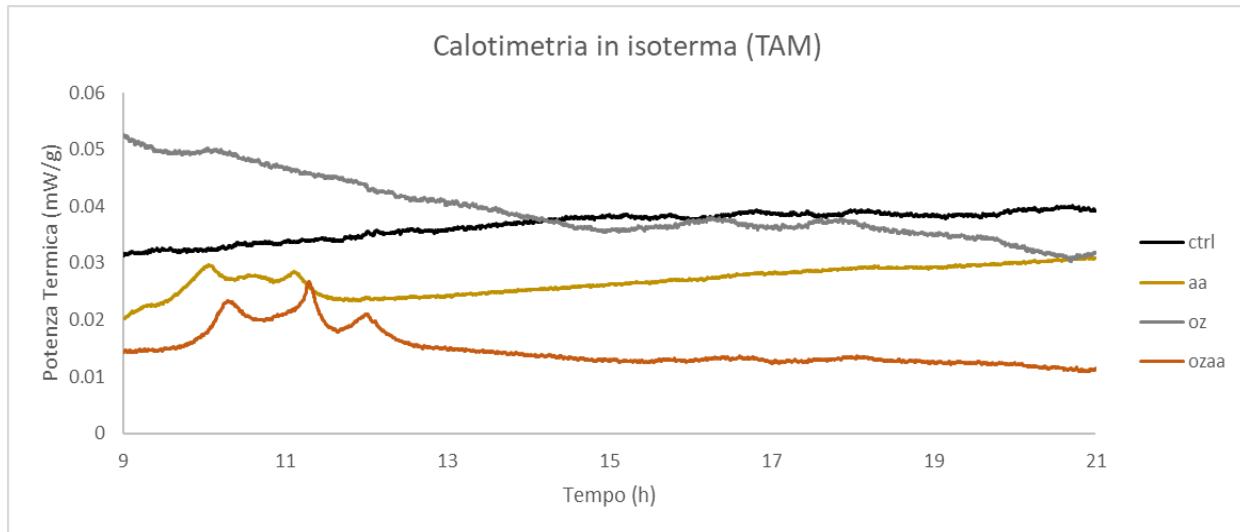


Figura 20. Grafico del calore rilasciato durante la calorimetria in isoterma per la durata di 21h con i seguenti campioni ctrl: controllo; aa: acido ascorbico; oz: ozono; ozaa: ozono e acido ascorbico.

Dalla figura 20 si osserva che i campioni sottoposti a trattamento con ozono e il ctrl mostrano un una curva termica maggiore rispetto ai campioni trattati con l'acido ascorbico, confermando quanto osservato con l'analisi della respirazione.

Nei campioni trattati con acido ascorbico, emissione termica presenta un andamento lineare con pendenza positiva: i valori iniziali sono inferiori rispetto a quelli dei campioni trattati con ozono, ma aumentano nel tempo. Questo comportamento è probabilmente dovuto all'azione antiossidante dell'acido ascorbico. Risultati analoghi sono stati riportati da Tappi et al. (2022), che hanno osservato una riduzione dell'attività metabolica delle mele di IV gamma dopo trattamenti in acido ascorbico, misurata tramite TAM.

I campioni sottoposti alla combinazione di ozono e acido ascorbico (ozaa) mostrano un'emissione termica più bassa in assoluto. Confermando sia l'effetto protettivo dell'acido ascorbico, si mettendo in evidenza come la combinazione tra ozono e acido ascorbico riesca ad avere un effetto sinergico nella prevenzione dello stress da ferita della mela di IV gamma.

## 5.5 Analisi microbiologica

Tabella 7. Valori della carica microbica mesofila totale log UFC/g nei diversi giorni di conservazione: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

	T1		T4		T8		T11		T14	
	Media	s/d	Media	s/d	Media	s/d	Media	s/d	Media	s/d
ctrl	3.37 <sup>aA</sup>	0.22	3.19 <sup>aA</sup>	0.14	5.87 <sup>bA</sup>	0.31	6.54 <sup>bA</sup>	0.11	7.15 <sup>bA</sup>	0.16
oz	3.64 <sup>aA</sup>	0.19	3.56 <sup>aA</sup>	0.27	5.92 <sup>bA</sup>	0.21	6.36 <sup>bA</sup>	0.28	7.57 <sup>cAB</sup>	0.19
aa	2.8 <sup>aA</sup>	0.15	3.64 <sup>aA</sup>	0.34	6.85 <sup>bA</sup>	0.17	7.32 <sup>bcA</sup>	0.19	8.02 <sup>bcB</sup>	0.18
ozaa	3.25 <sup>aA</sup>	0.23	3.18 <sup>aA</sup>	0.17	5.85 <sup>bA</sup>	0.24	6.89 <sup>bcA</sup>	0.13	7.21 <sup>cAB</sup>	0.14

Dalla tabella 7 possiamo osservare che la carica microbica mesofila totale (CMT) tra il primo ed il quarto giorno in tutti i campioni si è attestata su valori compresi tra 2.8 e 3.6 log UFC/g. Tra il quarto e l'ottavo giorno è stato osservato un marcato incremento in ciascun gruppo sperimentale, con una crescita particolarmente accentuata nel campione *aa* che ha raggiunto il valore di 6.85 log UFC/g. Negli altri campioni, nello stesso intervallo temporale, la carica microbica risultava inferiore di circa un ciclo logaritmico rispetto al campione *aa* nonostante questa non sia considerata una differenza statisticamente significativa. Al giorno 11 tutti i campioni hanno superato il limite di 6.0 log ufc/g (Regolamento (CE) n. 2073/2005) perdendo il valore commerciale.

Tabella 8. valori della carica microbica dei lieviti log UFC/g nei diversi giorni di conservazione: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

	T1		T4		T8		T11		T14	
	Media	s/d	Media	s/d	Media	s/d	Media	s/d	Media	s/d
ctrl	0 <sup>aA</sup>	0	1.96 <sup>bA</sup>	0.08	2.17 <sup>bA</sup>	0.12	3.27 <sup>cA</sup>	0.22	3.46 <sup>cA</sup>	0.15
oz	0 <sup>aA</sup>	0	2.18 <sup>bA</sup>	0.12	2.51 <sup>bA</sup>	0.1	3.32 <sup>cA</sup>	0.19	3.8 <sup>cA</sup>	0.21
aa	0 <sup>aA</sup>	0	2.15 <sup>bA</sup>	0.11	1.93 <sup>bA</sup>	0.13	2.48 <sup>bA</sup>	0.22	2.62 <sup>bA</sup>	0.23
ozaa	1 <sup>aA</sup>	0	2.51 <sup>bA</sup>	0.09	2.94 <sup>cA</sup>	0.11	3.89 <sup>cB</sup>	0.18	4.22 <sup>cB</sup>	0.27

Nel caso dei lieviti (tab. 8), non è stato raggiunto il livello di 5.0 log UFCggio in nessuno dei campioni, che sono pertanto rimasti conformi al regolamento CE 2073/2005. Tuttavia, sono state rilevate delle differenze tra i campioni. Infatti, i campioni *aa* sono quelli che

[Digitare qui]

[Digitare qui]

[Digitare qui]

hanno mantenuto il livello più basso per tutto il tempo di stoccaggio mostrando un carico a fine stoccaggio di 2.6 log UFC/g, cosa che può essere spiegata dal fatto che l'acido ascorbico può inibire la crescita di lieviti e muffe quando utilizzati in concentrazioni comprese tra 1 e 5% (Gao et al., 2018) effetto che tuttavia non si osserva nel campione ozaa che risulta essere il campione con la carica microbica più alta rispetto agli altri campioni (4.2 log UFC/g)>oz (3.8 log UFC/g)>C (3.5 log UFC/g).

