

INDICE

RIASSUNTO	1
SUMMARY	2
RINGRAZIAMENTI	3
CAPITOLO 1 –INTRODUZIONE	4
1.1 FARMACI - ALIMENTI – SALUTE	5
1.2 ALIMENTI FUNZIONALI E NOVEL FOOD	6
1.3 PIANTE PER NUOVI ALIMENTI NUTRACEUTICI	8
1.4 FIORI COME ALIMENTO	10
1.5 ASPETTI SALUTISTICI DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE VEGETALE	12
1.5.1 Antiossidanti	
1.5.2 Vitamina C	
1.5.3 Carboidrati solubili	
1.5.4 Acidi organici	
1.6 ASPETTI DI SICUREZZA	20
1.6.1 Fitofarmaci	
1.6.2 Micotossine	
1.6.3 Metalli pesanti	
1.7 TECNOLOGIE POST-RACCOLTA	26
1.8 STABILIZZAZIONE DELLE CONSERVE VEGETALI	29
1.8.1 Classificazione merceologica delle conserve vegetali	
1.8.2 Conserve e semiconserve	
1.8.3 Stabilizzazione microbiologica mediante trattamenti termici	
1.8.4 Conservazione mediante uso dello zucchero	
1.9 RUOLO DEL SACCAROSIO NELLA DIETA	33
CAPITOLO 2 - SCOPO DELLA TESI	35
CAPITOLO 3 - MATERIALI E METODI	38
3.1 PIANO SPERIMENTALE PER LA VALUTAZIONE DELLA MATERIA PRIMA	39
3.2 STRUMENTAZIONE	40
3.2.1 HPLC	
3.2.2 SPETTROFOTOMETRO	
3.2.3 EPR	
3.3 ANALISI CHIMICO-FISICHE SULLA MATERIA PRIMA	42
3.3.1 Contenuto in solidi solubili (SSC)	

3.3.2	pH, acidità titolabile (TA)	
3.3.3	Acidi organici	
3.3.4	Carboidrati solubili	
3.4	ANALISI BIOCHIMICHE E ATTIVITA' ANTIOSSIDANTE SULLA MATERIA PRIMA	46
3.4.1	Vitamina C totale	
3.4.2	Polifenoli totali	
3.4.3	Antociani totali	
3.4.4	Test antiossidanti: sale di Fremy e DPPH	
3.4.5	Identificazione di molecole bio-attive	
3.5	ELABORAZIONE STATISTICA DEI DATI	55
3.6	PREPARAZIONE DELLA MISCELA-BASE	57
3.7	PROTOCOLLI DI STABILIZZAZIONE TERMICA	58
3.8	PIANO SPERIMENTALE PER LE VALUTAZIONI DEL SEMILAVORATO	59
3.9	ANALISI FISICO-CHIMICHE DEL SEMILAVORATO	61
3.9.1	pH, acidità titolabile (TA), contenuto in solidi solubili (SSC), attività dell'acqua (Aw) sostanza secca (s.s. %)	
3.9.2	Viscosità	
3.9.3	Colore	
3.10	ANALISI MICROBIOLOGICHE DEL SEMILAVORATO	63
3.10.1	Fasi preparatorie dei campioni	
3.10.2	Conte microbiche	
3.11	ANALISI NUTRACEUTICHE DEL SEMILAVORATO	65
3.11.1	Polifenoli totali	
3.11.2	Antociani totali	
3.12	FORMULAZIONE PER YOGURT COMMERCIALE	66
3.12.1	Analisi fisico-chimiche dei campioni di yogurt	
3.12.2	Analisi microbiologiche dei campioni di yogurt	
3.12.3	Analisi sensoriale dello yogurt formulato	
	CAPITOLO 4 – RISULTATI E DISCUSSIONE (MATERIA PRIMA)	69
4.1	SCELTA DELLE CULTIVAR DI ROSE DA INCLUDERE NELLO STUDIO	70
4.2	ANALISI ESEGUITE SULLE CULTIVAR DI ROSA	72
4.2.1	Contenuto in solidi solubili (SSC), pH, acidità titolabile (TA)	
1.	Rose Inglesi	
2.	Rose Coprisuolo	
3.	Rose Antiche	
4.	Confronto fra i 3 gruppi di rose	
4.2.2	Acidi organici	75
1.	Rose Inglesi	

