

RICERCHE E INNOVAZIONI NELL'INDUSTRIA ALIMENTARE

Volume VI

A CURA DI
SEBASTIANO PORRETTA

ATTI DEL 6° CONGRESSO ITALIANO DI SCIENZA
E TECNOLOGIA DEGLI ALIMENTI (6° CISETA)

Villa Erba, Cernobbio (Co), 18-19 settembre 2003

CHIRIOTTI EDITORI
Pinerolo - Italia

STUDIO DELLA EVOLUZIONE DEI COMPOSTI ORGANICI VOLATILI DI MELE *GOLDEN DELICIOUS* CONFEZIONATE IN ATMOSFERA PROTETTIVA: APPLICAZIONE DI FILM EDIBILI

INTRODUZIONE

I prodotti di IV Gamma sono prodotti orticoli e frutticoli freschi che, in seguito a semplici operazioni preliminari come cernita, taglio e mondatura, vengono confezionati in sacchetti oppure in vaschette. La confezione, che deve possedere particolari proprietà barriera nei confronti di specifici gas e presentarsi batteriologicamente pura, è responsabile del mantenimento di molte delle caratteristiche sensoriali, chimiche e fisiche del prodotto durante la sua conservazione. Il prodotto può essere consumato fresco o previa cottura, immediatamente dopo l'apertura della confezione (Senesi *et al.*, 2000).

Le tradizionali tecniche di confezionamento in aria o sottovuoto da tempo utilizzate per diverse tipologie di ortaggi, non sono adatte alla conservazione di frutta, poiché essa è estremamente deperibile. Tale problematica è ancora oggi oggetto di studio, rivolto alla messa a punto di tecniche di conservazione di frutti in atmosfera modificata che consentano di controllare le possibili reazioni chimiche, enzimatiche e microbiologiche che intervengono durante la conservazione. Se il prodotto è conservato fresco, in ottime condizioni igieniche e con le giuste modalità di confezionamento i vantaggi possono essere molteplici: shelf-life più lunga, meno additivi nelle preparazioni, vantaggi nella gestione delle attività commerciali.

Tra le principali e più moderne applicazioni del packaging in atmosfera modificata è da citare l'ausilio di film a permeabilità controllata che sono in grado di ridurre il trasferimento di composti tra l'alimento e l'ambiente: in particolare favoriscono l'allontanamento di anidride carbonica ed etilene, impedendo l'ingresso di acqua e ossigeno. A questo scopo sono stati realizzati diversi tipi di confezioni in resina, cellulosa, film plastici, eventualmente combinati con film edibili. Studi precedenti hanno dimostrato che la perdita di qualità organolettica delle mele durante il periodo di conservazione post-confezionamento è prevalentemente legata alla perdita di attributi olfattivi, mentre l'aspetto, la texture e le caratteristiche gustative, pur decadendo si mantengono a livelli accettabili (Di Monaco, 2000). In considerazione di tali risultati, l'obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare come la tecnica di conservazione in atmosfera modificata di mele già affettate e mondate, appartenenti alla cultivar *Golden Delicious*, influenzi la componente odorosa del prodotto ed esplorare la possibilità d'impiego di film edibili per limitare le perdite di aroma nel corso della conservazione.

* Dipartimento di Scienza degli Alimenti - Università degli Studi di Napoli Federico II - 80055 Portici (NA)

** Dipartimento di Biotecnologie per il monitoraggio Agro-Alimentare ed Ambientale - Università degli Studi *Mediterranea* di Reggio Calabria - Loc. Feo di Vito - 89124 Reggio Calabria (RC)

MATERIALI E METODI

Le mele appartenenti alla varietà *Golden Delicious* sono state acquistate sempre presso un comune rivenditore ortofrutticolo della provincia di Napoli. Otto fette di mela sbucciata sono state messe in vassoi di polistirolo espanso in un'atmosfera al 100% azoto. I vassoi sono interamente ricoperti di un film di spessore 54 μm con le seguenti caratteristiche di permeabilità:

O_2 1,35 $\text{cm}^3/\text{m}^2 \times 24\text{h} \times \text{atm}$ a 23°C e 0% U.R.;

CO_2 4,5 $\text{cm}^3/\text{m}^2 \times 24\text{h} \times \text{atm}$ a 23°C e 0% U.R.;

N_2 <1 $\text{cm}^3/\text{m}^2 \times 24\text{h} \times \text{atm}$ a 23°C e 0% U.R.;

H_2O 5,1 $\text{g}/\text{m}^2 \times 24\text{h} \times \text{atm}$ a 38°C e 98% U.R.