*Tabella 9. Valori della carica microbica dei coliformi log UFC/g nei diversi giorni di conservazione: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.*

	T1		T4		T8		T11		T14	
	media	s/d	media	s/d	media	s/d	media	s/d	media	s/d
ctrl	0 <sup>aA</sup>	0	1.35 <sup>bA</sup>	0.12	1.95 <sup>bA</sup>	0.31	1.33 <sup>bA</sup>	0.21	1.62 <sup>bA</sup>	0.15
oz	2.93 <sup>aB</sup>	0.21	1.75 <sup>bA</sup>	0.19	1.87 <sup>abA</sup>	0.25	1.47 <sup>bAB</sup>	0.17	2.13 <sup>abAC</sup>	0.11
aa	2.43 <sup>bA</sup>	0.15	2.21 <sup>aA</sup>	0.22	2.74 <sup>aA</sup>	0.21	1.99 <sup>aAB</sup>	0.19	2.73 <sup>aBC</sup>	0.15
ozaa	2.26 <sup>aB</sup>	0.17	2.44 <sup>aA</sup>	0.24	2.65 <sup>aA</sup>	0.18	3.09 <sup>aB</sup>	0.48	3.19 <sup>aB</sup>	0.16

Il carico di coliformi totali (Tab. 9) è risultato abbastanza variabile e solo il campione (ozaa) ha superato il livello di 3.0 log UFC/g. In questo caso il campione di controllo (ctrl) è quello che ha mostrato i livelli inferiori. La presenza dei coliformi può essere associata alla qualità dell'acqua con cui è stato effettuato il dipping, l'acqua di lavaggio può essere fonte di contaminazione da coliformi negli ortaggi di IV gamma (Faour-Klingbeil et al., 2016).

[Digitare qui]

[Digitare qui]

[Digitare qui]

*Tabella 10: valori della carica microbica dei batteri lattici log UFC/g nei diversi giorni di conservazione: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.*

	T1		T4		T8		T11		T14	
	Media	s/d	Media	s/d	Media	s/d	Media	s/d	Media	s/d
ctrl	1.3 <sup>aA</sup>	0.1	1.48 <sup>aA</sup>	0.1	1.25 <sup>aB</sup>	0.1	0 <sup>bA</sup>	0	0 <sup>bA</sup>	0
oz	0 <sup>aB</sup>	0	1.25 <sup>bA</sup>	0.09	1.52 <sup>bB</sup>	0.11	0 <sup>aA</sup>	0	0 <sup>aA</sup>	0
aa	0 <sup>aB</sup>	0	1.48 <sup>bA</sup>	0.1	0 <sup>aA</sup>	0	0 <sup>aA</sup>	0	0 <sup>aA</sup>	0
ozaa	0 <sup>aB</sup>	0	0 <sup>bA</sup>	0	0 <sup>aA</sup>	0	0 <sup>aA</sup>	0	0 <sup>aA</sup>	0

La presenza di batteri lattici è risultata sporadica e solo su alcuni campioni e in tutti i casi inferiore a 2.0 log UFC/g

In generale non sembra che da un punto di vista microbiologico i trattamenti applicati comportino una riduzione delle di crescita dei microrganismi considerati. Al contrario, in alcuni casi si osserva una maggiore crescita microbica a seguito del trattamento (campione aa per CMT e campione ozaa per lieviti). Per migliorare l'efficacia microbiologica si potrebbero aumentare i tempi di contatto e le concentrazioni a cui l'ozono viene applicato, in letteratura è possibile osservare come l'ozono gassoso risulta molto efficace nel controllo della carica microbica totale e coliformi totali quando applicato su frutta di IV gamma a concentrazioni di 500 mg/L e 900mg/L per la durata di 3 min (Sripong et al., 2022). Un ulteriore miglioramento per il controllo della carica microbica potrebbe essere combinare il trattamento ad ozono gassoso a confezionamento MAP. La combinazione di queste due tecniche permette di ridurre la concentrazione del gas drasticamente (6ppm) rispetto a quella testata in questa tesi ma aumentando il tempo di contatto esponenzialmente (15 h) come riportato da Pinto et al. (2020).

## 5.6 pH

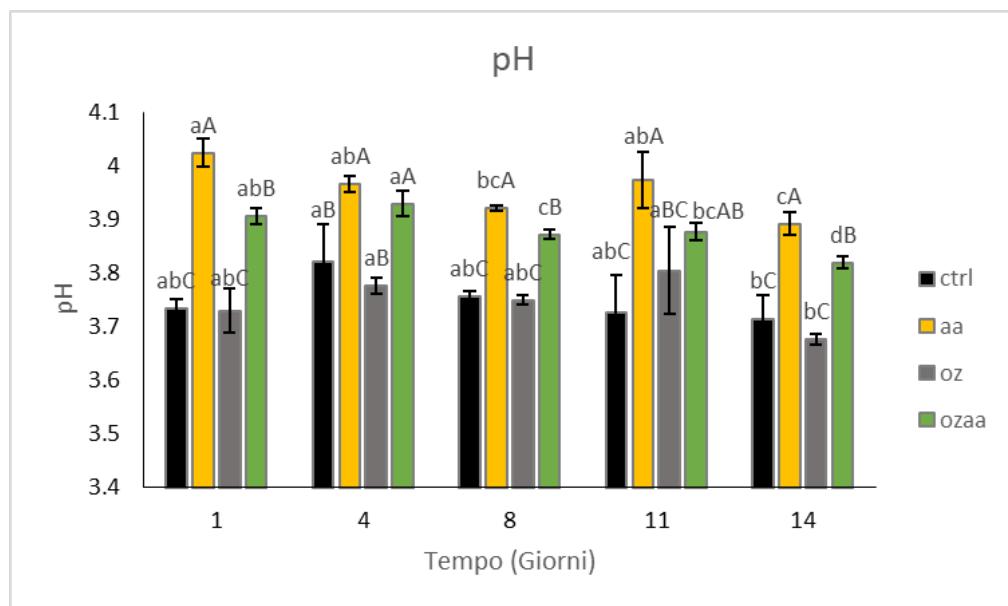


Figura 21: Valori del pH delle mele nei diversi giorni di conservazione: controllo (ctrl), acido ascorbico (aa), ozono (oz), acido ascorbico e ozono (ozaa). Lettere minuscole confrontano lo stesso trattamento durante i giorni di stoccaggio; lettere maiuscole confrontano trattamenti differenti all'interno dello stesso giorno. Lettere uguali indicano assenza di differenze statisticamente significative ( $p>0,05$ ), mentre lettere diverse denotano differenze significative tra le medie.

L'andamento del pH nei diversi trattamenti, riportato in Figura 21, mostra una tendenza complessivamente stabile nel corso dei 14 giorni di conservazione, con variazioni limitate ma statisticamente significative in alcuni punti. È possibile distinguere due cluster principali: *ctrl*–*oz* e *aa*–*ozaa*, che mantengono valori tra loro simili per buona parte del periodo di osservazione.

Al giorno 11 si registra un leggero incremento nel campione trattato con ozono rispetto al controllo, ma tale variazione risulta isolata e non rappresenta una deviazione sistematica. Nel complesso, il trattamento con ozono non ha indotto modifiche significative del pH rispetto al controllo, in accordo con quanto riportato da Kishimoto e Nakamura (2011), i quali non hanno osservato variazioni apprezzabili del pH in sistemi acquosi sottoposti a ozonizzazione.