	2.	Rose Coprisuolo	
	3.	Rose Antiche	
	4.	Confronto fra i 3 gruppi di rose	
4.2.3		Carboidrati solubili	78
	1.	Rose Inglesi	
	2.	Rose Coprisuolo	
	3.	Rose Antiche	
	4.	Confronto fra i 3 gruppi di rose	
4.2.4		Vitamina C totale	82
	1.	Rose Inglesi	
	2.	Rose Coprisuolo	
	3.	Rose Antiche	
	4.	Confronto fra i 3 gruppi di rose	
4.2.5		Polifenoli totali e test antiossidanti del DPPH e del sale di Fremy	85
	1.	Rose Inglesi	
	2.	Rose Coprisuolo	
	3.	Rose Antiche	
	4.	Confronto fra i 3 gruppi di rose	
4.3		ELABORAZIONE STATISTICA DELLE ANALISI CHIMICO-FISICHE E BIOCHIMICHE	94
	4.3.1	Analisi delle componenti principali (PCA)	
	4.3.2	Analisi discriminante	
	4.3.3	Considerazioni sui risultati della PCA e dell'analisi discriminante	
4.4		DISCUSSIONE DEI RISULTATI DELLE ANALISI CHIMICO-FISICHE	104
4.5		DISCUSSIONE DEI RISULTATI DELLE ANALISI BIOCHIMICHE	106
4.6		RISULTATI DELLE PROVE DI IDENTIFICAZIONE DI MOLECOLE BIO-ATTIVE	108
5		CAPITOLO 5 – RISULTATI E DISCUSSIONE (SEMILAVORATO)	112
5.1		SCELTA DELLE CULTIVAR DI ROSA DA UTILIZZARE PER LA PREPARAZIONE DEL SEMILAVORATO	113
5.2		PROFILO ANIOSSIDANTE DELLE CULTIVAR DI ROSA UTILIZZATE PER LA PREPARAZIONE DEL SEMILAVORATO	114
5.3		SCELTA DELLA QUANTITA' DI MATERIA PRIMA PER LA FORMULAZIONE DELLA MISCELA-BASE	116
5.4		SCELTA DEI METODI DI STABILIZZAZIONE	117
5.5		PARAMETRI QUALITATIVI TECNOLOGICI	118
5.6		ANALISI MICROBIOLOGICHE DURANTE LA <i>SHELF-LIFE</i>	122
5.7		ANALISI DEI CONTENUTI NUTRACEUTICI	124
5.8		FORMULAZIONE PER YOGURT BASE COMMERCIALE	127

5.8.1	Valutazioni chimico-fisiche	128
5.8.2	Analisi microbiologiche durante la <i>shelf-life</i>	129
5.9	ANALISI SENSORIALE DELLO YOGURT FORMULATO	132
5.10	DISCUSSIONE FINALE DEI RISULTATI	134
CAPITOLO 6– CONCLUSIONI		138
CAPITOLO 7 – RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI		142

SUMMARY

The aim of this PHD project was to study the suitability of flowers as nutraceutical, technological and healthy sources, in order to produce a new food ingredient.

A case study for the research, the *Rosa* botanical species was chosen, because the petals are rich in nutritional compounds and are normally used in gastronomical and phytotherapeutic field. However the scientific information about their chemical-nutritional and technological properties are, at the moment, fragmentary, in particular because the use of roses as food ingredients are very unconventional. For this reason we prefer to pinpoint the innovative characteristics of this study. A particular aspect of the study was related to the ways to produce and obtain raw material. The roses were cultivated in a protected, natural and chemical, phytochemical free environment. The organic cultivation of flowers for nutritional use, could encourage a new kind of vegetable production in a sector where, normally, the use of pesticides is absolutely necessary.

The first scientific step of the study was the chemical characterization of the organically grown roses varieties both as raw material and during processing, in order to obtain an ingredient suitable for several destinations. In this case, there is also a lack of scientific literature regarding chemical and biochemical properties of ingredients, or final products, obtained directly from floricultural matrix (not from flower extracts or by-products).

One of the targets of this research was to realize a formulation of an ingredient, rose petal based, for basic food like yogurt, that is in itself considered a functional food.