I vassoi sono stati sigillati con un film di spessore 55 μm con le seguenti caratteristiche di permeabilità:

O_2 1 $\text{cm}^3/\text{m}^2 \times 24\text{h} \times \text{atm}$ a 23°C e 0% U.R.;

H_2O 8 $\text{g}/\text{m}^2 \times 24\text{h} \times \text{atm}$ a 38°C e 98% U.R.

Le mele confezionate sono state conservate a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ e analizzate ad intervalli di tempo regolari: dopo 4 ore dal confezionamento (corrispondente al tempo zero), dopo 24 ore, e dopo ogni 48 ore fino all'undicesimo giorno ed infine al quattordicesimo giorno. La sperimentazione è stata condotta sia su mele confezionate a 7 giorni che a 150 giorni dalla raccolta.

Medesime condizioni sperimentali sono state applicate a mele di 150 giorni dal raccolto confezionate in presenza di rivestimento di film edibile: prima di sigillare i vassoi le mele sono state immerse per 1 minuto in una soluzione costituita da 26 g/L di pectine e 16 g/L di proteine di soia. Il film edibile presentava le seguenti caratteristiche di permeabilità:

O_2 $38,9 \pm 4,2 \text{ cm}^3/\mu\text{m}/\text{m}^2/24\text{h}/\text{KPa}$ a 30°C e 51,4% U.R.;

H_2O $300,2 \pm 11,6 \text{ cm}^3/\mu\text{m}/\text{m}^2/24\text{h}/\text{KPa}$ a 25°C e ΔP 3,167 KPa;

CO_2 $71,91 \pm 8,6 \text{ cm}^3/\mu\text{m}/\text{m}^2/24\text{h}/\text{KPa}$ a 30°C e 51,4% U.R.

L'estrazione dei composti organici volatili (COV) è stata effettuata mediante la tecnica della distillazione simultanea (SDE) e dello spazio di testa statico (SHS).

Estrazione con metodo SDE

300 g di mele sono state frullate in 200 mL di acqua demineralizzata e sottoposte ad estrazione mediante il Likens-Nickerson estrattore (Tateo e Bonomi, 1995) con 50 mL diclorometano a 70°C per 60 minuti.

Estrazione con metodo dello spazio di testa statico

Campioni di mela fresca sono stati inseriti in vials da 20 mL per un rapporto solido/gas di 1/3. Le vials sono state termostatate a 40°C per 2 ore, prima del prelievo. La miscela gassosa è stata automaticamente iniettata al GC-MS mediante autocampionatore mod. 7694, dotato di meccanismo di pressurizzazione del campione con gas inerte (Agilent Technologies, USA). I parametri dell'autocampionatore erano: tempo di equilibrio 60 min; temperatura della vial 45°C; pressurizzazione con elio per 30 sec; temperatura della transfer line 80°C.

Valutazione quali-quantitativa della componente volatile

L'analisi dei composti organici volatili provenienti da entrambe le tipologie di estrazione è stata eseguita mediante GC/MS con un gascromatografo HP 6890 equipaggiato con una colonna capillare di 30 m, 0,25 mm d.i., spessore del film 0,25 μm (HP-5MS, Agilent Technologies, USA) collegato ad uno spettrometro di massa HP 5973 (Agilent Technologies, USA). Condizioni cromatografiche: PTV: da -10°C per 24 s, con incre-

mento di 500°C/min fino a 200°C; OVEN: da 30°C per 2 min, con incremento di 7°C/min fino a 250°C per 5 min. Il gas di trasporto era elio con flusso di 1,2 mL/min. Rapporto di splittaggio: 1/5. Gli spettri sono stati generati a 70eV in modalità Scan ed il range di massa selezionato è stato di 35-350 amu (2 s/scan). L'analisi degli spettri è stata effettuata confrontando i tempi di ritenzione con quelli degli standard interni e facendo riferimento alle librerie NIST98 e WILEY275. Gli standard interni preparati in metanolo sono stati: etilacetato, butanolo, amilacetato, butilacetato, butilbutanoato, 1-butanol-2-metilacetato, esanale, *t*-2-esenale, 1-esanolo, esilisobutirrato, esil-2-metil butirrato, isobutilbutilacetato e propilacetato.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Per monitorare l'evoluzione dei COV sono state prese come riferimento quattro molecole marker del profilo aromatico delle mele:

- *butilacetato* ed *esilacetato*, tipiche della mela Golden Delicious (Richard e Multon, 1992; Maarse e Belz, 1981),
- *etanolo* ed *etilacetato*, molecole di neoformazione derivanti dal metabolismo delle mele.