Altra cosa che risalta della figura 21 è come i campioni **aa** abbiano i valori più alti di pH. Il suo valore resta pressoché stabile, questo è supportato anche dall'analisi statica lungo i giorni di conservazione, che fatta eccezione per il giorno 14 non presenta mai differenze fortemente significative. Valori elevati di pH si osservano anche nel campione **ozaa** che ha un andamento analogo ad *aa* se si guarda alla significatività tra i giorni, ma rimane sempre significativamente diverso da *aa* se si guarda alle differenze nei giorni. I valori elevati di pH in entrambi i campioni sono imputabili all'effetto tampone e stabilizzante

che il CaCO<sub>3</sub> può avere su frutta e ortaggi di IV gamma quando esso è adoperato nelle soluzioni di dipping (Nor et al., 2012). L'effetto tampone del CaCO<sub>3</sub> è utile anche a spiegare le differenze tra i campioni *ozaa* e *oz* dove il pH del primo risulta sensibilmente più alto rispetto al secondo.

Il pH è uno dei fattori ambientali che influenza maggiormente la crescita microbica. I valori misurati in questo caso sono di solito limitanti per la crescita di numeri microorganismi. In particolare, i bassi valori di pH registrati (inferiori a 4.0) risultano sfavorevoli allo sviluppo di batteri lattici, che generalmente non crescono al di sotto di 4,5 (Yang et al., 2018). Analogi effetti sono riscontrabili per i coliformi, la cui crescita ottimale si colloca in un intervallo compreso tra 4,5 e 9,0, coerentemente con le ridotte cariche rilevate (<3 log UFC/g). Le differenze dei valori di pH seppure significative non trovano riscontro con i dati crescita microbica laddove i valori non presentano tendenzialmente differenze significative tra i vari trattamenti presi giorno per giorno.

In sintesi, i risultati indicano che il CaCO<sub>3</sub> presente nella soluzione di dipping ha alzato il pH dei campioni a cui è stato sottoposto. Tuttavia, i valori mantenuti nel range acido contribuiscono alla stabilità microbiologica del prodotto nei confronti dei soli coliformi e batteri lattici, non suggerendo un ruolo sinergico tra pH e trattamenti nel contenimento della carica microbica durante la conservazione.

## 6 Conclusioni

La presente tesi si è proposta di valutare gli effetti di un trattamento con ozono gassoso su mele di IV gamma, condotto in un impianto pilota aziendale.

Dall'analisi dei dati raccolti emerge che i trattamenti effettuati si sono rivelati poco efficaci nel contenimento della carica microbica, nonostante le premesse incoraggianti provenienti dalla letteratura, che ne riportano il potenziale antimicrobico. Malgrado la crescita elevata della carica microbica mesofila totale, questo lavoro riporta come mele a spicchi processate in ambiente aziendale garantiscono qualità microbiologica accettabile fino a all'ottavo giorno di conservazione nonostante non sia stato riscontrato nessun effetto antimicrobico dal trattamento con ozono.

Per quanto riguarda i parametri di qualità chimico-fisica è possibile notare come alcuni di questi siano particolarmente influenzati dai trattamenti: Il colore è risultato significativamente stabilizzato dal dipping in acido ascorbico e carbonato di calcio durante tutto l'arco della shelf-life mentre il metabolismo è risultato rallentato in termini di respirazione e di calore prodotto, anch'esso dall'azione del dipping, con un effetto sinergico dato nella combinazione in ozono.

In sintesi, gli effetti dell'esposizione all'ozono sono difficilmente quantificabili probabilmente a causa di una concentrazione dell'ozono troppo bassa e ai tempi di esposizione troppo brevi. Rimane da chiarire, qualora aumentando questi valori, se l'ozono non possa costituire un pericolo per la salute degli operatori, ed eventualmente di quali misure di sicurezza sia necessario disporre.

Si auspica, pertanto, che ricerche future approfondiscano l'applicazione di questa tecnologia individuando combinazioni di tempi e concentrazioni più idonee, tali da soddisfare le esigenze qualitative e operative tipiche dell'industria alimentare.

## Bibliografía

- Abadias, M., Canamas, T. P., Asensio, A., Anguera, M., & Viñas, I. (2006). Microbial quality of commercial 'Golden Delicious' apples throughout production and shelf-life in Lleida (Catalonia, Spain). *International Journal of Food Microbiology*, 108(3), 404-409.
- Abadias, M., Usall, J., Alegre, I., Torres, R., & Viñas, I. (2009). Fate of Escherichia coli in apple and reduction of its growth using the postharvest biocontrol agent Candida's sake CPA-1. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(9), 1526-1533.
- Adaskaveg, J. E., H. F€ orester, and N. F. Sommer. 2002. Principles of postharvest pathology and management of decays of edible horticultural crops. In: Kader, A. A. (Ed.), Postharvest Technology of Horticultural Crops, 3311. University of California, ANR Publisher, 163–95.
- Ahvenainen, R. (1996). New approaches in improving the shelf life of minimally processed fruit and vegetables. *Trends in Food Science and Technology*, 7(6), 179–197. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)10022-4](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10022-4)
- Alegre, I., Abadias, M., Anguera, M., Usall, J., & Viñas, I. (2010). Fate of Escherichia coli O157: H7, Salmonella and Listeria innocua on minimally processed peaches under different storage conditions. *Food Microbiology*, 27(7), 862-868.
- Alamri, M. S., Qasem, A. A. A., Mohamed, A. A., Hussain, S., Ibraheem, M. A., Shamlan, G., Alqah, H. A., & Qasha, A. S. (2021). Food packaging's materials: A food safety perspective. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(8), 4490-4499. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.04.047>
- Alwi, N. A., & Ali, A. (2014). Reduction of Escherichia coli O157, Listeria monocytogenes and Salmonella enterica sv. Typhimurium populations on fresh-cut bell pepper using gaseous ozone. *Food Control*, 46, 304-311.
- Anese, M., Berardinelli, A., & Nicoli, M. C. (2017). Influence of edible coating and modified atmosphere packaging on quality and microbial stability of fresh-cut apples. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(4), 1017-1025. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13306>
- Artés-Hernández, Francisco & Martínez-Hernández, Ginés & Aguayo, Encarna & Gómez, Perla & Artés, Francisco. (2017). Fresh-cut Fruit and vegetables: Emerging eco-friendly techniques for sanitation and preserving safety (OPEN ACCESS). 10.5772/intechopen.69476.
- Aslam, R., Alam, M. S., & Saeed, P. A. (2020). Sanitization potential of ozone and its role in postharvest quality management of fruits and vegetables. *Food Engineering Reviews*, 12, 48-67.
- Azarakhsh, N., Osman, A., Ghazali, H. M., Tan, C. P., & Mohd Adzahan, N. (2014). Lemongrass essential oil incorporated into alginate-based edible coating for shelf-life extension and quality retention of fresh-cut pineapple. *Postharvest Biology and Technology*, 88, 1–7.
- Balbinot Filho, C. A., & Borges, C. D. (2020). Effects of UV-C radiation on minimally processed lettuce and apple: A review. *Brazilian Journal of Food Technology*, 23, e2018321. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.32118>
- Bablon, G., Bellamy, W. D., Billen, G., Bourbigot, M. M., Daniel, B., Erb, F., ... & Ventresque, C. (1991). Practical Application of Ozone: Principles and Case Studies. *Ozone in Water Treatment: Application and Engineering*, 569.

