



scienza attiva®

EDIZIONE 2015/2016

AGRICOLTURA, ALIMENTAZIONE E SOSTENIBILITA'

Prodotti di IV gamma: la variazione dei principali composti fitochimici tra l'insorgere dell'imbrunimento e la sicurezza alimentare

Giuseppe Pignata

Università degli Studi di Torino, Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari - VEGMAP

Documento di livello: B



Un progetto di


agorà scienza
centro interuniversitario



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TORINO



scienza attiva®

Sommario

1. La IV gamma: diffusione e caratteristiche.....	2
2. La preparazione dei prodotti di IV gamma, la <i>shelf-life</i> e la composizione fitochimica	3
3. La variazione dei pigmenti e dell'aspetto.....	5
3.1. LA DEGRADAZIONE DELLA CLOROFILLA	5
3.2. L'imbrunimento della superficie di taglio	6
3.3. L'imbianchimento dei tessuti.....	7
4. Le variazioni a carico dei principali composti fitochimici	8
4.1. La vitamina C.....	8
4.2. I carotenoidi	8
4.3. I polifenoli.....	8
5. La perdita di peso ed il rammollimento dei tessuti.....	10
6. Il danno da freddo.....	10
7. La sicurezza alimentare dei prodotti di origine vegetale	10
7.1. La contaminazione microbiologica.....	10
7.2. La questione nitrati	11
8. Le tecnologie ed i sistemi per la conservazione dei composti fitochimici.....	12
9. Conclusioni	16
10. Bibliografia	17

1. La IV gamma: diffusione e caratteristiche

Negli ultimi due decenni si è assistito ad un significativo cambiamento nello stile di vita delle persone, che sempre più spesso consumano pasti fuori casa o hanno poco tempo a disposizione per cucinare (Ferrante *et al.*, 2004; Abadias *et al.*, 2008). Questa tendenza si è riflessa sul settore ortofrutticolo, portando i consumatori a richiedere e ad indirizzarsi verso nuove tipologie di prodotti di origine vegetale: i prodotti di IV gamma, pronti all'uso e al consumo, detti anche *fresh-cut* o *minimally-processed foods* (Figura 1) (Baur *et al.*, 2004; Abadias *et al.*, 2008; Ares *et al.*, 2008; Fontana e Nicola, 2008; Fallovo *et al.*, 2009a; Nicola *et al.*, 2010). Questi possono essere definiti come frutta e verdura fresca che hanno subito una lavorazione al fine di incrementare la loro funzionalità senza cambiarne drasticamente le proprietà rispetto al prodotto fresco (Ares *et al.*, 2008; Zhan *et al.*, 2011).



Figura 1 Prodotti di IV gamma nel banco frigo di un supermercato (www.freshplaza.it)

Il volume di mercato dei prodotti di IV gamma è aumentato in Europa di anno in anno grazie al crescente interesse dei consumatori a seguito soprattutto della qualità intrinseca riconosciuta nei prodotti stessi, alla comodità di uso e di servizio ed alle caratteristiche simili a quelle dei prodotti freschi tal quali (Pirovani *et al.*, 1997; Garrett *et al.*, 2003; Ares *et al.*, 2008; Conte *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010). Da tale tipologia di prodotti i consumatori si aspettano assenza di difetti ed ottima maturità e freschezza (Watada e Qi, 1999). Negli ultimi anni inoltre, i consumatori sono risultati essere sempre più esigenti ed attenti agli aspetti nutrizionali ed alla composizione fitochimici di frutta e verdura, nonché all'assenza di additivi chimici (Jacxsens *et al.*, 1999; Soliva-Fortuny e Martín-Belloso, 2003; Mousavizadeh e Sedaghatthoor, 2011; Zhan *et al.*, 2013). Frutta e verdura sono infatti considerati alimenti essenziali per la dieta e in letteratura sono molti i lavori che evidenziano i benefici per la salute umana abbinata al loro consumo (Wang *et al.*, 1996; Vinson *et al.*, 1998; Kang e Saltveit, 2002; Caldwell, 2003; Svilaas *et al.*, 2004; Brat *et al.*, 2006; Abadias *et al.*, 2008).

2. La preparazione dei prodotti di IV gamma, la *shelf-life* e la composizione fitochimica

I prodotti di IV gamma sono generalmente più deperibili degli omologhi prodotti freschi a causa del processo di lavorazione e preparazione (Watada *et al.*, 1996; Watada e Qi, 1999; Degl'Innocenti *et al.*, 2005; Altunkaya e Gökmen, 2012). Le principali fasi post raccolta di tale processo sono cernita, mondata, taglio, lavaggio, asciugatura, dosatura e confezionamento (monoprodotto o mix di più specie contemporaneamente) (Figura 2) (Degl'Innocenti *et al.*, 2007; Martínez-Sánchez *et al.*, 2011).



Figura 2 Lavorazione e preparazione dei prodotti di IV gamma (www.freshplaza.it).

Mentre le tecniche convenzionali di trattamento (*e.g.* pastorizzazione, surgelazione) degli alimenti ne estendono la durata commerciale (*shelf-life*), le fasi di preparazione della IV gamma provocano un danno meccanico dei tessuti variandone la fisiologia, incrementando il tasso di respirazione ed accelerandone il deterioramento attraverso vari fenomeni di ossidazione enzimatica e non. Questi fenomeni fisiologici e biochimici possono portare alla comparsa di odori sgradevoli, alla perdita di umidità, alla produzione di etilene, alla diminuzione della consistenza ed alla proliferazione microbica, diminuendone di conseguenza la *shelf-life* (Watada e Qi, 1999; Cantos *et al.*, 2001; Loaiza-Velarde e Saltveit, 2001; Nicola e Fontana, 2007; Rico *et al.*, 2007; Ares *et al.*, 2008; Altunkaya e Gökmen, 2012). Per prolungare la *shelf-life* dei prodotti di IV gamma, così come per preservare il loro valore nutrizionale e garantire la sicurezza alimentare, è necessaria un'alta qualità della materia prima in quanto durante il processo di lavorazione non è previsto alcun trattamento di stabilizzazione (Jacxsens *et al.*, 1999; Conte *et al.*, 2008).

La *shelf-life* dei prodotti di IV gamma è generalmente limitata dalle variazioni sensoriali più che dallo sviluppo microbico (Jacxsens *et al.*, 2002). Le proprietà visive del prodotto confezionato sono infatti importanti parametri presi in considerazione dal consumatore al momento dell'acquisto (Figura 3) (Ferrante *et al.*, 2004; Piagentini *et al.*, 2005). I principali sono assenza di discolorazione (*e.g.* imbrunimento enzimatico della superficie di taglio, ingiallimento delle parti verdi, colore poco brillante, imbianchimento superficiale) e assenza di danni fisici (*e.g.* foglie danneggiate, foglie ferite, foglie rotte) (Jacxsens *et al.*, 2003). Le due tipologie di difetti sono spesso legate e interdipendenti come riportato da Watada e Qi (1999), i quali affermano come i prodotti di IV gamma siano suscettibili di discolorazione a causa di tessuti danneggiati ed assenza di protezione

(*e.g.* buccia nel caso dei prodotti di IV gamma a base frutta). La localizzazione dei composti fitochimici nel materiale vegetale diventa importante quando alcune parti sono rimosse (*e.g.* buccia) (Kalt, 2005). Inoltre, il colore può anche essere considerato come indicatore delle proprietà antiossidanti di frutta e verdura poiché molti pigmenti come carotenoidi, polifenoli e antociani coinvolti nella colorazione dei tessuti, presentano attività antiossidanti (Scalbert e Williamson, 2000; Ferrante *et al.*, 2004; Vicente *et al.*, 2009; Buchanan e Omaye, 2013).



Figura 3 Prodotti di IV gamma, frutta (www.freshplaza.it).

Occorre precisare che il contenuto in pigmenti ed in altri composti fitochimici (*e.g.* vitamine), varia per ciascuna specie ed è influenzata dalle condizioni colturali (Lee e Kader, 2000). La lattuga (famiglia *Asteraceae*) è ricca di composti antiossidanti, antocianine e clorofille (Martínez-Sánchez *et al.*, 2011; Baslam *et al.*, 2013). La rucola (famiglia *Brassicaceae*), uno dei prodotti orticoli più importanti nei Paesi Mediterranei, è riconosciuta per avere alti contenuti di vitamina C, carotenoidi, polifenoli e glucosinolati (Barillari *et al.*, 2005). Lo spinacio (famiglia *Chenopodiaceae*) contiene alti livelli di vitamina C, carotenoidi e sali minerali (Conte *et al.*, 2008; Mousavizadeh e Sedaghatthoor, 2011). La valerianella (famiglia *Valerianaceae*) è ricca di polifenoli (Grzegorzewski *et al.*, 2010) (Figura 4).



Figura 4 Prodotti di IV gamma, ortaggi a foglia (www.freshplaza.it).

Solo pochi studi sono stati condotti sino ad ora per comparare ad esempio la composizione fitochimica tra sistemi tradizionali in suolo e fuori suolo sulla stessa specie (Buchanan e Omaye, 2013).

Tuttavia, indipendentemente dai contenuti iniziali, i composti fitochimici sono soggetti ad una degradazione nel corso della vita post raccolta e della *shelf-life* causando un impoverimento nutrizionale del prodotto (Lee e Kader, 2000; Caldwell, 2003; Soliva-Fortuny e Martín-Belloso, 2003).