The floricultural matrix could offer interesting opportunities not only for garden nurseries or organic flower producers, but also in order to diversify the yogurt production. In this case, in fact, the dairy makers could combine the benefits of the bio-active compound of the flowers with the well known beneficial contribution of the yogurt. The relationship between technological processing of the petals, their phase composition and chemical, microbiological, functional characteristics of the new ingredient, were studied. In particular, for raw material quality evaluation, specific analytical protocols were established, in order to determine chemical-nutritional and nutraceutical parameters,

Nutraceutical composition of the flowers was focused both in terms of specific molecules or antioxidant compound groups such as: ascorbic acid, polyphenols, total anthocyanins and also in terms of antiradical activity, expressed as *scavenger* effect. DPPH and Fremy' salt, methods, were the most representative analytical ways used for these determinations.

The correct composition of vegetable ingredient (rose petals), in the model mixture under study, was accurately calculate and tested in various attempts. Then this innovative formulation was stabilized microbiologically by applying a specific and targeted thermal treatment. The same analysis carried out on raw material (extraction and characterization of the bio-active compounds), were carried out before and after thermal treatment to evaluating base-flowers-mixture. The analytical indices (including microbial analysis) above described and targeted sensory evaluation test, were also organized for the prepared flower yogurt. In particular, sensorial analysis was carried out following descriptive methods. The trained panel was asked to evaluate intensity of the "new product" typical parameters, such as, color, perfume, flavor, texture, etc.

A critical aspect of the research was the difficulty to obtain and receive suitable raw material. In fact, at the moment the organic cultivation of flowers (specially organic roses destined for nutrition) doesn't exist in Italy. Only through a special network of information (web site, etc) was it possible to find a flower producer, working organically. Other samples of organic roses were available from private collectors and agricultural research institutes involved in flower cultivation.

CAPITOLO 1
INTRODUZIONE

1.4 FIORI COME ALIMENTO

Nel corso dei secoli, i fiori hanno sempre rappresentato una parte importante nelle gastronomie delle varie culture come la cucina cinese che ha incluso crisantemi, gigli e fiori di loto a partire da oltre sei secoli, o gli antichi romani che utilizzavano rose e violette per profumare e insaporire le pietanze servite nei banchetti importanti. Attualmente in Italia si utilizzano i girasoli per ricavarne l'olio, i fiori di zucca nelle minestre e nei risotti, i fiori di zuccina e di acacia in pastella, in Corea si cucinano dolci fritti coperti con petali di azalea e in Giappone i fiori di ravizzone vengono solitamente usati nelle insalate e nelle minestre (Corea, impiego dei fiori in cucina). Lo zafferano, ottenuto dagli stammi dell'omonimo fiore, è comunemente utilizzato per risotti e piatti esotici come il cous cous; la vaniglia, ricavata dai baccelli di un'orchidea originaria del Messico, è solitamente impiegata per aromatizzare dolci, specialmente torte, così come l'estratto dei fiori d'arancio; infine un utilizzo ancora più diffuso è quello delle tisane come camomilla e malva.



Praline alla rosa



Insalata con violette e lavanda

Negli ultimi anni si è considerata con nuove prospettive la "riscoperta" della flora spontanea e dei fiori come ingredienti per la ristorazione classificata come "creativa". Grazie alle loro qualità estetiche ed aromatiche, i fiori possono essere utilizzati sia per insaporire insalate fredde, bevande o zuppe, sia per decorare dolci; in questo contesto vengono impiegati soprattutto i petali di rosa e di calendula, i fiori di violetta, di pesco, d'arancio e di susino. Inoltre piccoli fiori e petali possono essere caramellati e serviti come dolci: rinomate sono le violette candite prodotte tradizionalmente a Borgo San Dalmazzo, in Piemonte, attraverso tecniche consolidate nel tempo e in

base agli usi locali. Molto frequente è poi l'impiego di fiori diversi per guarnire crostini salati o per decorare dolci a base di frutta.



Dolci a base di frutta e fiori



Crostini salati

La rosa, invece, viene impiegata soprattutto nella produzione del rosolio, un liquore derivato dai petali di questo fiore, di cui il Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali ha concesso alla regione Piemonte il riconoscimento tra i prodotti agroalimentari tradizionali italiani (Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, 2009). Inoltre a livello artigianale la rosa viene utilizzata per la preparazione di confetture, sciroppi, gelati, crostate, frittate e aperitivi; mentre ricette più elaborate sono illustrate in testi di gastronomia come l'italiano "Cucinare con i fiori" (Marenghi L., 2003) e il francese "Jardins de fleurs" (Lambert A. *et al.*, 2001), o sono disponibili direttamente dai ristoranti più ricercati, come il risotto alle rose e le quaglie ai petali di rosa.