- Baldwin, E. A., & Bai, J. (2011). *Physiology of fresh-cut fruits and vegetables* (pp. 87-114). Boca Ratón, FL., CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Barba, F. J., Mariutti, L. R., Bragagnolo, N., Mercadante, A. Z., Barbosa-Cánovas, G. V., & Orlien, V. (2017). Bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables after thermal and nonthermal processing. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 195-206.
- Bartz, Jerry. (2010). Fresh-Cut Vegetables and Fruits. 10.1002/9780470650837.ch6
- Liu-Beckles, D. M., Kader, A., Reid, M. S., Jiang, C. Z., & Cantwell, M. I. (2025). *Postharvest Technology of Horticultural Crops 4th Ed: Vegetable Crops, Herbs, and Flowers* (Vol. 21661). UCANR Publications.
- Benarde MA, Snow WB, Olivieri VP, Davidson B. Kinetics and mechanism of bacterial disinfection by chlorine dioxide. *Appl Microbiol*. 1967 Mar;15(2):257-65. doi: 10.1128/am.15.2.257-265.1967. PMID: 5339839; PMCID: PMC546889.
- Beltrán, D., Selma, M. V., Tudela, J. A., & Gil, M. I. (2005). Effect of different sanitizers on microbial and sensory quality of fresh-cut potato strips stored under modified atmosphere or vacuum packaging. *Postharvest Biology and Technology*, 37(1), 37-46. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2005.02.010>
- Bessemans, N., Verboven, P., Verlinden, B., Janssens, M., Hertog, M., & Nicolai, B. (2020). Apparent respiratory quotient observed in headspace of static respirometers underestimates cellular respiratory quotient of pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 162, 111104. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.111104>.
- Beuchat, L. R. (2002). Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection*, 4(4), 413-423. [https://doi.org/10.1016/s1286-4579\(02\)01555-1](https://doi.org/10.1016/s1286-4579(02)01555-1)
- Botondi, R., Barone, M., & Grasso, C. (2021). A Review into the Effectiveness of Ozone Technology for Improving the Safety and Preserving the Quality of Fresh-Cut Fruits and Vegetables. *Foods*, 10(4), 748.
- Brodowska, A. J., Nowak, A., & Śmigielski, K. (2018). Ozone in the food industry: Principles of ozone treatment, mechanisms of action, and applications: An overview. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(13), 2176-2201.
- Brodowska, A. J., Śmigielski, K., Nowak, A., Czyżowska, A., & Otlewska, A. (2015). The impact of ozone treatment in dynamic bed parameters on changes in biologically active substances of juniper berries. *PLoS One*, 10(12), e0144855.
- Buluc, O., & Koyuncu, M. A. (2020). Effects of Intermittent Ozone Treatment on Postharvest Quality and Storage Life of Pomegranate. *Ozone: Science & Engineering*, 43(5), 427-435. <https://doi.org/10.1080/01919512.2020.1816449>
- Chen, L., Chen, B., Chu, L., Chen, L., Xie, L., Deng, Y., & Jiang, Y. (2025). The storage quality and transcriptome analysis of fresh-cut taro by L-ascorbic acid combined with ultrasonic treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 112, 107178. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.107178>
- Chepngeno, J., Owino, W., Kinyuru, J., & Nenguwo, N. (2016). Effect of Calcium Chloride and Hydrocooling on Postharvest Quality of Selected Vegetables. *Journal of Field Robotics*, 5, 23-40. <https://doi.org/10.5539/jfr.v5n2p23>.
- Chitarra, M. I., Silva, V. L., & Jacomino, A. P. (2019). Effect of modified atmosphere packaging on the shelf life of fresh-cut Anjou pears and apples. *Food Packaging and Shelf Life*, 20, 100314. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2019.100314>

- Codex Alimentarius Commission. STANDARD FOR APPLES (CODEX STAN 299-2010). *2019-11-19*. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en>.
- Cortellino, G., Gobbi, S., Bianchi, G., & Rizzolo, A. (2015). Modified atmosphere packaging for shelf-life extension of fresh-cut apples. *Trends in Food Science & Technology*, 46(2), 320-330
- Cortellino, G., Mencarelli, F., & Romani, S. (2022). Advances in apple packaging: a review. *Foods*, 11(4), 1234. <https://doi.org/10.3390/foods11041234>
- de Alencar, E. R., Faroni, L. R. D. A., Soares, N. D. F. F., da Silva, W. A., & da Silva Carvalho, M. C. (2012). Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(4), 899-905.
- De Corato, U. (2019). Improving the shelf-life and quality of fresh and minimally processed fruits and vegetables for a modern food industry: A comprehensive critical review from the traditional technologies into the most promising advancements. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(6), 940-975 <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1553025>
- Deng, L., Yuan, S., Xu, R., Zhou, J., Golding, J., & Wang, B. (2025). Respiratory Characteristics and Fermentation Threshold of Fresh-Cut Strawberry and Dragon Fruit Under Closed Conditions. *Journal of Food Processing and Preservation*. <https://doi.org/10.1155/jfpp/2833564>.
- Devi, L. S., Jaiswal, A. K., & Jaiswal, S. (2024). Lipid incorporated biopolymer based edible films and coatings in food packaging: A review. *Current Research in Food Science*, 8, 100720. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2024.100720>
- Di Maio, L., Scarfato, P., Galdi, M. R., & Incarnato, L. (2015). Development and oxygen scavenging performance of three-layer active PET films for food packaging. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(7).
- Dilmaçunal, T., Erbaş, D., Koyuncu, M. A., Onursal, C. E., & Kuleaşan, H. (2014). Efficacy of some antimicrobial treatments compared to sodium hypochlorite on physical, physiological and microbial quality of fresh-cut melons (*Cucumis melo* L. var. *inodorus*). *LWT - Food Science and Technology*, 59(2, Part 1), 1146-1151. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.033>
- Du, Y., Tian, Q., Li, G., Yi, J., Hu, X., & Jiang, Y. (2024). Advanced application of slightly acidic electrolyzed water for fresh-cut fruits and vegetables preservation. *Food Research International*, 195, 114996. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.114996>
- Espín, J. C., García-Ruiz, P. A., Tudela, J., Varón, R., & García-Cánovas, F. (1998). Monophenolase and diphenolase reaction mechanisms of apple and pear polyphenol oxidases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(8), 2968–2975. <https://doi.org/10.1021/jf971045v>
- Fang, T., Yao, J., Duan, Y., Zhong, Y., Zhao, Y., & Lin, Q. (2022). Phytic Acid Treatment Inhibits Browning and Lignification to Promote the Quality of Fresh-Cut Apples during Storage. *Foods*, 11. <https://doi.org/10.3390/foods11101470>.
- Faour-Klingbeil, D., Murtada, M., Kuri, V., & Todd, E. (2016). Understanding the routes of contamination of ready-to-eat vegetables in the Middle East. *Food Control*, 62, 125-133. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.024>.
- Fito, P., & Chiralt, A. (2000). Vacuum impregnation of plant tissues. In G. V. Barbosa-Cánovas, M. Pilar Cano, & V. Welti-Chanes (Eds.), *Design of minimal processing technologies for fruit and vegetables* (pp. 189-205). CRC Press.