Tabella 1 - Principali composti identificati dalle Golden Delicious mediante GC-MS (estrazione SDE).

Composti identificati*	R _i (min)	Valore percentuale medio (%)	sd (±)
ESTERI			
Propilacetato	3,47	1,52	0,01
Isobutilacetato	4,35	0,35	0,02
Butilacetato	5,03	31,95	0,50
2-metil-butilacetato	6,17	3,56	0,01
butilbutanoato	6,69	0,22	0,02
amilacetato	6,50	0,72	0,02
esilacetato	5,46	9,12	0,01
esilisobutirrato	11,26	0,51	0,02
esil-2-metil butirrato	11,92	0,25	0,01
Esteri totali		48,53	
ALCOLI			
1-butanol	3,75	6,52	0,32
pentanol	4,29	0,25	0,01
1-esanol	5,97	25,24	0,60
Alcoli totali		35,04	
ALTRI COV			
esanale	4,77	13,35	0,40
<i>t</i> -2-esenale	5,71	3,05	0,03
Totale		16,43	
*i risultati sono la media di tre determinazioni ± sd.			

In tab. 1 sono riportati i principali composti identificati dalle mele Golden Delicious mediante GC-MS in seguito ad estrazione SDE in diclorometano. Si tratta soprattutto di composti appartenenti al gruppo degli esteri (48,53%), ma sono presenti anche alcoli (35,04%) e aldeidi (16,43%). I valori riportati in tabella rappresentano la media di tre determinazioni ottenute mediante GC-FID, previo calcolo dei fattori di risposta. I composti più abbondanti che sono stati rilevati sono butilacetato e 1-esanolo. Mediante tale tecnica è stato possibile valutare la componente che si ottiene distruggendo la struttura fisica delle mele. I risultati sono in accordo con i dati presenti in letteratura (Lo Scalzo *et al.*, 2001). La fig. 1 illustra un tipico gas cromatogramma dell'estratto poiché il campione viene esposto a 70°C, sono presenti anche molecole di neoformazione.

In tab. 2 sono stati riportati i risultati al GC-FID e GC-MS dell'estratto di mela con metodo dello spazio di testa statico (SHS). In questo caso sono state estratte solo le molecole più volatili, quindi quelle direttamente responsabili dell'odore della mela fresca e intera.

In tab. 3 sono riportati i COV valutati dopo 24 ore di conservazione in atmosfera protettiva a 7 giorni dalla raccolta e senza film edibile sulle fette di mela. S'identificano i composti tipici della mela Golden Delicious, ma anche molecole di neoformazione quali etilacetato ed etanolo. In fig. 2 è mostrato il profilo delle sostanze odorose durante i 14 giorni di conservazione in atmosfera 100% N₂ a 5 ± 1°C: già dal terzo giorno il butilacetato diminuisce nel tempo e la sua diminuzione è più veloce di quella dell'etilacetato. Per quanto riguarda etanolo ed etilacetato, essi assumono un andamento crescente a partire dal terzo giorno, mentre non sono rilevabili al tempo zero (dopo 4 ore dal confeziona-