Rosolio

L'uso dei fiori di garofano (disidratati) (*Dianthus L.*), sembra per il momento circoscritto alla preparazione di tisane o infusi, ma, considerato, il loro contenuto in pigmenti (Onozaki *et al.*, 1999), possono essere serviti anche freschi abbinati a cereali nella guarnizione di gelati o yogurt. Per le caratteristiche aromatiche peculiari, i fiori di garofano, possono essere anche impiegati nella preparazione di primi piatti particolarmente appetitosi. I fiori di calendula, infine, già citati, possono essere associati anche a prodotti da forno a base di yogurt (plumcake).



Coppa di yogurt con fiori di garofano



Tagliatelle con pancetta e fiori



Plumcake con fiori di calendula di garofano

Tali impieghi dimostrano che il consumatore manifesta una buona propensione al consumo di fiori. A questo proposito, in uno specifico studio (Kelley K.M. *et al.*, 2001), sono stati condotti alcuni test per stimare le percezioni sia dei consumatori sia degli chef riguardo tre specie di fiori: la *Viola tricolor*, il *Borago officinalis*, e il *Tropaeolum majus* quantificando in particolare gli attributi gusto, fragranza e impatto visivo. I risultati dello studio dimostrano come i consumatori e gli chef abbiano espresso giudizi positivi per le tre specie di fiori saggiate.

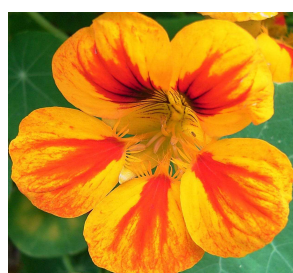
1.7 TECNOLOGIE POST-RACCOLTA

L'importanza dei trattamenti tecnologici degli alimenti risiede nel garantire la sicurezza e la prevenzione dalle malattie. Questi obiettivi possono essere perseguiti attraverso processi basati sul controllo della temperatura, sia calore che congelamento, l'irradiazione o la disinfezione chimica. Oltre a questi scopi, attualmente, la tecnologia alimentare include il miglioramento delle qualità nutrizionali, sensoriali e funzionali dei vari prodotti.



Viola tricolor

Per quanto concerne la conservabilità dei fiori, come per frutta e verdura, il fattore temperatura è molto importante per definirne la *shelf-life*. A questo riguardo è stato condotto uno studio in cui prendendo in considerazione diverse specie di fiori si è dimostrato come la conservabilità sia caratteristica per ciascuno di essi. Più specificatamente si sono studiati: *Viola tricolor* (viola), *Viola x wittrockiana* (viola del pensiero), *Tropaeolum majus* (nasturzio), *Borago officinalis* (borragine) e *Phaseolus coccineus*



Tropaeolum majus

(fagiolo americano). I fiori sono stati raccolti con i boccioli completamente aperti, e successivamente trasportati in laboratorio in un sacchetto non sigillato a circa 22°C. Quindi, si sono conservati in buste di plastica sigillate, e con quattro piccoli forellini agli angoli per consentire gli scambi gassosi di O₂ e CO₂. La durata complessiva dal momento della raccolta a quello della conservazione è inferiore ai 90 minuti. Ciascuna specie è stata, quindi, posta in sei camere a temperatura controllata, a 20, 10, 5, 2.5, 0 e -2.5°C al riparo dalla luce, e successivamente analizzata a distanza di una e due settimane. Da questo studio è emerso che la



Phaseolus coccineus

viola, la viola del pensiero e il nasturzio conservati a 0 e 2.5°C non mostrano segni di perdita di qualità a distanza di due settimane ed hanno requisiti tali da poter essere commercializzati. La borragine si conserva per una settimana a temperature superiori di -2.5°C, mentre raggiunge le due settimane se conservata a -2.5°C. Per quanto riguarda il fiore del fagiolo americano, può essere conservato per una settimana a temperature comprese fra 0-10°C, ma non raggiunge mai valori accettabili alla seconda settimana qualsiasi sia la temperatura di conservazione. Questo studio dimostra, quindi, come per ciascuna specie di fiore vi sia una temperatura ottimale in cui si ha una conservabilità tale da garantire qualità e preservazione del prodotto per un periodo che sia il più lungo possibile (Kelley K.M. *et al.*, 2003), così come avviene per una vastissima serie di produzioni vegetali.