- Francis, G. A., Thomas, C., & O'Beirne, D. (1999). The microbiological safety of minimally processed vegetables. *International Journal of Food Science & Technology*, 34(1), 1–22. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.1999.00253.x>
- Fu, Y., Zhang, K., Wang, N., & Du, J. (2007). Effects of aqueous chlorine dioxide treatment on polyphenol oxidases from Golden Delicious apple. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(4), 1362–1368. <https://doi.org/10.1021/jf062706d>
- Galotto, M. J., Anfossi, S. A., & Guarda, A. (2009). Oxygen absorption kinetics of sheets and films containing a commercial iron-based oxygen scavenger. *Food Science and Technology International*, 15(2), 159–168. <https://doi.org/10.1177/1082013208101024>
- Gao, J., Zhu, Y., & Luo, F. (2018). Effects of ethanol combined with ascorbic acid and packaging on the inhibition of browning and microbial growth in fresh-cut Chinese yam. *Food Science & Nutrition*, 6, 998 - 1005. <https://doi.org/10.1002/fsn3.647>.
- Gao, Q., Yang, Z., Bi, B., & He, J. (2023). Effects of slightly acidic electrolyzed water on the quality of fresh-cut apple. *Foods*, 12(1), 39. <https://doi.org/10.3390/foods12010039>
- Garcia Loredo, A. B., Guerrero, S. N., & Alzamora, S. M. (2014). Relationships between texture and rheological properties in blanched apple slices (var. Granny Smith) studied by partial least squares regression. *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 191–203. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1259-0>
- Gherardi, R., Becerril, R., Nerin, C., & Bosetti, O. (2016). Development of a multilayer antimicrobial packaging material for tomato puree using an innovative technology. *LWT - Food Science and Technology*, 72, 361-367. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.063>
- Gil, M. I., Conesa, M. Á., & Artes, F. (2012). Quality changes in fresh cut apples as affected by modified atmosphere packaging. *Postharvest Biology and Technology*, 70, 45–53. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.10.004>
- Gómez, P. L., Alzamora, S. M., Castro, M. A., & Salvatori, D. M. (2010). Effect of ultraviolet-C light dose on quality of cut-apple: Microorganism, color and compression behavior. *Journal of Food Engineering*, 98(1), 60-70. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.12.008>
- Genta, M. L., & Heluane, H. (2001). Biochemical identification of most frequently encountered bacteria that cause food spoilage. In J. F. T. Spencer & A. L. Ragout de Spencer (Eds.), *Food microbiology protocols* (pp. 11-24). Humana Press. <https://doi.org/10.1385/1-59259-135-4:11>
- González-Aguilar, G. A., Celis, J., Sotelo Mundo, R. R., De La Rosa, L. A., Rodrigo García, J., & Álvarez Parrilla, E. (2008). Physiological and biochemical changes of different fresh cut mango cultivars stored at 5 °C. *International Journal of Food Science & Technology*, 43(1), 91–101. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01407.x>
- Graça, A., Santo, D., Esteves, E., Nunes, C., Abadias, M., & Quintas, C. (2015). Evaluation of microbial quality and yeast diversity in fresh-cut apple. *Food Microbiology*, 51, 179-185. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.06.003>
- Gross, K. C., Wang, C. Y., & Saltveit, M. (Eds.). (2016). *The commercial storage of fruits, vegetables, and florist and nursery stocks* (Agriculture Handbook No. 66). United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. <https://www.ars.usda.gov/is/np/CommercialStorage/CommercialStorage.pdf>

- Guan, J., Lacombe, A., Rane, B., Tang, J., Sablani, S., & Wu, V. C. (2023). Efficacy of gaseous chlorine dioxide (ClO<sub>2</sub>) treatment on quality parameters and against *Listeria innocua* growth on apple surfaces under controlled atmosphere (CA) storage condition and post-treatment quality analysis. *Food Control*, 152, 109791. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109791>
- Gulzar, S. M., Zhang, B., & Sun, D. W. (2015). Modified atmosphere packaging and the fresh-cut revolution. *Food Engineering Reviews*, 7(3), 299-313. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9116-8>
- Guzel-Seydim, Z. B., Greene, A. K., & Seydim, A. C. (2004). Use of ozone in the food industry. *LWT-Food Science and technology*, 37(4), 453-460.
- Hodges, D. M., & Toivonen, P. M. (2008). Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. *Postharvest Biology and Technology*, 48(2), 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.10.016>
- Hoigné, J. (1998). Chemistry of aqueous ozone and transformation of pollutants by ozonation and advanced oxidation processes. In J. Hrubec (Ed.), *Quality and treatment of drinking water II* (pp. 83–141)
- Hrazdina, G., Wagner, G.J., 1985. Compartmentation of plant phenolic compounds: Sites of synthesis and accumulation. *Annu. Proc. Phytochem. Soc. Eur.* 25, 133–199
- Fresh-cut Produce Association. (2003). Retrieved from <http://www.fresh-cuts.org/fcf-html>
- Incardona, A., Amodio, M. L., Derossi, A., & Colelli, G. (2025). Investigating the impact of the degree of sharpness on the microstructure of fresh-cut apples. *Foods*, 14(4), 636. <https://doi.org/10.3390/foods14040636>
- Kader, A. A. (1986). Biochemical and physiological basis for effects of controlled and modified atmospheres on fruits and vegetables. *Food Technology*, 40(5), 99-104.
- Karafyllaki, D., Narwojsz, A., Kurp, L., & Sawicki, T. (2023). Effects of different processing methods on the polyphenolic compounds profile and the antioxidant and anti-glycaemic properties of horseradish roots (*Armoracia rusticana*). *European Food Research and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s00217-023-04248-3>
- Kishimoto, N., & Nakamura, E. (2011). Effects of Ozone-Gas Bubble Size and pH on Ozone/UV Treatment. *Ozone: Science & Engineering*, 33(5), 396–402. <https://doi.org/10.1080/01919512.2011.603657>
- Krishnamurthy, K., Tewari, J. C., Irudayaraj, J., & Demirci, A. (2008). Microscopic and spectroscopic evaluation of inactivation of *Staphylococcus aureus* by pulsed UV light and infrared heating. *Food and Bioprocess Technology*, 3(1), 93.
- Kruijf, N. D., Beest, M. V., Rijk, R., Sipiläinen-Malm, T., Losada, P. P., & Meulenaer, B. D. (2002). Active and intelligent packaging: applications and regulatory aspects. *Food Additives & Contaminants*, 19(S1), 144-162. <https://doi.org/10.1080/02652030110117218>
- Kumar, P., Sethi, S., Sharma, R.R. *et al.* Nutritional characterization of apple as a function of genotype. *J Food Sci Technol* 55, 2729–2738 (2018). <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3195-x>
- Lamikanra, O., & Watson, M. (2006). Effect of Calcium Treatment Temperature on Fresh-cut Cantaloupe Melon during Storage. *Journal of Food Science*, 69, 23. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb10990.x>.
- Lata B, Tomala K (2007) Relationship between apple peel and the whole fruit antioxidant content: year and cultivar variation. *J Agric Food Chem* 55:663–671