3. La variazione dei pigmenti e dell'aspetto

Lattuga e carota, che sono tra gli ortaggi più diffusi in IV gamma, sono anche quelli più soggetti a variazioni di colore e di aspetto (Rico *et al.*, 2007; Selma *et al.*, 2012). Alcuni dei principali sintomi di senescenza negli ortaggi a foglia una volta raccolti sono la perdita di verde, la degradazione della clorofilla e l'insorgere di imbrunimenti (Yamuchi e Watada, 1993).

3.1. La degradazione della clorofilla

L'intensità di verde nei tessuti vegetali è attribuita a pigmenti come le clorofille (clorofilla *a* e clorofilla *b*) che rapidamente subiscono una degradazione durante la lavorazione e la conservazione. Tale degradazione inizia con la disorganizzazione della membrana cellulare ed è dovuta alla conversione enzimatica di clorofilla *a* e clorofilla *b* in pigmenti più scuri quali feofitina *a* e feofitina *b* in seguito alla sostituzione dello ione Mg^{2+} con due ioni H^+ (López-Ayerra *et al.*, 1998; Conte *et al.*, 2008). Le proprietà della clorofilla nei tessuti verdi dipendono anche dal tipo di legame con le lipoproteine dei cloroplasti (López-Ayerra *et al.*, 1998). La clorofillasi risulta coinvolta sia nelle reazioni degradative sia in quelle biosintetiche, ma non in tutte le specie di frutta e verdura (Yamuchi e Watada, 1993).

3.2. L'imbrunimento della superficie di taglio

È lo sviluppo dell'imbrunimento a rendere i prodotti di IV gamma inaccettabili per il consumatore causando sprechi ed importanti perdite economiche (López-Gálvez *et al.*, 1996). Il taglio è il principale responsabile dell'insorgenza di tale fenomeno in quanto porta all'attivazione di processi metabolici che causano l'accumulazione dei composti fenolici e la conseguente formazione dei pigmenti scuri (Baur *et al.*, 2004; Degl'Innocenti *et al.*, 2007). Ciascuna specie reagisce in modo differente all'imbrunimento (Watada e Qi, 1999). La lattuga è una delle specie più studiate in quanto mostra un'alta sensibilità a tale fenomeno (Figura 5) (Tomás-Barberán *et al.*, 1997; Degl'Innocenti *et al.*, 2007; Tavarini *et al.*, 2007; Martínez-Sánchez *et al.*, 2011).



Figura 5 Imbrunimento della superficie di taglio in lattuga di IV gamma (www.freshplaza.it).

La fenilalanina ammonia liasi (PAL) è il primo enzima coinvolto nella biosintesi di molti composti fenolici in quanto catalizza la conversione di L-fenilalanina ad acido transcinnamico, che determina a sua volta il metabolismo dei composti fenilpropanoidi importanti per lo sviluppo e la difesa della pianta (Saltveit, 2000; Baur *et al.*, 2004; Campos *et al.*, 2004). In diversi studi su ortaggi da foglia è risultato come l'attività della PAL sia aumentata in seguito a stress (*e.g.* taglio) (López-Gálvez *et al.*, 1996; Baur *et al.*, 2004). Sia i fenoli naturalmente presenti nei tessuti vegetali, sia quelli sintetizzati come reazione fisiologica allo stress, costituiscono il substrato per gli enzimi ossidativi naturalmente presente nei tessuti vegetali quali la polifenolo ossidasi (PPO) e la perossidasi (POD) (Caldwell, 2003). Danni dei tessuti come quelli indotti dal taglio, provocando la compartimentalizzazione cellulare, permettono la miscelazione del substrato fenolico con i due enzimi favorendo lo sviluppo dell'imbrunimento (Tomás-Barberán *et al.*, 1997). La PPO catalizza l'idrossilazione dei monofenoli a difenoli e l'ossidazione dei difenoli in chinoni (Degl'Innocenti *et al.*, 2005). Questi ultimi, essendo molto reattivi, possono polimerizzare attraverso una serie di complesse reazioni di tipo non-enzimatico portando alla formazione di pigmenti bruni e causando una riduzione del valore nutrizionale in seguito al coinvolgimento di aminoacidi nella reazione (Baur *et al.*, 2004; Doğan e Salman, 2007). In presenza di piccole quantità di perossido di idrogeno la POD può ossidare sia i monofenoli sia i difenoli risultando inoltre coinvolta nel processo di lignificazione dei tessuti (Degl'Innocenti *et al.*, 2005; Chisari *et al.*, 2010). La PPO può essere considerata come promotrice dell'attività della POD in quanto porta alla sintesi di perossido di idrogeno durante l'ossidazione dei composti fenolici (Subramanian *et al.*, 1999). L'attività di PAL, PPO e POD può per tanto essere utilizzata come indice nella valutazione della perdita di qualità dei prodotti di origine vegetale e per definire il grado di danneggiamento dei prodotti di IV gamma durante la lavorazione (Degl'Innocenti *et al.*, 2005).

Ne consegue che il controllo dell'imbrunimento sia da sempre una delle maggiori sfide nel settore alimentare (Cantos *et al.*, 2001). Comprendere le basi fisiologiche e biochimiche dell'imbrunimento dei tessuti dei prodotti di IV gamma risulta determinante nello sviluppo di

appropriati sistemi produttivi e di tecnologie di processo al fine di diminuire la perdita di qualità durante la *shelf-life* (Tavarini *et al.*, 2007).

Differenti trattamenti sono stati valutati e saggiati per ridurre l'imbrunimento dei prodotti *fresh-cut*, quali l'applicazione di inibitori chimici di PPO e POD, di composti ad azione antiossidante (e.g. solfiti) e di sali di calcio utili a mantenere l'integrità cellulare (López-Gálvez *et al.*, 1996; Loaiza-Velarde e Saltveit, 2001; Degl'Innocenti *et al.*, 2007; Rojas-Graü *et al.*, 2008).

Il crescente diffondersi dei prodotti di IV gamma, la maggior attenzione che ultimamente è stata riposta verso i concetti di sostenibilità, le restrizioni nell'uso di prodotti chimici ad azione antiossidante e la maggior presa di coscienza da parte dei consumatori circa i residui su frutta e verdura, hanno incrementato la necessità di trovare sistemi alternativi per il contenimento dell'imbrunimento (Allende e Artés, 2003b). Tra questi l'uso di bassa temperatura e di atmosfera modificata (MAP) o trattamenti con cisteina, prodotti a base di zolfo che possono agire come riducenti e acidificanti come acido ascorbico (AA), citrico, ossalico, malico o fosforico che possono inibire l'attività della PPO riducendo il pH e/o agendo da chelanti verso il substrato di reazione. Tuttavia, l'effetto di tali agenti riducenti è temporaneo in quanto essi stessi sono irreversibilmente ossidati (López-Gálvez *et al.*, 1996; Degl'Innocenti *et al.*, 2007; Rojas-Graü *et al.*, 2008; Altunkaya e Gökmen, 2012). I più recenti studi sono volti all'identificazione ed alla caratterizzazione di inibitori naturali come estratti di aglio o di piante aromatiche ed officinali quali timo, origano e rosmarino che al contempo presentano un'azione antimicrobica (Dogan e Dogan, 2004; Martín-Diana *et al.*, 2008; Doğan *et al.*, 2011; Mousavizadeh e Sedaghatthoor, 2011; Altunkaya e Gökmen, 2012; Muriel-Galet *et al.*, 2012).

3.3. L'imbianchimento dei tessuti

Si tratta di un fenomeno indesiderato che colpisce soprattutto le carote di IV gamma e che porta alla formazione di colorazione biancastra a livello superficiale tale da rendere il prodotto non attraente per il consumatore (Figura 6) (Watada *et al.*, 1996).



Figura 6 Imbianchimento dei tessuti in carote di IV gamma (www.freshplaza.it).

La causa di tale fenomeno è da imputare in parte alla disidratazione di cellule danneggiate e in parte alla formazione di lignina (Watada *et al.*, 1996; Watada e Qi, 1999). Selezione di cultivar con una maggior turgidità e trattamenti di *dipping* con calcio non sempre sono risultati sufficienti a ridurre l'imbianchimento dei tessuti, mentre un *coating* con caseinato di sodio e acido stearico ne migliora l'aspetto (Watada *et al.*, 1996).