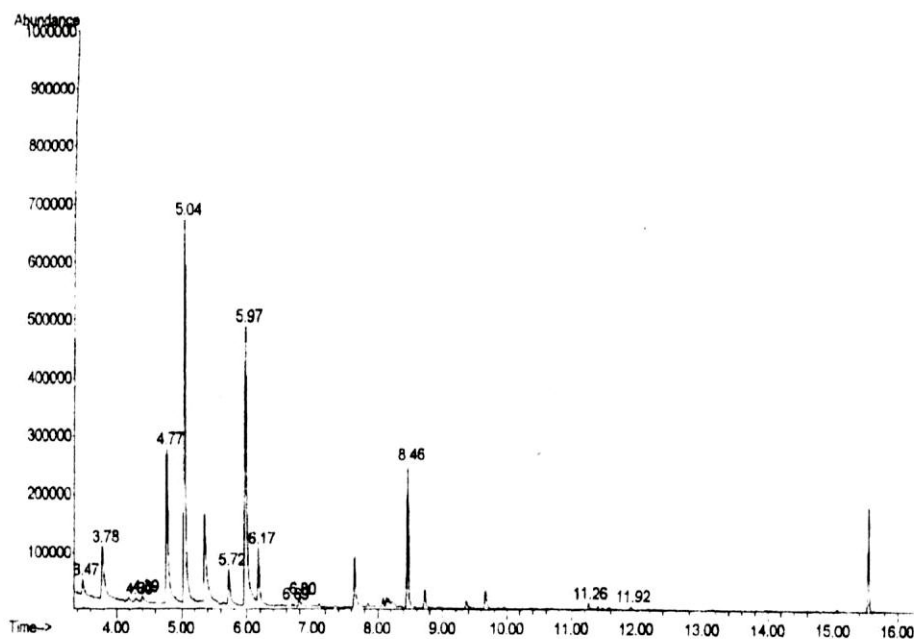


Fig. 1 - Gascromatogramma dei composti organici volatili di mele Golden Delicious estratti con il sistema Likens-Nickelson.

Tabella 2 - Principali composti identificati mediante HS/GC - MS.

Composti identificati *	R _f (min)	Valore percentuale medio (%)	sd (±)
ESTERI			
Butilacetato	4,99	32,14	1,20
2-metil -butilacetato	6,87	7,79	0,60
butilbutanoato	11,34	4,05	0,20
esilacetato	12,09	19,60	0,80
esilisobutirrato	19,84	0,23	0,05
Esteri totali		63,81	
ALCOLI			
1-butanolo	2,52	13,97	0,70
1-esanolo	6,62	6,75	0,30
Alcoli totali		20,72	
ALTRI COV			
esanale	4,58	15,47	0,77
* I risultati sono la media di tre determinazioni ± sd			

Tabella 3 - Identificazione dei composti odorosi delle mele ad un giorno di conservazione in atmosfera protettiva.

Composti identificati *	R _f (min)	Valore percentuale medio (%)	sd (±)
ESTERI			
etilacetato	2,59	7,25	0,41
butilacetato	5,01	50,05	1,16
2-metil-butilacetato	6,55	6,76	0,53
esilacetato	12,09	23,32	1,32
Esteri totali		87,41	
ALCOLI			
etanolo	1,55	4,65	0,69
Alcoli totali		20,72	
ALTRI COV			
esanale	4,61	7,94	0,45
* i risultati sono la media di tre determinazioni ± sd.			

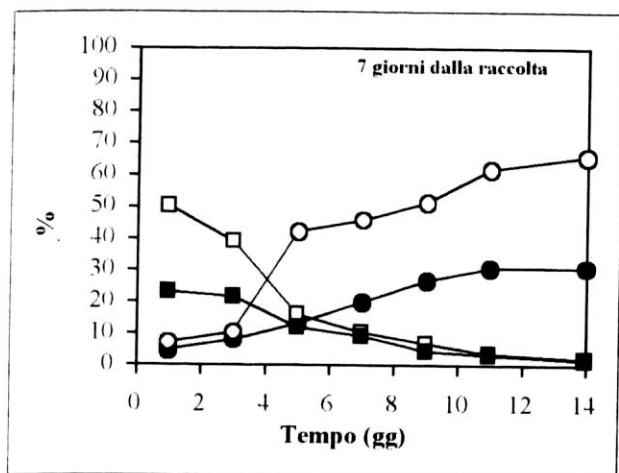


Fig. 2 - Evoluzione dell'etanolo (●), dell'etilacetato (○), del butilacetato (◻) e dell'esilacetato (■) in mele confezionate in atmosfera protettiva (100% azoto) durante 14 giorni di conservazione a 5°C ± 1.