- Lee, C. Y., & Whitaker, J. R. (Eds.). (1995). *Enzymatic browning and its prevention* (ACS Symposium Series). American Chemical Society. pp. 2-7.
- Li, X., Luo, Y., & Wang, J. (2014). Effects of modified atmosphere packaging on postharvest quality of fresh-cut Golden Delicious apples. *Journal of Food Science and Technology*, 51(7), 1224-1232. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0426-3>
- Li, H., Tung, K. K., Paul, D. R., Freeman, B. D., Stewart, M. E., & Jenkins, J. C. (2012). Characterization of oxygen scavenging films based on 1, 4-polybutadiene. *Industrial & engineering chemistry research*, 51(21), 7138-7145.
- Liu, C., Ma, T., Hu, W., Tian, M., & Sun, L. (2016). Effects of aqueous ozone treatments on microbial load reduction and shelf-life extension of fresh-cut apple. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(5), 1099–1109. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13078>
- Liu, C., Chen, C., Zhang, Y., Jiang, A., & Hu, W. (2021). Aqueous ozone treatment inhibited degradation of cellwall polysaccharides in fresh-cut apple during cold storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 67, 102550. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102550>
- Luo, Y., Lu, S., Zhou, B., & Feng, H. (2011). Dual effectiveness of sodium chlorite for enzymatic browning inhibition and microbial inactivation on fresh-cut apples. *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), 1621–1625. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.02.015>
- Mahmoud, B. S. M., & Linton, R. H. (2008). Inactivation kinetics of inoculated Escherichia coli O157: H7 and *Salmonella enterica* on lettuce by chlorine dioxide gas. *Food Microbiology*, 25(2), 244-252. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.08.009>
- Manousaridis, G., Nerantzaki, A., Paleologos, E. K., Tsotsias, A., Savvaidis, I. N., & Kontominas, M. G. (2005). Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels. *Food Microbiology*, 22(1), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.05.005>
- Manzocco, L., Comuzzo, P., Scampicchio, M., & Nicoli, M. C. (2017). Effect of pulsed light on selected properties of cut apple. *Italian Journal of Food Science*, 29(3), 317-328. <https://doi.org/10.14674/1120-1770/ijfs.v29i3.750>.
- Mao, L., Lu, F., & Wang, G. (2007). Application of 1-methylcyclopropene reduces wound responses and maintains quality in fresh-cut apple. *Asia Pac. J. Clin. Nutr*, 16(1), 111-115.
- Martínez-Romero, D., Bailén, G., Serrano, M., Guillén, F., Valverde, J. M., Zapata, P., ... & Valero, D. (2007). Tools to maintain postharvest fruit and vegetable quality through the inhibition of ethylene action: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(6), 543-560. <https://doi.org/10.1080/10408390600846390>
- Marquez, G. R., Di Pierro, P., Mariniello, L., Esposito, M., Giosafatto, C. V., & Porta, R. (2017). Fresh-cut fruit and vegetable coatings by transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin edible films. *LWT - Food Science and Technology*, 75, 124-130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.017>
- Mayer, A. M. (1986). Polyphenol oxidases in plants-recent progress. *Phytochemistry*, 26(1), 11-20. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(86\)80057-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(86)80057-0)
- Patil, S., & Bourke, P. (2012). Ozone processing of fluid foods. In *Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods* (pp. 225-261). Academic Press.

- MCLELLAN, M.R., LIND, L.R. and KIME, R.W. (1995), HUE ANGLE DETERMINATIONS AND STATISTICAL ANALYSIS FOR MULTIQUADRANT HUNTER L,a,b DATA. *Journal of Food Quality*, 18: 235-240. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4557.1995.tb00377.x>
- Mendoza, I. C., Luna, E. O., Pozo, M. D., Vásquez, M. V., Montoya, D. C., Moran, G. C., Romero, L. G., Yépez, X., Salazar, R., Romero-Peña, M., & León, J. C. (2022). Conventional and non-conventional disinfection methods to prevent microbial contamination in minimally processed fruits and vegetables. *Lebensmittel-Wissenschaft + [i.e. und] Technologie. Food science + technology. Science + technologie alimentaire*, 165, 113714. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113714>
- Mavroudis, N. E., Gekas, V., & Sjöholm, I. (1998). Osmotic dehydration of apple: Effects of agitation and raw material characteristics. *Journal of Food Engineering*, 35(2), 191-209. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(98\)00015-6\[1\]](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(98)00015-6[1])
- Mihalca, V., Kerezsi, A. D., Weber, A., Gruber-Traub, C., Schmucker, J., Vodnar, D. C., Dulf, F. V., Socaci, S. A., Fărcas, A., Mureşan, C. I., Suharoschi, R., & Pop, O. L. (2021). Protein-Based Films and Coatings for Food Industry Applications. *Polymers*, 13(5), 769. <https://doi.org/10.3390/polym13050769>
- Milićević, D. R., Škrinjar, M., & Baltić, T. (2010). Real and perceived risks for mycotoxin contamination in foods and feeds: Challenges for food safety control. *Toxins*, 2(4), 572-592. <https://doi.org/10.3390/toxins2040572>
- Miller, F. A., Silva, C. L. M., & Brandão, T. R. S. (2013). A review on ozone-based treatments for fruit and vegetables preservation. *Food Engineering Reviews*, 5(1), 77–106. <https://doi.org/10.1007/s12393-013-9064-5>
- Moayednia, N., Ehsani, M. R., Emamdjomeh, Z., Asadi, M. M., Mizani, M., & Mazaheri, A. F. (2009). The effect of sodium alginate concentrations on viability of immobilized *Lactobacillus acidophilus* in fruit alginate coating during refrigerator storage. *Journal of Food Science and Technology*, 46(4), 365-372. <https://doi.org/10.1007/s13197-009-0001-6>
- Mu, B., Xue, J., Zhang, S., & Li, Z. (2022). Effects of the Use of Different Temperature and Calcium Chloride Treatments during Storage on the Quality of Fresh-Cut “Xuebai” Cauliflowers. *Foods*, 11(3), 442. <https://doi.org/10.3390/foods11030442>
- Naidu, A. S. (Ed.). (2000). *Natural food antimicrobial systems*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780367801779>
- Nogales, C. G., Ferreira, M. B., & Marques, J. L. L. (2014). Comparison of the antimicrobial activity of three different concentrations of aqueous ozone on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* – in vitro study. *Revista Española de Ozonoterapia*, 4(1), 9-15
- Nor, M., & Faradilla, N. (2012). Effect of dipping treatment on physicochemical and keeping quality of fresh-cut star fruit (*Averrhoa carambola* L.) / Nur Faradilla Mohd Nor. .
- Oey, M. L., Vanstreels, E., De Baerdemaeker, J., Tijskens, E., Ramon, H., Hertog, M. L. A. T. M., & Nicolaï, B. (2007). Effect of turgor on micromechanical and structural properties of apple tissue: A quantitative analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 44(3), 240-247. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.001>
- Olivas, G., Maya, I., Espino-Díaz, J., Molina-Corral, J., Olivas-Dorantes, C., & Sepulveda, D. (2012). Metabolization of linoleic acid and isoleucine for aroma production in fresh-cut ‘Golden Delicious’ apples

using alginate coatings as the holding matrix. Presented at the Institute of Food Technologists IFT Annual Meeting, Las Vegas, NV, USA.

- Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Bellos, O. (2008). Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. *Postharvest Biology and Technology*, 50(1), 87–94.
- OpenAI. (2025). *Diagramma di flusso del processo produttivo delle mele di IV gamma* [Immagine generata da intelligenza artificiale]. ChatGPT. <https://chat.openai.com/>
- Orozco-Cárdenas, M. L., Narváez-Vásquez, J., & Ryan, C. A. (2001). Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin, and methyl jasmonate. *The Plant Cell*, 13(1), 179-191. <https://doi.org/10.1105/tpc.13.1.179>
- Palou, E., López-Malo, A., Barbosa-Cánovas, G. V., Welti-Chanes, J., & Swanson, B. G. (1999). Polyphenol oxidase activity and color changes during storage of minimally processed avocados treated with antibrowning agents. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 32(6), 479–486. <https://doi.org/10.1006/fstl.1999.0580>
- Pan, M., Omar, H. M., & Rohani, S. (2017). Application of nanosize zeolite molecular sieves for medical oxygen concentration. *Nanomaterials*, 7(8), 195. <https://doi.org/10.3390/nano7080195>
- Panarese, V., Laghi, L., Pisi, A., Tylewicz, U., Dalla Rosa, M., & Rocculi, P. (2012). Effect of osmotic dehydration on *Actinidia deliciosa* kiwifruit: A combined NMR and ultrastructural study. *Food Chemistry*, 132(4), 1706-1712. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.12.034>
- Persic, M., Mikulic-Petkovsek, M., Slatnar, A., & Veberic, R. (2017). Chemical composition of apple fruit, juice and pomace and the correlation between phenolic content, enzymatic activity and browning. *LWT - Food Science and Technology*, 82, 23-31. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.027>
- Perry, R. H., Green, D. W. and Maloney, J. O. (1997). Perry's Chemical Engineers, Handbook, 8th ed. New York: McGrawHill.
- Pillai, A. R. S., Eapen, A. S., Zhang, W., & Roy, S. (2024). Polysaccharide-based edible biopolymer-based coatings for fruit preservation: A review. *Foods*, 13(10), 1529. <https://doi.org/10.3390/foods13101529>
- Plesoianu, A. M., Nour, V., Tutulescu, F., & Ionica, M. E. (2022). Quality of fresh-cut apples as affected by dip wash treatments with organic acids and acidic electrolyzed water. *Food Science and Technology (Campinas)*, 42, e62620. <https://doi.org/10.1590/fst.62620>
- Ponce, A., Roura, S., del Valle, C., & Moreira, M. (2008). Antimicrobial and antioxidant activities of edible coatings enriched with natural plant extracts: in vitro and in vivo studies. *Postharvest Biology and Technology*, 49(2), 294–300. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.12.008>
- Praeger, U., Herppich, W. B., & Hassenberg, K. (2017). Aqueous chlorine dioxide treatment of horticultural produce: Effects on microbial safety and produce quality—A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(2), 318–333. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1169157>
- Putnik, P., Kovačević, D., Herceg, K., & Levaj, B. (2017). Influence of antibrowning solutions, air exposure, and ultrasound on color changes in fresh-cut apples during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, 1-12. <https://doi.org/10.1111/JFPP.13288>.
- Putnik, P., Roohinejad, S., Greiner, R., Granato, D., Bekhit, A. E. D. A., & Kovačević, D. B. (2017). Prediction and modeling of microbial growth in minimally processed fresh-cut apples packaged in a modified atmosphere: A review. *Food Control*, 80, 411-419. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.05.018>

- Queiroz, C., Mendes Lopes, M. L., Fialho, E., & Valente-Mesquita, V. L. (2008). Polyphenol Oxidase: Characteristics and Mechanisms of Browning Control. *Food Reviews International*, 24(4), 361–375. <https://doi.org/10.1080/87559120802089332>
- Rangel, K., Cabral, F. O., Lechuga, G. C., Carvalho, J. P., Villas-Bôas, M. H., Midlej, V., & De-Simone, S. G. (2021). Detrimental effect of ozone on pathogenic bacteria. *Microorganisms*, 10(1), 40. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10010040>
- Raybaudi-Massilia, R. M., Mosqueda-Melgar, J., & Martín-Belloso, O. (2008). Edible alginate-based coating as carrier of antimicrobials to improve shelf-life and safety of fresh-cut melon. *International Journal of Food Microbiology*, 121(3), 313–327. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.010>
- Regolamento (CE) n. 450/2009 della Commissione, del 29 maggio 2009, concernente i materiali attivi e intelligenti destinati a venire a contatto con i prodotti alimentari, Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea L 135, 30.5.2009, p. 8.
- REGOLAMENTO (UE) n. 528/2012 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 22 maggio 2012
- REGOLAMENTO(CE) n. 2073/2005 della Commissione del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari, in GU L 338 del 22.12.2005, p. 1.
- REGOLAMENTO (UE) 2020/749 DELLA COMMISSIONE del 4 giugno 2020
- REGOLAMENTO DI ESECUZIONE (UE) 2023/1078 DELLA COMMISSIONE del 2 giugno 2023
- Remorini, D., Landi, M., Tardelli, F., Lugani, A., Massai, R., Graziani, G., ... & Guidi, L. (2015). Effect of chlorine dioxide and ascorbic acid on enzymatic browning and shelf life of fresh-cut Red Delicious and Granny Smith apples. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2925–2934. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12544>
- Rocculi, P., Nobile, M., Romani, S., Baiano, A., & Rosa, M. (2006). Use of a simple mathematical model to evaluate dipping and MAP effects on aerobic respiration of minimally processed apples. *Journal of Food Engineering*, 76, 334–340. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.034>.
- Rocculi, P., Panarese, V., Tylewicz, U., Santagapita, P., Coccia, E., Galindo, F., Romani, S., & Rosa, M. (2012). The potential role of isothermal calorimetry in studies of the stability of fresh-cut fruits. *Lwt - Food Science and Technology*, 49, 320–323. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.020>.
- Rojas-Graü, M. A., Raybaudi-Massilia, R., Soliva-Fortuny, R., Avena-Bustillos, R., McHugh, T., & Martín-Belloso, O. (2007). Apple puree–alginate edible coating as carrier of antimicrobial agents to prolong shelf-life of fresh-cut apples. *Postharvest Biology and Technology*, 45(2), 254–264. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.017>
- Rojas-Grau, M. A., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2009). The use of packaging techniques to maintain freshness in fresh-cut fruits and vegetables: A review. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(4), 875–889. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01911.x>
- Robles-Sánchez, R. M., Rojas-Graü, M. A., Odriozola-Serrano, I., González-Aguilar, G. A., & Martín-Belloso, O. (2013). Influence of alginate-based edible coating as carrier of antibrowning agents on bioactive compounds and antioxidant activity in fresh-cut Kent mangoes. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.021>

- Ryan, C. A. (2000). The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1477(1-2), 112–121. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(99\)00269-1](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(99)00269-1)
- Şahin, U., & Öztürk, H. K. (2016). Effects of pulsed vacuum osmotic dehydration (PVOD) on drying kinetics of figs (*Ficus carica* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36, 104-111. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.06.003>
- Sahu, G., Paradkar, V., & Kumar, R. (2019). Effect of anti-browning solutions on quality of fresh-cut apple slice. *International Journal of Current Research*, 7, 602-607.3
- Sandhya. (2010). Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs. *LWT - Food Science and Technology*, 43(3), 381–392. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.05.018>
- Saucedo-Pompa, S., Rojas-Molina, R., Aguilera-Carbó, A. F., Saenz-Galindo, A., Garza, H. L., Jasso-Cantú, D., & Aguilar, C. N. (2009). Edible film based on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado. *Food Research International*, 42(4), 511–515. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.12.006>
- Savi, G. D., & Scussel, V. M. (2014). Effects of ozone gas exposure on toxigenic fungi species from *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium* genera. *Ozone: Science & Engineering*, 36(2), 144-152. <https://doi.org/10.1080/01919512.2013.846824>
- Shynkaryk, M. V., Pyatkovskyy, T., Mohamed, H. M., Yousef, A. E., & Sastry, S. K. (2015). Physics of fresh produce safety: role of diffusion and tissue reaction in sanitization of leafy green vegetables with liquid and gaseous ozone-based sanitizers. *Journal of Food Protection*, 78(12), 2108-2116. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-290>
- Silveira Alexandre, A. C., Ferreira Gomes, B. A., Duarte, G. N., Piva, S. F., Barros Zauza, S., & de Barros Vilas Boas, E. V. (2022). Recent advances in processing and preservation of minimally processed fruits and vegetables: A review – Part 1: Fundamentals and chemical methods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(8), e16757. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16757>
- Sitoé, E. D. P. E., Faroni, L. R. D. A., Lima, C. M. G., Leite, N. N., Moraes, R. A., Pacheco, F. C., ... & Rocha, R. A. D. (2025). Exploiting ozone for post-harvest preservation of fruits and vegetables: Application techniques, quality effects, and regulatory frameworks. *Food Reviews International*, 1-32. <https://doi.org/10.1080/87559129.2025.XXXXXXX>
- Smet, C., Baka, M., Steen, L., Fraeye, I., Walsh, J., Valdramidis, V., & Impe, J. (2019). Combined effect of cold atmospheric plasma, intrinsic and extrinsic factors on the microbial behavior in/on (food) model systems during storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.05.016>.
- Soares, C. D. F., de Luca Sarantópolous, C. I. G., & Kluge, R. A. (2018). Passive modified atmosphere affects the quality of minimally processed escarole. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(9), e13724. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13724>
- Soliva-Fortuny, R. C., & Martín-Belloso, O. (2003). New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 14(9), 341-353. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(03\)00054-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(03)00054-2)

- Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2020). Fresh-cut fruits: Apples and pears. In Controlled and Modified Atmospheres for Fresh and Fresh-Cut Produce (pp. 487-494). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804599-2.00037-5>
- Sripong, K., Uthairatanakij, A., & Jitareerat, P. (2022). Impact of gaseous ozone on microbial contamination and quality of fresh-cut durian. *Scientia Horticulturae*. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110799>.
- -Subhashree, S., Sunoj, S., Xue, J., & Bora, G. (2017). Quantification of browning in apples using colour and textural features by image analysis. *Food Quality and Safety*, 1, 221-226. <https://doi.org/10.1093/FQSAFE/FYX021>.
- Sun, X., Baldwin, E., & Bai, J. (2019). Applications of gaseous chlorine dioxide on postharvest handling and storage of fruits and vegetables-A review. *Food Control*, 95, 18-26. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.036>
- Tachikawa, M., Yamanaka, K., & Nakamuro, K. (2009). Studies on the disinfection and removal of biofilms by ozone water using an artificial microbial biofilm system. *Ozone: Science & Engineering*, 31(1), 3-9. <https://doi.org/10.1080/01919510802586566>
- Tapia, M., Rojas Graü, M. A., Rodríguez, F., Ramírez, J., Carmona, A., & Martín-Belloso, O. (2007). Alginate and gellan based edible films for probiotic coatings on fresh cut fruits. *Journal of Food Science*, 72(4), 190–196. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00318.x>
- Tappi, S., Gozzi, G., Vannini, L., Berardinelli, A., Romani, S., Ragni, L., & Rocculi, P. (2016). Cold plasma treatment for fresh-cut melon stabilization. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 225-233.
- Tappi, S., Velickova, E., Mannozzi, C., Tylewicz, U., Laghi, L., & Rocculi, P. (2022). Multi-Analytical Approach to Study Fresh-Cut Apples Vacuum Impregnated with Different Solutions. *Foods*, 11. <https://doi.org/10.3390/foods11030488>.
- Teixido, N., Usall, J., & Vinas, I. (1999). Efficacy of preharvest and postharvest Candida's sake biocontrol treatments to prevent blue mould on apples during cold storage. *International Journal of Food Microbiology*, 50(3), 203-210. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(99\)00105-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(99)00105-1)
- Thakur, R. J., Shaikh, H., Gat, Y., & Waghmare, R. B. (2019). Effect of calcium chloride extracted from eggshell in maintaining quality of selected fresh-cut fruits. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 8, 27-36. <https://doi.org/10.1007/s40093-019-0260-z>
- Toivonen, P. M. A., & Brummell, D. (2008). Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*, 48, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.09.009>
- Tokala, V., Singh, Z., & Kyaw, P. (2020). Postharvest fruit quality of apple influenced by ethylene antagonist fumigation and ozonized cold storage. *Food chemistry*, 341 Pt 2, 128293. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128293>.
- Tzortzakis, N., & Chrysargyris, A. (2016). Postharvest ozone application for the preservation of fruits and vegetables. *Food Reviews International*, 33(3), 270–315. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1175015>
- Ullmann's Encyclopedia. (2002).
- Urban, L., Charles, F., de Miranda, M. R. A., & Aarrouf, J. (2016). Understanding the physiological effects of UV-C light and exploiting its agronomic potential before and after harvest. *Plant Physiology and Biochemistry*, 105, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.04.005>

- Viña, S. Z., Mugridge, A., García, M. A., Ferreyra, R. M., Martino, M. N., Chaves, A. R., & Zaritzky, N. E. (2007). Effects of polyvinylchloride films and edible starch coatings on quality aspects of refrigerated Brussels sprouts.
- Vivek, K., Singh, S. S., & RC, P. (2019). A review on postharvest management and advances in the minimal processing of fresh-cut fruits and vegetables. *Journal of Microbiology, Biotechnology & Food Sciences*, 8(5), 1178-1187. <https://doi.org/10.15414/JMBFS.2019.8.5.1178-1187>
- Varoquaux, P., & Wiley, R. C. (2017). Biological and biochemical changes in minimally processed refrigerated fruits and vegetables. *Minimally processed refrigerated fruits and vegetables*, 153-186.
- Wang, Y., Li, Y., Yang, S., Li, C., Li, L., Gao, S., & Wu, Z. (2023). Mechanism of ozone treatment in delayed softening of fresh-cut kiwifruit during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 204, 112469. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2023.112469>
- Wang, D., Yeats, T. H., Uluisik, S., Rose, J. K., & Seymour, G. B. (2018). Fruit softening: revisiting the role of pectin. *Trends in Plant Science*, 23(4), 302-310. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.01.006>
- Weichmann, J. (1987). Low oxygen effects. In J. Weichmann (Ed.), *Postharvest physiology of vegetables* (pp. 231–237). Marcel Dekker, Inc.
- Whitaker, J. R., & Lee, C. Y. (1995). Recent advances in chemistry of enzymatic browning: an overview. In *Enzymatic Browning and Its Prevention* (pp. 2-7). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-1995-0600.ch001>
- Xie, L., Yuan, D., Wang, L., Zhang, G., Peng, B., Wei, L., & Ling, Z. (2024). A novel dielectric barrier discharge ozone generator with excellent microdischarge temperature behavior. *Applied Thermal Engineering*, 250, 123453. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2024.123453>
- Xue, W., McChenleod, J., & Blaxland, J. (2023). The use of ozone technology to control microorganism growth, enhance food safety and extend shelf life: A promising food decontamination technology. *Foods*, 12(4), 814. <https://doi.org/10.3390/foods12040814>
- Yahia, E. M., & Carrillo-Lopez, A. (2018). *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables*. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/C2016-0-02390-7>.
- Yang, S. F., & Hoffman, N. E. (1984). Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 35(1), 155-189. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.35.060184.001103>
- Yang, F. M., Li, H. M., Li, F., Xin, Z. H., Zhao, L. Y., Zheng, Y. H., & Hu, Q. H. (2010). Effect of nano-packing on preservation quality of fresh strawberry (*Fragaria ananassa* Duch. cv Fengxiang) during storage at 4 C. *Journal of food science*, 75(3), C236-C240.
- Yang, E., Fan, L., Yan, J., Jiang, Y., Doucette, C., Fillmore, S., & Walker, B. (2018). Influence of culture media, pH and temperature on growth and bacteriocin production of bacteriocinogenic lactic acid bacteria. *AMB Express*, 8(1), 10. <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0536-0>
- Yildirim, S., Röcker, B., Pettersen, M. K., Nilsen-Nygaard, J., Ayhan, Z., Rutkaite, R., Radusin, T., Suminska, P., Marcos, B., & Coma, V. (2018). Active packaging applications for food. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1), 165-199. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12322>

- Zhao, L., Li, S., & Yang, H. (2021). Recent advances on research of electrolyzed water and its applications. *Current Opinion in Food Science*, 41, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.03.004>
- Zhou, X., Li, Y., Wang, J., & Chen, Z. (2020). Inhibitory effects of organic acids on polyphenol oxidase: From model systems to food systems. *Journal of Food Science and Technology*, 57(5), 1653–1664. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04102-3>

[Digitare qui]

[Digitare qui]

[Digitare qui]