4. Le variazioni a carico dei principali composti fitochimici

4.1. La vitamina C

La vitamina C (vit. C) è definita come il composto che presenta attività biologica di AA (Lee e Kader, 2000). AA è la principale forma biologica attiva ma anche l'acido deidroascorbico (DHAA), il prodotto della sua ossidazione, presenta attività biologica (Lee e Kader, 2000). La vit. C è un micronutriente essenziale e necessario per il normale funzionamento metabolico dell'organismo in quanto coinvolta come cofattore di diversi enzimi nella sintesi di collagene, carnitina e dei neurotrasmettitori, nel metabolismo del colesterolo e del glutatione (un importante antiossidante intracellulare e cofattore enzimatico), nell'inibizione della formazione delle nitrosamine, in malattie croniche e come antiossidante (Carr e Frei, 1999; Lee e Kader, 2000). AA è in grado di inibire (formando DHAA) la attività della PPO sia abbassando il pH nel citosol sia riducendo i chinoni formati dai loro precursori difenolici riducendo di conseguenza la severità dell'imbrunimento (Soliva-Fortuny e Martín-Belloso, 2003; Degl'Innocenti *et al.*, 2005, 2007). Il contenuto di DHAA in molti prodotti rappresenta meno del 10% della vit. C totale ma tende ad aumentare durante il post raccolta (Wills *et al.*, 1984). AA si ossida infatti a DHAA che a sua volta può essere irreversibilmente ossidato in 2,3-acido dichetogulonico, il quale però non possiede attività biologica (Cruz *et al.*, 2008). L'ascorbato ossidasi è stato indicato come il principale enzima responsabile della degradazione di AA a DHAA. Tale enzima è associato con le regioni in rapida crescita della pianta e si trova più a ridosso delle pareti cellulari ed alle proteine nel citosol (Lee e Kader, 2000). In condizioni di stress, come quelle dovute all'esposizione ad agenti chimici o patogeni, i livelli di ascorbato ossidasi aumentano (Lee e Kader, 2000). Poiché l'uomo non è in grado di sintetizzare la vit. C, questa deve essere introdotta nell'organismo attraverso la dieta (Carr e Frei, 1999). La vit. C è la meno stabile tra tutte le vitamine e la componente AA risulta essere molto labile tanto che il suo contenuto in frutta e verdura viene spesso misurato per valutare gli effetti dei trattamenti post raccolta (Barry-Ryan e O'Beirne, 1998; Cruz *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2012). Il tasso di degradazione di AA risulta infatti facilmente influenzato dalla preparazione dei prodotti di IV gamma come la sbucciatura ed il taglio e dalla conseguente attività enzimatica, dai trattamenti chimici, dall'irradiazione, dall'uso di MAP e quindi dalla disponibilità di ossigeno (O₂), dalla presenza di metalli (specialmente rame e ferro) responsabili di costituire un substrato di reazione all'ossidazione, dai pH basici, dall'esposizione alla luce, dall'alta temperatura e dalla bassa umidità relativa durante la conservazione e da una prolungata *shelf-life* (Barry-Ryan e O'Beirne, 1998; Lee e Kader, 2000; Kalt, 2005; Cruz *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2012).

4.2. I carotenoidi

In contrasto con il calo generico di *g. vit. C* durante la *shelf-life*, il contenuto dei carotenoidi risulta più stabile (Kalt, 2005). I contenuti di licopene in pomodoro dopo due settimane di conservazione a 22 °C o in broccoli di IV gamma son rimasti invariati con l'utilizzo di MAP in combinazione con temperature refrigerate di stoccaggio (Kalt, 2005).

4.3. I polifenoli

Il contenuto in polifenoli può aumentare o diminuire in frutta e verdura in funzione di stress di tipo biotico (*e.g.* attacco di insetti, infezione di patogeni), di tipo abiotico (*e.g.* luce, temperatura, disponibilità di nutrienti, disponibilità di acqua) ed ai trattamenti post raccolta (Figura 7) (Kalt, 2005; Cartea *et al.*, 2011). Mele conservate a temperature refrigerate con o senza MAP hanno mostrato sia casi di mantenimento dei contenuti in polifenoli, sia di diminuzione (Kalt, 2005). Un

sostanziale accumulo di antocianine è stato osservato in fragole sebbene non sia stata misurata alcuna variazione nel contenuto in polifenoli totali e nell'attività antiossidante (indice di decadimento di altri polifenoli), e in lamponi nei quali invece sono stati osservati aumenti generalizzati (Kalt, 2005). Fragole conservate in condizioni di MAP con alta CO₂ hanno accumulato meno antocianine e fenoli rispetto a fragole conservate all'aria. Questo è spiegabile con una minor attività enzimatica (PAL) responsabile della nuova sintesi di polifenoli ed una minor stabilità delle antocianine al pH più alto dovuto alla maggior concentrazione di CO₂ (Kalt, 2005). In uva da tavola il contenuto in antocianine, flavonol glucosidi ed esteri dell'acido cinnamico non è cambiato durante la *shelf-life* mentre i derivati del resveratrolo sono aumentati di due volte (Kalt, 2005).

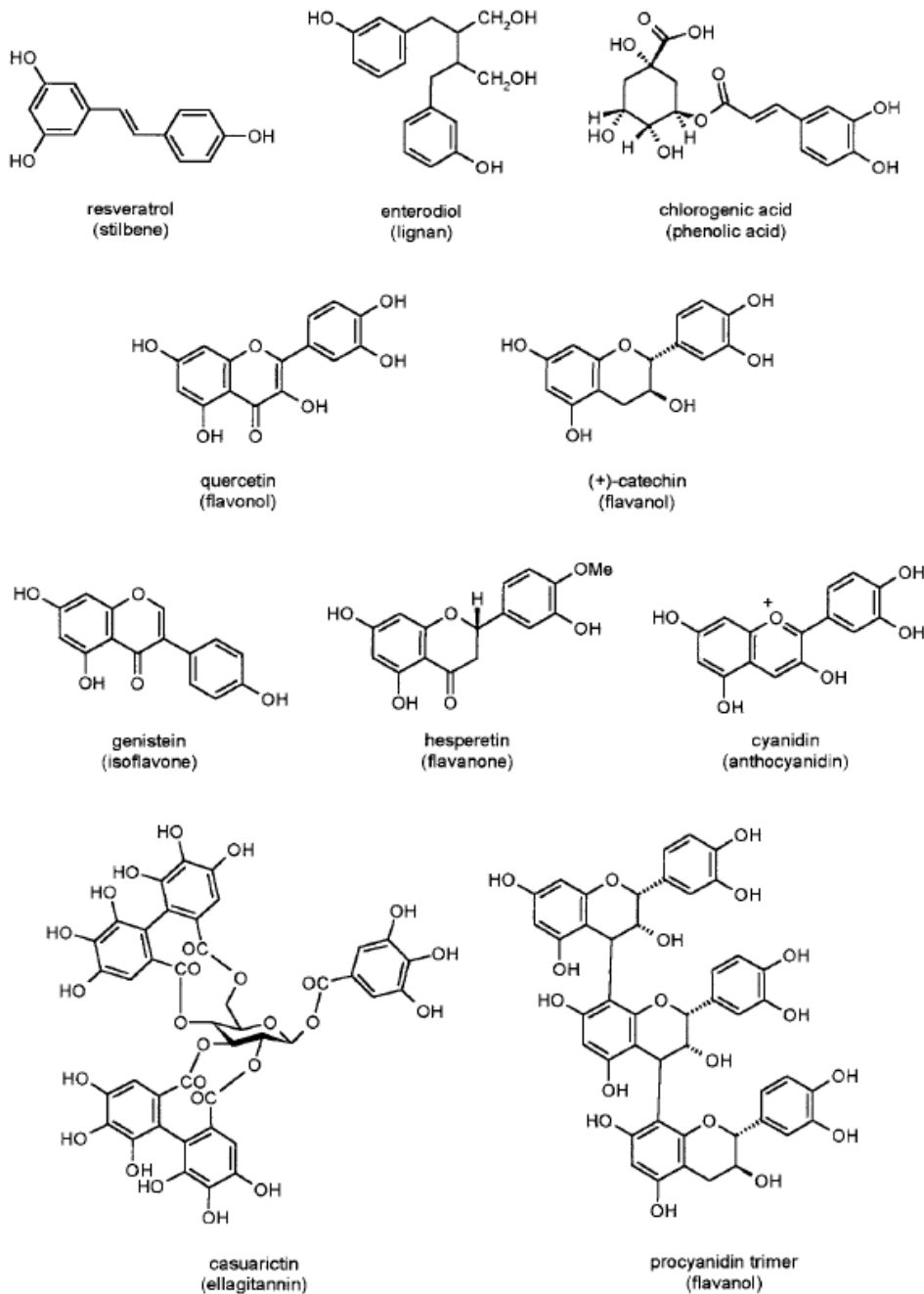


Figura 7 Struttura chimica delle principali classi di polifenoli (Scalbert e Williamson, 2000).

5. La perdita di peso ed il rammollimento dei tessuti

La perdita di acqua è un'importante causa di deterioramento qualitativo in post raccolta in quanto risulta direttamente coinvolta in una perdita quantitativa (peso), di aspetto (appassimento, avvizzimento) e di consistenza (rammollimento e perdita di croccantezza) (Medina *et al.*, 2012). Durante la preparazione dei prodotti di IV gamma molte barriere naturali (buccia e le parti più esterne) sono rimosse rendendo il prodotto finito più suscettibile alla disidratazione (Gorny, 1997). L'ampia superficie di taglio e priva di protezioni, in condizioni di temperature non refrigerate o di ambiente secco, può portare a importanti perdite di peso (Watada *et al.*, 1996). Uno dei grandi vantaggi derivanti dall'uso di MAP o di *coating* è il mantenimento di un'alta umidità relativa intorno al prodotto di IV gamma limitando la perdita di acqua (Gorny, 1997; Watada e Qi, 1999). La perdita di consistenza costituisce maggiormente un problema nel settore IV gamma frutta che non in quello degli ortaggi (Soliva-Fortuny e Martín-Belloso, 2003). Il rammollimento può essere dovuto all'azione di enzimi pectinolitici e proteolitici essudati dalle cellule danneggiate che possono diffondersi nei tessuti e degradare le strutture delle molecole, all'assottigliamento della parete cellulare, alla diffusione degli zuccheri nello spazio intracellulare, alla perdita di turgore, alla migrazione di ioni dalla parete cellulare (Soliva-Fortuny e Martín-Belloso, 2003). Trattamenti con sali di calcio sono stati utilizzati per diminuire il rammollimento dei tessuti in molti prodotti di IV gamma in quanto in grado di legarsi alla parete cellulare e alla lamella mediana e di interagire con i polimeri pectinici per formare legami crociati che incrementano la struttura meccanica ritardando la senescenza e le variazioni fisiologiche (Soliva-Fortuny e Martín-Belloso, 2003).