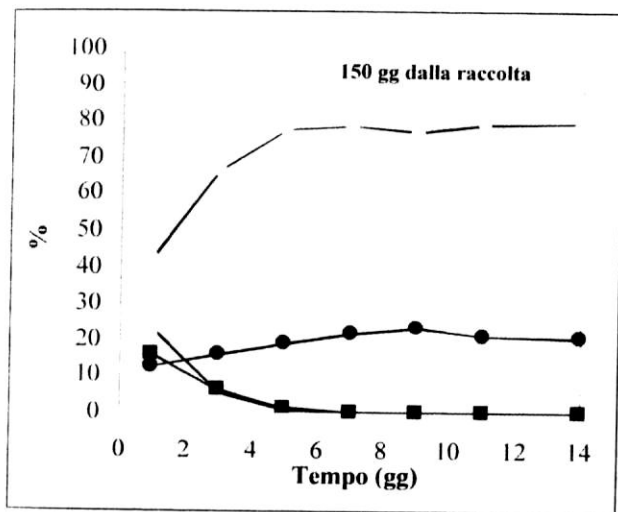


Fig. 3 - Evoluzione dell'etanolo (●), dell'etilacetato (○), del butilacetato (◻) e dell'esilacetato (■) in campioni di mele confezionate in atmosfera protettiva (100% azoto) durante 14 giorni di conservazione a 5°C ± 1.

al quattordicesimo giorno. L'etanolo invece cresce dal 5% circa del primo giorno fino al 16% all'ultimo prelievo. I composti tipici del prodotto, esilacetato e butilacetato, sono rilevabili fino al nono giorno con una concentrazione non superiore al 2%, mentre nel prodotto senza film edibile tale concentrazione è risultata inferiore all'1% già a partire dal quinto giorno di conservazione. La presenza del film edibile ha permesso inoltre di limitare la concentrazione finale di etanolo che risulta pari a 16,7% contro il 19,8%, che si ottiene senza film edibile.

mento). Al quinto giorno si ha un netta diminuzione del butilacetato che passa dal 50% al 12%, mentre il composto maggiormente presente risulta l'etilacetato. L'etanolo è circa il 20% del totale già al settimo giorno di conservazione, e la sua concentrazione cresce fino al quattordicesimo giorno.

I dati relativi alle mele confezionate senza film edibile dopo 150 giorni dal raccolto ed illustrati in fig. 3 evidenziano una situazione diversa: il butilacetato e l'esilacetato già al quinto giorno non sono più rilevabili. Alla fine del quattordicesimo giorno lo spazio di testa è formato soltanto da composti non caratteristici del prodotto fresco, come: etilacetato ed etanolo. Per prolungare il tempo di permanenza medio delle molecole chiave dell'aroma del prodotto (butil- ed esilacetato) durante la conservazione, è stato deposto prima del confezionamento sulle fette di mela di 150 giorni dalla raccolta un film edibile a base di pectine e proteine di soia.

I risultati ottenuti dall'analisi dello spazio di testa di tale prodotto sono riportati in fig. 4. La concentrazione dell'etilacetato rappresenta il 75% dello spazio di testa già dopo 24 ore, l'80%

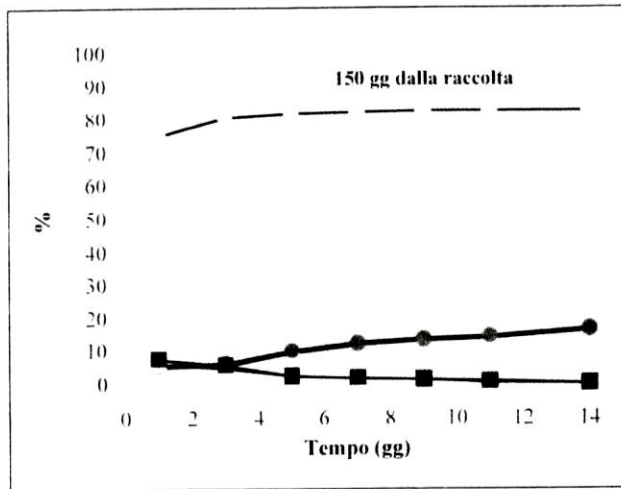


Fig. 4 - Evoluzione dell'etanolo (●), dell'etilacetato (△), del butilacetato (◻) e dell'esilacetato (■) in campioni di mele rivestite da film edibile confezionate in atmosfera protettiva (100% azoto) durante 14 giorni di conservazione a 5°C.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti concordano con studi precedenti dell'analisi sensoriale: dopo 5 giorni di conservazione le molecole responsabili dell'odore tipico della mela decadono completamente.