6. Il danno da freddo

Circa il 40% dei prodotti freschi è sensibile alle basse temperature in quanto possono provocare danni ai tessuti in seguito a separazione dei lipidi di membrane e indebolimento dei legami idrofobi influenzando le interazioni tra e con le proteine (Watada e Qi, 1999; Hodges e Toivonen, 2008). Risulta quindi molto importante trovare un ottimo di temperatura di conservazione tra quella responsabile di provocare danni da freddo e quella più alta responsabile di accelerare il deterioramento (Watada e Qi, 1999).

7. La sicurezza alimentare dei prodotti di origine vegetale

7.1. La contaminazione microbiologica

Frutta e verdura, in quanto spesso consumati crudi, possono essere fonte e veicolo di muffe, lieviti, batteri, parassiti ed agenti patogeni capaci di provocare danni alla salute (Abadias *et al.*, 2008). L'incidenza delle infezioni alimentari causate da prodotti contaminati è incrementata negli ultimi anni in svariati Paesi e sebbene ci siano numerosi *report* circa la contaminazione microbiologica che coinvolge i prodotti freschi tal quali, ci sono ancora poche informazioni circa la contaminazione dei prodotti di IV gamma e dei germogli, in particolare in Europa (Abadias *et al.*, 2008). Solamente nel corso degli ultimi anni sono state pubblicate delle linee guida per il controllo

microbiologico nei prodotti freschi compresi frutta e verdura di IV gamma e germogli, sia a livello nazionale (Legge 77/2011 e Decreto attuativo 3746/2014) sia a livello Comunitario (“Pacchetto igiene” e successive modifiche ed integrazioni) al fine di stabilire criteri comuni per la sicurezza alimentare e l’igiene dei prodotti alimentari (Abadias *et al.*, 2008). Poiché le fonti di contaminazione possono essere molteplici e con diversa entità, in letteratura si possono trovare valori di carica microbica anche contraddittori (Zagory, 1999). Sebbene nella maggior parte dei casi lo sviluppo microbico non costituisca un vincolo per la *shelf-life* dei prodotti di IV gamma, il mantenimento a livelli sotto le soglie di rischio (ca 10^6 - 10^8 unità formanti colonia (ufc) al grammo in peso fresco) ed il controllo della proliferazione microbica sono un aspetto fondamentale per garantire la *safety* alimentare (Martínez-Sánchez *et al.*, 2006b; Scuderi *et al.*, 2011). Questo diventa ancora più importante se si tiene conto che molte volte livelli di contaminazione microbica superiori alla soglia limite non causano necessariamente alcun segno visibile di inquinamento (e.g. muffe) nei prodotti di IV gamma (Ragaert *et al.*, 2007; Rico *et al.*, 2007; Abadias *et al.*, 2008). I patogeni più frequentemente riscontrati sono batteri (e.g. *Salmonella* spp., *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *Erwinia* spp.) tra cui quelli lattici (e.g. *Leuconostoc mesenteroides*), virus (e.g. Norwalk, epatite A) e parassiti (e.g. *Cryptosporidium*, *Cyclospora*) con *Salmonella* spp. ed *E. coli* O157:H7 quali maggior cause di malattie alimentari (García-Gimeno e Zurera-Cosano, 1997; Delaquis *et al.*, 1999; Park *et al.*, 2001; Ragaert *et al.*, 2007; Abadias *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2010). Questi, insieme a lieviti e muffe, sono stati isolati in vari prodotti vegetali in seguito a contaminazione primaria e crociata avvenuta durante la coltivazione, la raccolta, la lavorazione/trasformazione o la distribuzione (González-Aguilar *et al.*, 2004; Rico *et al.*, 2007). Nei prodotti di IV gamma inoltre, la crescita microbiologica è influenzata dalla fisiologia stessa della matrice: il danno fisico durante la lavorazione e la preparazione dei prodotti di IV gamma causa incremento della respirazione e variazioni biochimiche: le cellule una volta danneggiate rilasciano le componenti intracellulari (e.g. zuccheri) che costituiscono poi il substrato per lo sviluppo microbico (González-Aguilar *et al.*, 2004; Ragaert *et al.*, 2007; Tomás-Callejas *et al.*, 2011). Si evince quindi che più che un’alta carica microbica sia responsabile di un più rapido deterioramento del prodotto fresco, sia un prodotto deteriorato e danneggiato ad essere responsabile di alte concentrazioni di microrganismi (Zagory, 1999).

7.2. La questione nitrati

I nitrati sono relativamente non tossici ma possono avere effetti negativi per la salute in quanto convertiti in nitriti, che sono più tossici (Pannala *et al.*, 2003). Le reazioni a carico dei nitrati avvengono a contatto con la saliva e nello stomaco ad opera di batteri anaerobi naturalmente presenti e dell’enzima nitrati reductasi, portando alla formazione di nitriti e di acido nitroso (Santamaria *et al.*, 1998; Pannala *et al.*, 2003; Lundberg *et al.*, 2004). La tossicità attribuita a tali composti è dovuta principalmente alla loro reattività con l’emoglobina formando metaemoglobina e la loro possibile reazione a formare composti cancerogeni come nitrosamine e nitrosamide incrementando il rischio di cancro gastrointestinale e metaemoglobinemia (Wolff e Wasserman, 1972; Du *et al.*, 2007). Gli ortaggi sono considerati come la fonte principale di assunzione di nitrati nella dieta ed in particolare quelli a foglia possono accumularne grandi quantità pari al 30-90% della dose giornaliera (Santamaria *et al.*, 1998; Tuncay, 2011). Santamaria (2006) classifica gli ortaggi in funzione del contenuto in nitrati indicando le famiglie *Brassicaceae*, *Chenopodiaceae*, *Amarantaceae*, *Asteraceae* e *Apiaceae* come quelle che tendono ad accumularne di più. L’accumulo di nitrati in tali ortaggi è influenzato da molti fattori tra i quali quelli genetici e morfologici, le condizioni ambientali (e.g. basse temperature e ridotta intensità della luce ne favoriscono l’accumulo) e le pratiche agronomiche (e.g. apporti, soluzioni nutritive, stress idrico) (Wolff e Wasserman, 1972; Santamaria *et al.*, 1998; Kostantopoulou *et al.*, 2010; Tuncay, 2011).

Per queste ragioni il livello massimo di nitrati ammissibili in alcuni ortaggi a foglia è stato da tempo regolamentato e successivamente più volte revisionato. Le indicazioni più recenti (Reg. CE 1258/2011) prevedono limitazioni circa il contenuto di nitrati in lattuga, spinacio e rucola facendo distinzioni in base alla stagione colturale ed al sistema produttivo (Tabella 1).

Negli ultimi decenni sono state condotte molte ricerche al fine di minimizzare l'accumulo di nitrati negli ortaggi agendo sui principali fattori responsabili dell'accumulo (Maršić e Osvald, 2002; Du *et al.*, 2007). Da questo punto di vista, i sistemi colturali fuori suolo ed il loro miglioramento costituiscono un importante strumento per ridurre l'accumulo in quanto permettono il preciso controllo degli apporti (Fontana e Nicola, 2008; Fallovo *et al.*, 2009b). Tuttavia, alcuni autori hanno riportato come i nitrati o i loro derivati ridotti svolgano anche funzioni positive nell'organismo umano in quanto molecole segnale nella regolazione di molte funzioni fisiologiche (Du *et al.*, 2007; Kostantopoulou *et al.*, 2010). Inoltre, i contenuti nelle foglie di un importante pigmento quale la clorofilla sono strettamente legati con quelli dei nitrati (Tuncay, 2011).

Tabella 1 Tenori massimi consentiti di NO₃ (mg/kg) in alcuni prodotti alimentari (Reg. CE 1258/2011).