Inoltre è stato possibile verificare come l'abbinamento di un film edibile al normale confezionamento ha consentito di migliorare notevolmente questi risultati, sia prolungando il tempo medio di permanenza delle sostanze odorose tipiche delle mele fino al nono giorno di conservazione sia ritardando la formazione di molecole quali etilacetato ed etanolo. Le tecniche di analisi qualitativa e quantitativa utilizzate si sono dimostrate un valido strumento di controllo, confermando i dati presenti in letteratura (Lo Scalzo *et al.*, 2001; Di Monaco *et al.*, 2000).

BIBLIOGRAFIA

- DI MONACO, R., (2000). L'innovazione di prodotto in campo alimentare: i prodotti della IV gamma. Tesi di laurea in Scienze delle Tecnologie Alimentari. Facoltà d'Agraria di Portici. Università degli Studi di Napoli Federico II.
- LO SCALZO, R., TESTONI, A., GENNA, A., (2001). Annurca apple fruit, a southern Italy apple cultivar: textural properties and aroma composition. *Food Chem.*, 73: 333-343.
- MAARSE, H., and BELZ, R., (1981). Isolation, separation and identification of volatile compounds in aroma research. Akademie-Verlag, Berlin.
- MILLER, K.S. and KROCHTA, J.M., (1997). Oxygen and aroma barrier properties of edible films: a review. *Trends in Food Sc. & Tech.*, 8: 228-237.
- RICHARD, H., e MULTON, J.L., (1992). Les Aromes Alimentaires. Tec & Doc- Lavoisier, Paris.
- SENESE, E., MERONI, A., DE REGIBUS, P., (2000). Quarta gamma: situazione, tendenze e innovazioni. *Frutticoltura*, 11: 24-29.
- TATEO, F., e BONONI, M., (1995). Estrazione ed isolamento a fini analitici di aromi ed aromatizzanti, in *Chimica analitica degli aromi*. Giuseppe Maria Ricchiuto Editore - Bussolengo, Verona, vol. I, pp. 11-26.

RIASSUNTO

La preparazione di spicchi di mela fresca di IV Gamma richiede semplici operazioni preliminari come cernita, lavaggio, taglio e mondatura, e un confezionamento in sacchetti oppure in vaschette.

Obiettivo del presente lavoro è stato quello di valutare l'evoluzione della componente odorosa durante la conservazione al fine di applicare un film edibile che preservasse i composti organici volatili. L'evoluzione delle sostanze volatili di mele della cultivar *Golden Delicious* è stata studiata per un periodo di conservazione di 14 giorni. Le confezioni sono state realizzate con film barriera e l'atmosfera protettiva costituita dal 100% di azoto. L'estrazione della componente odorosa della mela fresca è avvenuta tramite la Simultaneous Distillation Extraction (Tateo e Bonomi, 1995) e la tecnica dello Spazio di Testa Statico. La componente odorosa è stata caratterizzata mediante gas cromatografia (GC/MS e FID). È risultato che le molecole responsabili dell'odore tipico della mela, etilacetato e butilacetato, decadono completamente dopo cinque giorni di conservazione. Inoltre si è osservato la presenza di molecole di neoformazione quali etilacetato ed etanolo. L'applicazione di un film edibile al prodotto prima del confezionamento ha consentito un prolungamento della conservazione, ritardando la scomparsa delle sostanze odorose tipiche del prodotto.

SUMMARY

Fresh-cut fruits and vegetables are products that are minimally processed so they are ready to use. They are packaged in trays or bag. Consumers expect fresh-cut product to be without defects and with fresh like characteristics i.e. general appearance, sensory and nutritional attribute. Food quality loss because transport of aroma compounds and oxygen through film package. Aim of this research was to study food evolution during storage by means of organic volatile compounds (COV) monitoring. Samples of Golden Delicious minimally processed were packed with 100% N₂ and then stored at 5 ± 1°C for 14 days. The volatile compounds, in the raw and packed samples, were stripped and concentrated by Simultaneous Distillation Extraction and Static Head Space techniques. The volatile extracts were analysed by GC/MS and FID. Results showed that edible polymer films reduce flavour and aroma losses, in fact the product coated with edible film presented better aroma characteristic than other packaged samples.