Prodotti alimentari ⁽¹⁾		Tenori massimi (mg NO ₃ /kg)	
1.1	Spinaci freschi (<i>Spinacia oleracea</i>) ⁽²⁾		3 500
1.2	Spinaci in conserva, surgelati o congelati		2 000
1.3	Lattuga fresca (<i>Lactuca sativa</i> L.) (coltivata in ambiente protetto e in campo aperto), esclusa la lattuga di cui al punto 1.4	Raccolta fra il 1° ottobre e il 31 marzo: lattuga in coltura protetta	5 000
		lattuga coltivata in campo aperto	4 000
		Raccolta fra il 1° aprile e il 30 settembre: lattuga in coltura protetta	4 000
		lattuga coltivata in campo aperto	3 000
1.4	Lattuga di tipo "Iceberg"	lattuga in coltura protetta	2 500
		lattuga coltivata in campo aperto	2 000
1.5	Rucola (<i>Eruca sativa</i> , <i>Diplotaxis</i> sp, <i>Brassica tenuifolia</i> , <i>Sisymbrium tenuifolium</i>)	Raccolta fra il 1° ottobre e il 31 marzo:	7 000
		Raccolta fra il 1° aprile e il 30 settembre:	6 000
1.6	Alimenti a base di cereali e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini ⁽³⁾ ⁽⁴⁾		200*

8. Le tecnologie ed i sistemi per la conservazione dei composti fitochimici

I principali parametri qualitativi dei prodotti di IV gamma come aspetto, contenuto vitaminico e contaminazione microbica possono essere almeno in parte controllati ed influenzati da molteplici trattamenti post raccolta (Watada e Qi, 1999). La ricerca condotta nel settore della IV gamma ha come obiettivo quello di individuare e perfezionare i sistemi volti a rallentare il decadimento qualitativo mantenendo lo stato nutrizionale e limitando lo sviluppo microbico, prolungando quanto più possibile la *shelf-life* (Allende *et al.*, 2004). I trattamenti ed i sistemi che possono essere

utilizzati nel post raccolta per tali scopi sono molteplici (Zhan *et al.*, 2011). Il più importante tra questi è la temperatura che influisce su molti processi metabolici permettendo di ritardare la senescenza e l'ingiallimento dei tessuti favorendo il prolungamento della *shelf-life* (Barry-Ryan e O'Beirne, 1998; Carvalho e Clemente, 2004; Ferrante *et al.*, 2004). Quando la temperatura aumenta da 0 a 10 °C infatti, il tasso di respirazione aumenta sostanzialmente in frutta e verdura e di conseguenza ne aumenta il deterioramento e si consumano i fotosintetati che erano stati immagazzinati durante la crescita (Watada e Qi, 1999). Pertanto, tutte le fasi comprese quelle immediatamente successive la raccolta, dovrebbero essere ottimizzate e la catena del freddo introdotta il più presto possibile al fine di conservare la qualità del prodotto (Hodges e Toivonen, 2008; Zhan *et al.*, 2009). Purtroppo però, in Italia la quasi totalità delle aziende produttrici non è equipaggiata per il condizionamento in campo della materia prima e la catena del freddo è spesso discontinua (Nicola *et al.*, 2006; Zhan *et al.*, 2012a). Ritardi tra la raccolta, il raffreddamento e la lavorazione possono causare deperimenti dovuti a perdita di acqua, di aroma e di componenti nutrizionali e di incremento della contaminazione microbica (Zhan *et al.*, 2009). Tali decadimenti qualitativi sono maggiormente evidenti nei prodotti che mostrano sintomi di appassimento già con ridotte perdite di acqua, come nella maggior parte degli ortaggi a foglia (Zhan *et al.*, 2009). Una bassa temperatura di conservazione (4-8 °C) è probabilmente il fattore più importante sebbene non l'unico nel controllo della carica microbica nei prodotti di IV gamma: riducendola si inibisce buona parte della flora mesofila (Carlin *et al.*, 1990; Jacxsens *et al.*, 2002).

Prevenzione e sanitizzazione sono gli strumenti più importanti per il mantenimento della qualità e della sicurezza nei prodotti di IV gamma (Tomás-Callejas *et al.*, 2011). Al fine di rallentare la crescita microbica, come per il controllo della componente fitochimica e della *shelf-life*, l'uso combinato di più sistemi risulta la strategia migliore in quanto i microrganismi sono in grado di sopravvivere ad alcuni dei trattamenti attuati (Guerzoni *et al.*, 1996; Allende e Artés, 2003a). Buone pratiche di lavorazione, come lame di taglio affilate per ridurre il danno cellulare e acqua di lavaggio fredda con aggiunta di sanitizzanti chimici, possono contribuire alla riduzione della carica microbica (Figura 8) (Guerzoni *et al.*, 1996; Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a; Tomás-Callejas *et al.*, 2011).



Figura 8 Lavaggio di ortaggi a foglia per la IV gamma (www.freshplaza.it).

L'uso del cloro durante il lavaggio dei prodotti di IV gamma risulta un trattamento di *routine* per il controllo della popolazione microbica anche se non del tutto sufficiente per eliminare completamente il rischio legato alla presenza di alcuni microrganismi patogeni come *Listeria monocytogenes* (Baur *et al.*, 2004; Ahn *et al.*, 2005). Nonostante la buona efficacia complessiva, l'economicità e la facilità di impiego la possibile formazione nell'acqua di composti cancerogeni a base cloro ha fatto sorgere alcuni dubbi circa il suo utilizzo (Martín-Diana *et al.*, 2008; Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a). Alternativo al cloro è l'uso di prodotti chimici a diversa efficacia quali perossido di idrogeno, acidi organici (*e.g.* acido perossacetico, acido lattico, acido citrico), trisodio fosfato, etanolo, batteriocine, ozono (anche se costoso), ultrasuoni, luce pulsata e *coating* (Watada *et al.*, 1996; Park *et al.*, 2001; Allende e Artés, 2003a; Soliva-Fortuny e Martín-Belloso, 2003; Martínez-Sánchez *et al.*, 2006a; Ragaert *et al.*, 2007; Martín-Diana *et al.*, 2008). Sta anche aumentando l'uso di luce UV, solitamente in combinazione con altri trattamenti tecnologici di conservazione e dell'irradiazione o della radiazione ionizzata che consentono di combattere con maggior efficacia i microrganismi contaminanti ed i patogeni senza compromettere le proprietà nutrizionali e sensoriali degli alimenti (Allende e Artés, 2003a; Ahn *et al.*, 2005).

I prodotti di IV gamma sono per loro natura confezionati e questo costituisce un punto fondamentale per la conservazione stessa. Frutta e verdura di IV gamma possono infatti modificare l'atmosfera all'interno delle confezioni come risultato della respirazione, con consumo di ossigeno e produzione di anidride carbonica fino a rischiare situazioni di anaerobiosi (*e.g.* O₂ <2% e CO₂ >20%) e quindi di fermentazioni (Jacxsens *et al.*, 2001). Le concentrazioni di O₂ e CO₂ all'interno delle buste di IV gamma sono influenzate da temperatura, quantità di materiale in funzione del volume disponibile, superficie totale del prodotto contenuto, trasmissione e permeabilità ad O₂ e CO₂ del film di confezionamento (Carvalho e Clemente, 2004). Inoltre vi sono significative differenze nel tasso di respirazione sia tra le categorie di prodotto, sia tra le singole

specie e lo stadio fenologico delle stesse (Allende *et al.*, 2004). Recentemente ha iniziato a diffondersi nel settore l'uso di ortaggi a foglia giovane (*baby-leaf*) quali lattuga, spinacio, rucola, valerianella e crescione caratterizzati per avere una minor ossidazione dovuta alla minor superficie di taglio, una minor turgidità della foglie rispetto agli ortaggi a cespo e un più alto tasso di respirazione (Fallovo *et al.*, 2009b; Martínez-Sánchez *et al.*, 2012). Con idonee condizioni di conservazione, il confezionamento con film con determinate caratteristiche fisiche può ritardare il deterioramento migliorando il mantenimento dei nutrienti (Figura 9) (Van de Velde e Hendrickx, 2001).



Figura 9 Confezionamento di ortaggi a foglia per la IV gamma (www.freshplaza.it)

La permeabilità del film utilizzato deve essere sufficiente per permettere un adeguato scambio di O_2 e di CO_2 tra il prodotto confezionato, lo spazio di testa e l'esterno con l'obiettivo di raggiungere uno stato stazionario quando la respirazione bilancia i gas che permeano attraverso il film (Barry-Ryan e O'Beirne, 1998; Van de Velde e Hendrickx, 2001; Kim *et al.*, 2004). Fondamentalmente la tecnologia legata al packaging si basa sul fatto che riducendo la concentrazione di O_2 a valori inferiori 8% e incrementando quella di CO_2 sopra 1% si ritardano e riducono le variazioni biologiche (Van de Velde e Hendrickx, 2001). Un basso contenuto di O_2 può ritardare l'insorgere dell'imbrunimento, rallentare il tasso di respirazione, la crescita microbica e la perdita di colore ma può anche essere responsabile dell'insorgere di odori indesiderati a causa di alterazioni metaboliche e fermentazioni dovute ad anossia (Couture *et al.*, 1993; Gorny, 1997; Gil *et al.*, 1998; Jacxsens *et al.*, 2002; Soliva-Fortuny e Martín-Belloso, 2003; González-Aguilar *et al.*, 2004). In particolare, lo sviluppo di batteri lattici può essere accompagnato dalla produzione di acidi organici come acido lattico ed acetico ed alte concentrazioni di lieviti ($>10^5$ ufc al grammo in peso fresco) possono provocare odori sgradevoli nei prodotti di IV gamma a causa della produzione di CO_2 , etanolo, acidi organici ed esteri volatili (Jacxsens *et al.*, 2003). Le indicazioni relative i contenuti di O_2 e di CO_2 però non sono universali. In letteratura è infatti riportato come alte

concentrazioni di O₂ siano efficaci nell'inibizione dell'attività enzimatica responsabile dell'imbrunimento, nella prevenzione di fermentazioni anaerobiche e di alcune proliferazioni microbiche (Jacxsens *et al.*, 2001, 2003). Tuttavia, il film di confezionamento può essere causa di condensa dell'umidità sulla superficie interna della confezione con conseguente decadimento visivo e gocce che possono costituire il sito di crescita microbica (Watada e Qi, 1999).

Ne consegue che dopo il trattamento termico, la gestione del confezionamento e l'uso di MAP siano considerati gli strumenti più efficaci per estendere la *shelf-life* di prodotti di IV gamma (Gorny, 1997; Van de Velde e Hendrickx, 2001; Kim *et al.*, 2004). MAP consiste in una variazione dell'atmosfera all'interno della confezione come risultato della respirazione della matrice (MAP passivo) o a seguito della rimozione e sostituzione dell'atmosfera all'interno della confezione con una miscela di gas appositamente preparata (MAP attivo) (Oliveira *et al.*, 2010). L'obiettivo è quello di ottenere una concentrazione dei gas stazionaria che corrisponda quanto più possibile all'ottimo di conservazione dei prodotti di IV gamma inducendo generalmente una riduzione del tasso di respirazione e migliori proprietà sensoriali (Barry-Ryan e O'Beirne, 1998; Van de Velde e Hendrickx, 2001; Rico *et al.*, 2007; Arvanitoyannis *et al.*, 2011).

Studi hanno dimostrato come i prodotti di IV gamma reagiscono in modo differente se conservati in condizioni di luce o di buio (Martínez-Sánchez *et al.*, 2011; Zhan *et al.*, 2012b). L'utilizzo della luce durante la conservazione rappresenta un'interessante tecnica in quanto economica, non tossica, priva di residui e più sostenibile dal punto di vista ambientale rispetto a metodi tradizionali (Zhan *et al.*, 2013). È stato riportato come conservando i prodotti di IV gamma a foglia in condizioni di luce si possa prevenire la perdita di AA e di altri composti fitochimici (*e.g.* polifenoli) migliorando la capacità antiossidante, inattivare alcuni enzimi responsabili dell'imbrunimento e incrementare il contenuto di zuccheri solubili, mentre in condizioni di buio si eviti l'ingiallimento delle foglie e la perdita di peso (Noichinda *et al.*, 2007; Martínez-Sánchez *et al.*, 2011; Zhan *et al.*, 2013).

9. Conclusioni

La ricerca nei prodotti di IV gamma rappresenta un elemento fondamentale per il successo dell'intero settore. Nonostante l'ampia diffusione ed i buoni standard qualitativi, nutrizionali e di *safety* alimentare fino ad ora ottenuti, sono ancora molti i punti critici e le debolezze all'interno del processo produttivo. La continua innovazione nel processo e nel prodotto può essere volta all'inserimento di nuove specie o all'incremento della *convenience*, senza mai perdere di vista l'obiettivo *shelf-life*. In tale ottica è auspicabile un'implementazione della catena del freddo e degli studi di fisiologia vegetale per meglio capire le cinetiche delle reazioni metaboliche che avvengono a livello cellulare.

Bibliografia

- Abadias, M., Usall, J., Anguera, M., Solsona, C., Viñas, I., 2008. Microbiological quality of fresh, minimally-processed fruit and vegetables, and sprouts from retail establishments. *Int. J. Food Microbiol.* 123, 121–129.
- Ahn, H.-J., Kim, J.-H., Kim, D.-H., Yook, H.-S., Byun, M.-W., 2005. Combined effects of irradiation and modified atmosphere packaging on minimally processed Chinese cabbage (*Brassica rapa* L.). *Food Chem.* 89, 589–597.
- Allende, A., Artés, F., 2003a. Combined ultraviolet-C and modified atmosphere packaging treatments for reducing microbial growth of fresh processed lettuce. *Lebensm. Wiss. Technol.* 36, 779–786.
- Allende, A., Artés, F., 2003b. UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed 'Lollo Rosso' lettuce. *Food Res. Int.* 36, 739–746.
- Allende, A., Luo, Y., McEvoy, J.L., Artés, F., Wang, C.Y., 2004. Microbial and quality changes in minimally processed baby spinach leaves stored under super atmospheric oxygen and modified atmosphere conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 33, 51–59.
- Altunkaya, A., Gökmen, V., 2012. Effect of grape seed extract on phenolic profile and browning of fresh-cut lettuce (*L. sativa*). *J. Food Biochem.* 36, 268–274.
- Ares, G., Martínez, I., Lareo, C., Lema, P., 2008. Failure criteria based on consumers' rejection to determine the sensory shelf life of minimally processed lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 49, 255–259.
- Arvanitoyannis, I.S., Bouletis, A.D., Papa, E.A., Gkagtzis, D.C., Hadjichristodoulou, C., Papaloucas, C., 2011. Microbial and sensory quality of "Lollo verde" lettuce and rocket salad stored under active atmosphere packaging. *Anaerobe* 17, 307–309.
- Barillari, J., Canistro, D., Paolini, M., Ferroni, F., Pedulli, G.F., Iori, R., Valgimigli, L., 2005. Direct antioxidant activity of purified glucorucin, the dietary secondary metabolite contained in rocket (*Eruca sativa* Mill.) seeds and sprouts. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2475–2482.
- Barry-Ryan, C., O'Beirne, D., 1998. Ascorbic acid retention in shredded iceberg lettuce as affected by minimal processing. *J. Food Sci.* 64, 498–500.
- Baslam, M., Morales, F., Garmendia, I., Goicoechea, N., 2013. Nutritional quality of outer and inner leaves of green and red pigmented lettuces (*Lactuca sativa* L.) consumed as salads. *Sci. Hortic.* 151, 103–111.
- Baur, S., Klaiber, R.G., Koblo, A., Carle, R., 2004. Effect of different washing procedures on phenolic metabolism of shredded, packaged iceberg lettuce during storage. *J. Agric. Food Chem.* 52, 7017–7025.
- Brat, P., Georgé, S., Bellamy, A., Du Chaffaut, L., Scalbert, A., Mennen, L., Arnault, N., Amiot, M.J., 2006. Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. *J. Nutr.* 136, 2368–2373.
- Buchanan, D.N., Omaye, S.T., 2013. Comparative study of ascorbic acid and tocopherol concentrations in hydroponic- and soil-grown lettuces. *Food and Nutrition Sciences.* 4, 1047–1053.
- Caldwell, C.R., 2003. Alkylperoxyl radical scavenging activity of red leaf lettuce (*Lactuca sativa* L.) phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 51, 4589–4595.
- Campos, R., Nonogaki, H., Suslow, T., Saltveit, M.E., 2004. Isolation and characterization of a wound inducible phenylalanine ammonia-lyase gene (*LsPAL1*) from Romaine lettuce leaves. *Physiol. Plant.* 121, 429–438.

- Cantos, E., Espín, J.C., Tomás-Barberán, F.A., 2001. Effect of wounding on phenolic enzymes in six minimally processed lettuce cultivars upon storage. *J. Agric. Food Chem.* 49, 322–330.
- Carlin, F., Nguyen-The, C., Chambroy, Y., Reich, M., 1990. Effects of controlled atmospheres on microbial spoilage, electrolyte leakage and sugar content of fresh 'ready-to-use' grated carrots. *Int. J. Food Sci. Tech.* 25, 110–119.
- Carr, A.C., Frei, B., 1999. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 69, 1086–107.
- Cartea, M.E., Francisco, M., Soengas, P., Velasco, P., 2011. Phenolic compounds in *Brassica* vegetables. *Molecules* 16, 251–280.
- Carvalho, P.D.T., Clemente, E., 2004. The influence of the broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) fill weight on postharvest quality. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas* 24, 646–651.
- CE, 2011. Regolamento (UE) N. 1258/2011 della Commissione del 2 dicembre 2011 che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 per quanto concerne i tenori massimi ammissibili di nitrati nei prodotti alimentari (Testo rilevante ai fini del SEE). *O. J. L320*, 15–17.
- Chisari, M., Todaro, A., Barbagallo, R.N., Spagna, G., 2010. Salinity effects on enzymatic browning and antioxidant capacity of fresh-cut baby Romaine lettuce (*Lactuca sativa* L. cv. Duende). *Food Chem.* 119, 1502–1506.
- Conte, A., Conversa, G., Scrocco, C., Brescia, I., Laverse, J., Elia, A., Del Nobile, M.A., 2008. Influence of growing periods on the quality of baby spinach leaves at harvest and during storage as minimally processed produce. *Postharvest Biol. Technol.* 50, 190–196.
- Couture, R., Cantwell, M.I., Ke, D., Saltveit, Jr., M.E., 1993. Physiological attributes related to quality attributes and storage life of minimally processed lettuce. *HortScience* 28, 723–725.
- Cruz, R.M.S., Vieira, M.C., Silva, C.L.M., 2008. Effect of heat and thermosonication treatments on watercress (*Nasturtium officinale*) vitamin C degradation kinetics. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9, 483–488.
- Decreto attuativo, 2014. Decreto attuativo del 20 giugno 2014, n. 3746 Attuazione dell'art. 4 della legge 13 maggio 2011 n. 77, recante disposizioni concernenti la preparazione, il confezionamento e la distribuzione dei prodotti ortofrutticoli di quarta gamma. N 0003746.
- Deg'Innocenti, E., Guidi, L., Pardossi, A., Tognoni, F., 2005. Biochemical study of leaf browning in minimally processed leaves of lettuce (*Lactuca sativa* L. Var. *Acephala*). *J. Agric. Food Chem.* 53, 9980–9984.
- Deg'Innocenti, E., Pardossi, A., Tognoni, F., Guidi, L., 2007. Physiological basis of sensitivity to enzymatic browning in 'lettuce', 'escarole' and 'rocket salad' when stored as fresh-cut products. *Food Chem.* 104, 209–215.
- Delaquis, P.J., Stewart, S., Toivonen, P.M.A., Moyls, A.L., 1999. Effect of warm, chlorinated water on the microbial flora of shredded iceberg lettuce. *Food Res. Int.* 32, 7–14.
- Doğan, S., Diken, M.E., Turhan, Y., Alan, Ü., Doğan, M., Alkan, M., 2011. Characterization and inhibition of *Rosmarinus officinalis* L. polyphenoloxidase. *Eur. Food Res. Technol.* 233, 293–301.
- Dogan, S., Dogan, M., 2004. Determination of kinetic properties of polyphenol oxidase from *Thymus* (*Thymus longicaulis* subsp. *chaubardii* var. *chaubardii*). *Food Chem.* 88, 69–77.
- Doğan, S., Salman, Ü., 2007. Partial characterization of lettuce (*Lactuca sativa* L.) polyphenol oxidase. *Eur. Food Res. Technol.* 226, 93–103.
- Du, S.-T., Zhang, Y.-S., Lin, X.-Y., 2007. Accumulation of nitrate in vegetables and its possible implications to human health. *Agric. Sci. China* 6, 1246–1255.
- Falovo, C., Roupheal, Y., Cardarelli, M., Rea, E., Battistelli, A., Colla, G., 2009a. Yield and quality of leafy lettuce in response to nutrient solution composition and growing season. *J. Food Environ.* 7, 456–462.

- Fallico, C., Roupheal, Y., Rea, E., Battistelli, A., Colla, G., 2009b. Nutrient solution concentration and growing season affect yield and quality of *Lactuca sativa* L. var. *acephala* in floating raft culture. *J. Sci. Food Agric.* 89, 1682–1689.
- Ferrante, A., Incrocci, L., Maggini, R., Serra, G., Tognoni, F., 2004. Colour changes of fresh-cut leafy vegetables during storage. *J. Food Agric. Environ.* 2, 40–44.
- Fontana, E., Nicola, S., 2008. Producing garden cress (*Lepidium sativum* L.) for the fresh-cut chain using a soilless culture system. *J. Hortic. Sci. Biotech.* 83, 23–32.
- García-Gimeno, R.M., Zurera-Cosano, G., 1997. Determination of ready-to-eat vegetable salad shelf-life. *Int. J. Food Microbiol.* 36, 31–38.
- Garrett, E.H., Gorny, J.R., Beuchat, L.R., Farber, J.N., Harris, L.J., Parish, M.E., Suslow, T.V., Busta, F.F., 2003. Microbiological safety of fresh and fresh-cut produce: description of the situation and economic impact. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2, 13–37.
- Gil, M.I., Castañer, M., Ferreres, F., Artés, F., Tomás-Barberán, F.A., 1998. Modified-atmosphere packaging of minimally processed “Lollo Rosso” (*Lactuca sativa*). Phenolic metabolites and quality changes. *Z. Lebensm. Unters. F. A.* 206, 350–354.
- González-Aguilar, G.A., Ayala-Zavala, J.F., Ruiz-Cruz, S., Acedo-Félix, E., Díaz-Cinco, M.E., 2004. Effect of temperature and modified atmosphere packaging on overall quality of fresh-cut bell peppers. *Lebensm. Wiss. Technol.* 37, 817–826.
- Gorny, J.R., 1997. Modified atmospheres packaging and the fresh-cut revolution. *Perishables Handl. Newsl.* 90, 4–5.
- Grzegorzewski, F., Rohn, S., Kroh, L.W., Geyer, M., Schlüter, O., 2010. Surface morphology and chemical composition of lamb’s lettuce (*Valerianella locusta*) after exposure to a low-pressure oxygen plasma. *Food Chem.* 122, 1145–1152.
- Guerzoni, M.E., Gianotti, A., Corbo, M.R., Sinigaglia, M., 1996. Shelf-life modelling for fresh-cut vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 9, 195–207.
- Hodges, D.M., Toivonen, P.M.A., 2008. Quality of fresh-cut fruits and vegetables as affected by exposure to abiotic stress. *Postharvest Biol. Technol.* 48, 155–162.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Debevere, J., 1999. Validation of a systematic approach to design equilibrium modified atmosphere packages for fresh-cut produce. *Lebensm. Wiss. Technol.* 32, 425–432.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Debevere, J., 2002. Temperature dependence of shelf-life as affected by microbial proliferation and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh produce. *Postharvest Biol. Technol.* 26, 59–73.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Ragaert, P., Vanneste, E., Debevere, J., 2003. Relation between microbiological quality, metabolite production and sensory quality of equilibrium modified atmosphere packaged fresh-cut produce. *Int. J. Food Microbiol.* 83, 263–280.
- Jacxsens, L., Devlieghere, F., Van der Steen, C., Debevere, J., 2001. Effect of high oxygen modified atmosphere packaging on microbial growth and sensorial qualities of fresh-cut produce. *Int. J. Food Microbiol.* 71, 197–210.
- Kalt, W., 2005. Effects of production and processing on major fruit and vegetable antioxidants. *J. Food Sci.* 70, 11–19.
- Kang, H.-M., Saltveit, M.E., 2002. Antioxidant capacity of lettuce leaf tissue increases after wounding. *J. Agric. Food Chem.* 50, 7536–7541.
- Kim, J.G., Luo, Y., Gross, K.C., 2004. Effect of package film on the quality of fresh-cut salad savoy. *Postharvest Biol. Technol.* 32, 99–107.
- Konstantopoulou, E., Kapotis, G., Salachas, G., Petropoulos, S.A., Karapanos, I.C., Passam, H.C., 2010. Nutritional quality of greenhouse lettuce at harvest and after storage in relation to N application and cultivation season. *Sci. Hortic.* 125, 93.e1–93.e5.

- Lee, S.K., Kader, A.A., 2000. Preharvest and postharvest factors influencing vitamin C content of horticultural crops. *Postharvest Biol. Technol.* 20, 207–220.
- Legge, 2011. Legge del 13 maggio 2011, n. 77 Disposizioni concernenti la preparazione, il confezionamento e la distribuzione dei prodotti ortofrutticoli di quarta gamma. (11G0118).
- Loaiza-Velarde, J.G., Saltveit, M.E., 2001. Heat shocks applied either before or after wounding reduce browning of lettuce leaf tissue. *J. Amer. Soc. Hortic. Sci.* 126, 227–234.
- López-Ayerra, B., Murcia, M.A., Garcia-Carmona, F., 1998. Lipid peroxidation and chlorophyll levels in spinach during refrigerated storage and after industrial processing. *Food Chem.* 61, 113–118.
- López-Gálvez, G., Saltveit, M., Cantwell, M., 1996. Wound-induced phenylalanine ammonia lyase activity: factors affecting its induction and correlation with the quality of minimally processed lettuces. *Postharvest Biol. Technol.* 9, 223–233.
- Lundberg, J.O., Weitzberg, E., Cole, J.A., Benjamin, N., 2004. Nitrate, bacteria and human health. *Microbiology* 2, 593–602.
- Maršić, N.K., Osvald, J., 2002. Effects of different nitrogen levels on lettuce growth and nitrate accumulation in Iceberg lettuce (*Lactuca sativa* var. *capitata* L.) grown hydroponically under greenhouse conditions. *Gartenbauwissenschaft* 67, 128–134.
- Martín-Diana, A.B., Rico, D., Barry-Ryan, C., 2008. Green tea extract as a natural antioxidant to extend the shelf-life of fresh-cut lettuce. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 9, 593–603.
- Martínez-Sánchez, A., Allende, A., Bennett, R.N., Ferreres, F., Gil, M.I., 2006a. Microbial, nutritional and sensory quality of rocket leaves as affected by different sanitizers. *Postharvest Biol. Technol.* 42, 86–97.
- Martínez-Sánchez, A., Luna, M.C., Selma, M.V., Tudela, J.A., Abad, J., Gil, M.I., 2012. Baby-leaf and multi-leaf of green and red lettuces are suitable raw materials for the fresh-cut industry. *Postharvest Biol. Technol.* 63, 1–10.
- Martínez-Sánchez, A., Marín, A., Llorach, R., Ferreres, F., Gil, M.I., 2006b. Controlled atmosphere preserves quality and phytonutrients in wild rocket (*Diplotaxis tenuifolia*). *Postharvest Biol. Technol.* 40, 26–33.
- Martínez-Sánchez, A., Tudela, J.A., Luna, C., Allende, A., Gil, M.I., 2011. Low oxygen levels and light exposure affect quality of fresh-cut Romaine lettuce. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 34–42.
- Medina, M.S., Tudela, J.A., Marín, A., Allende, A., Gil, M.I., 2012. Short postharvest storage under low relative humidity improves quality and shelf life of minimally processed baby spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Postharvest Biol. Technol.* 67, 1–9.
- Mousavizadeh, S.J., Sedaghatthoor, S., 2011. Peroxidase activity in response to applying natural antioxidant of essential oils in some leafy vegetables. *Aust. J. Crop Sci.* 5, 494–499.
- Muriel-Galet, V., Cerisuelo, J.P., López-Carballo, G., Lara, M., Gavara, R., Hernández-Muñoz, P., 2012. Development of antimicrobial films for microbiological control of packaged salad. *Int. J. Food Microbiol.* 157, 195–201.
- Nicola, S., Fontana, E., 2007. Cultivation management on the farm influences postharvest quality and safety. *Acta Hort.* 746, 273–280.
- Nicola, S., Fontana, E., Tibaldi, G., Zhan, L., 2010. Qualitative and physiological response of minimally processed rocket (*Eruca sativa* Mill.) to package filling amount and shelf-life temperature. *Acta Hort.* 877, 611–618.
- Nicola, S., Fontana, E., Torassa, C., Hoeberechts, J., 2006. Fresh-cut produce: postharvest critical issues. *Acta Hort.* 712, 223–230.
- Noichinda, S., Bodhipadma, K., Mahamontri, C., Narongruk, T., Ketsa, S., 2007. Light during storage prevents loss of ascorbic acid, and increases glucose and fructose levels in Chinese kale (*Brassica oleracea* var. *alboglabra*). *Postharvest Biol. Technol.* 44, 312–315.

- Ollveira, M., Usall, J., Solsona, C., Alegre, I., Viñas, I., Abadias, M., 2010. Effects of packaging type and storage temperature on the growth of foodborne pathogens on shredded 'Romaine' lettuce. *Food Microbiol.* 27, 375–380.
- Pannala, A.S., Mani, A.R., Spencer, J.P.E., Skinner, V., Bruckdorfer, K.R., Moore, K.P., Rice-Evans, C.A., 2003. The effect of dietary nitrate on salivary, plasma, and urinary nitrate metabolism in humans. *Free Radical Biol. Med.* 34, 576–584.
- Park, C.-M., Hung, Y.-C., Doyle, M.P., Ezeike, G.O.I., Kim, C., 2001. Pathogen reduction and quality of lettuce treated with electrolyzed oxidizing and acidified chlorinated water. *J. Food Sci.* 66, 1368–1372.
- Piagentini, A.M., Mendez, J.C., Guemes, D.R., Pirovani, M.E., 2005. Modeling changes of sensory attributes for individual and mixed fresh-cut leafy vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 38, 202–212.
- Pirovani, M.E., Güemes, D.R., Piagentini, A.M., di Pentima, J.H., 1997. Storage quality of minimally processed cabbage packaged in plastic films. *J. Food Qual.* 20, 381–389.
- Ragaert, P., Devlieghere, F., Debevere, J., 2007. Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. *Postharvest Biol. Technol.* 44, 185–194.
- Rico, D., Martin-Diana, A.B., Barat, J.M., Barry-Ryan, C., 2007. Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 18, 373–386.
- Rojas-Graü, M.A., Soliva-Fortuny, R., Martín-Belloso, O., 2008. Effect of natural antibrowning agents on color and related enzymes in fresh-cut Fuji apples as an alternative to the use of ascorbic acid. *J. Food Sci.* 73, 267–272.
- Saltveit, M.E., 2000. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. *Postharvest Biol. Technol.* 21, 61–69.
- Santamaria, P., 2006. Review. Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *J. Sci. Food Agric.* 86, 10–17.
- Santamaria, P., Elia, A., Parente, A., Serio, F., 1998. Fertilization strategies for lowering nitrate content in leafy vegetables: chicory and rocket salad cases. *J. Plant Nutr.* 21, 1791–1803.
- Santos, J., Mendiola, J.A., Oliveira, M.B.P.P., Ibáñez, E., Herrero, M., 2012. Sequential determination of fat- and water-soluble vitamins in green leafy vegetables during storage. *J. Chromatogr. A.* 1261, 179–188.
- Scalbert, A., Williamson, G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J. Nutr.* 130, 2073s–2085s.
- Scuderi, D., Restuccia, C., Chisari, M., Barbagallo, R.N., Caggia, C., Giuffrida, F., 2011. Salinity of nutrient solution influences the shelf-life of fresh-cut lettuce grown in floating system. *Postharvest Biol. Technol.* 59, 132–137.
- Selma, M.V., Luna, M.C., Martínez-Sánchez, A., Tudela, J.A., Beltrán, D., Baixauli, C., Gil, M.I., 2012. Sensory quality, bioactive constituents and microbiological quality of green and red fresh-cut lettuces (*Lactuca sativa* L.) are influenced by soil and soilless agricultural production systems. *Postharvest Biol. Technol.* 63, 16–24.
- Soliva-Fortuny, R.C., Martín-Belloso, O., 2003. New advances in extending the shelf-life of fresh-cut fruits: a review. *Trends Food Sci. Technol.* 14, 341–353.
- Subramanian, N., Venkatesh, P., Ganguli, S., Sinkar, V.P., 1999. Role of polyphenol oxidase and peroxidase in the generation of black tea theaflavins. *J. Agric. Food Chem.* 47, 2571–2578.
- Svilaas, A., Sakhi, A.K., Andersen, L.F., Svilaas, T., Ström, E.C., Jacobs, Jr., D.R., Ose, L., Blomhoff, R., 2004. Intakes of antioxidants in coffee, wine, and vegetables are correlated with plasma carotenoids in humans. *J. Nutr.* 562–567.

- Tavarini, S., Degl'Innocenti, E., Pardossi, A., Guidi, L., 2007. Biochemical aspects in two minimally processed lettuces upon storage. *Int. J. Food Sci. Tech.* 42, 214–219.
- Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Castañer, M., Artés, F., Saltveit, M.E., 1997. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce. *J. Agric. Food Chem.* 45, 583–589.
- Tomás-Callejas, A., López-Velasco, G., Camacho, A.B., Artés, F., Artés-Hernández, F., Suslow, T.V., 2011. Survival and distribution of *Escherichia coli* on diverse fresh-cut baby leafy greens under preharvest through postharvest conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 151, 216–222.
- Tuncay, Ö., 2011. Relationships between nitrate, chlorophyll and chromaticity values in rocket salad and parsley. *African J. Biotechnol.* 10, 17152–17159.
- Van de Velde, M.D., Hendrickx, M.E., 2001. Influence of storage atmosphere and temperature on quality evolution of cut Belgian endives. *Sens. Nutr. Qual. Food Infl.* 66, 1212–1218.
- Vicente, A.R., Manganaris, G.A., Sozzi, G.O., Crisosto, C.H., 2009. Nutritional quality of fruits and vegetables. In: Florkowski, W.J., Shewfelt, R., Brueckner, B., Prussia, S.E. (Eds.), *Postharvest Handling: A Systems Approach*. Elsevier B.V., San Diego, USA, pp. 57–106.
- Vinson, J.A., Hao, Y., Su, X., Zubik, L., 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J. Agric. Food Chem.* 46, 3630–3634.
- Wang, H., Cao, G., Prior, R.L., 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44, 701–705.
- Watada, A.E., Ko, N.P., Minott, D.A., 1996. Factors affecting quality of fresh-cut horticultural products. *Postharvest Biol. Technol.* 9, 115–125.
- Watada, A.E., Qi, L., 1999. Quality of fresh-cut produce. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 201–205.
- Wills, R.B.H., Wimalasiri, P., Greenfield, H., 1984. Dehydroascorbic acid levels in fresh fruit and vegetables in relation to total vitamin C activity. *J. Agric. Food Chem.* 32, 836–838.
- Wolff, I.A., Wasserman, A.E., 1972. Nitrates, nitrites, and nitrosamines. *Science* 177, 15–19.
www.freshplaza.it.
- Yamauchi, N., Watada, A.E., 1993. Pigment changes in parsley leaves during storage in controlled or ethylene containing atmosphere. *J. Food Sci.* 58, 616–618.
- Zagory, D., 1999. Effects of post-processing handling and packaging on microbial populations. *Postharvest Biol. Technol.* 15, 313–321.
- Zhan, L., Fontana, E., Tibaldi, G., Nicola, S., 2009. Qualitative and physiological response of minimally processed garden cress (*Lepidium sativum* L.) to harvest handling and storage conditions. *J. Food, Agric. Environ.* 7, 43–50.
- Zhan, L., Hu, J., Li, Y., Pang, L., 2012a. Combination of light exposure and low temperature in preserving quality and extending shelf-life of fresh-cut broccoli (*Brassica oleracea* L.). *Postharvest Biol. Technol.* 72, 76–81.
- Zhan, L., Hu, J., Lim, L.-T., Pang, L., Li, Y., Shao, J., 2013. Light exposure inhibiting tissue browning and improving antioxidant capacity of fresh-cut celery (*Apium graveolens* var. dulce). *Food Chem.* 141, 2473–2478.
- Zhan, L., Hu, J., Zhu, Z., 2011. Shelf life extension of minimally processed water caltrop (*Trapa acornis* Nakano) fruits coated with chitosan. *Int. J. Food Sci. Tech.* 46, 2634–2640.
- Zhan, L., Li, Y., Hu, J., Pang, L., Fan, H., 2012b. Browning inhibition and quality preservation of fresh-cut romaine lettuce exposed to high intensity light. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 14, 70–76.