Un ulteriore studio (Friedman H. *et al.*, 2005) ha esaminato la vulnerabilità alla senescenza del *Tropaeolum majus*, determinando l'eventuale sensibilità all'etilene, un ormone rilasciato



Viola x wittrockiana



Borago officinalis

dalle piante in grado di influire sulla germinazione e sull'invecchiamento della pianta; la *shelf-life*; e l'attività antiossidante dei fiori in diversi tipi di confezionamento. Entro un'ora dalla raccolta, i fiori sono stati condizionati in vari modi:

- 1) privi di confezione;
- 2) atmosfera attiva modificata (MA) ottenuta da una miscela di gas: CO₂ (5-10%), O₂ (10%), e N₂ (85-80%) e confezionati in film di polipropilene;
- 3) atmosfera passiva modificata: polipropilene sigillato non perforato senza iniezione di miscela di gas;
- 4) polipropilene sigillato e perforato;
- 5) avvolti in polivinilcloruro (PVC) alle temperature di 2°C e 4-5°C per una settimana.

Lo studio ha dimostrato che il *T. majus* sia sensibile all'azione dell'etilene, in quanto aumenta la sua degradazione all'aumentare della concentrazione di etilene, mentre aumenta la conservabilità se esposto all'azione dell'1-MCP (1-metilciclopropene), inibitore dell'etilene. La notevole riduzione della liberazione di questo gas sta alla base della conservazione in atmosfera controllata. Questa condizione è permessa attraverso la regolazione dei livelli di ossigeno e anidride carbonica nell'ambiente di conservazione.

La qualità dei fiori conservati sia in PVC sia in polipropilene è migliore dei fiori non confezionati, e il migliore mantenimento ottenuto si verifica in atmosfera attiva modificata per sette giorni a 2-5°C. La qualità dei fiori conservati alle diverse temperature, è comparabile ed evidenzia la commerciabilità del prodotto. Tale studio mostra risultati differenti rispetto a quello citato in precedenza, nonostante siano stati testati sempre i fiori di nasturzio; questo potrebbe dipendere dalla diversa varietà dei fiori esaminati, dal diverso stadio di maturazione del fiore, dalla temperatura e dalla durata del trasporto dal momento della raccolta a quello del confezionamento, nelle diverse condizioni di crescita del fiore. Ciò dimostra come sia fondamentale uno studio accurato e mirato di una precisa varietà campionata in un'area ben definita, per limitare quelle che sono le normali variazioni climatiche come temperatura e piovosità caratteristiche della zona nei diversi anni, e ridurre le variabili che accidentalmente possono manifestarsi durante le operazioni di laboratorio e che infine potrebbero incidere sulla variabilità di conservazione del prodotto.

Per quanto concerne la rosa, uno dei trattamenti tecnologici plausibili è la produzione di un semilavorato, ovvero un preparato destinato ad essere integrato in altri alimenti come yogurt e gelati. Nel caso specifico, alcuni dei parametri importanti ai fini dell'apprezzamento del prodotto finito, risulterebbero essere l'aroma e il colore. Quest'ultimo, in particolare, è molto suscettibile all'imbrunimento causato dall'azione enzimatica generata dalla rottura e dalla frantumazione durante l'omogeneizzazione dei petali. In tal caso,



Possibile impiego dei fiori conservati



Gelato artigianale alla rosa

si renderanno necessari opportuni accorgimenti per preservare le caratteristiche chimiche della matrice vegetale.

I petali di rosa possono essere utilizzati anche per la produzione di tisane; in questo caso si dovrebbe mettere a punto un metodo di essiccamento adeguato, come avviene nel caso del tè. Alcuni esempi possono essere le foglie di tè nero in cui si utilizzano essiccatori a rulli o camere di essiccazione che riducono l'umidità di circa il 55-65%, facendo perdere l'acqua dalle foglie rendendole morbide al fine di poterle successivamente macerare; le foglie di tè verde, invece, possono essere essiccate attraverso il passaggio in forni ventilati innalzando gradualmente la temperatura fino a peso costante, evitando il rischio di ossidazione e conservando quindi colore e caratteristiche (Rinallo C., 2005).

Inoltre la rosa può essere aggiunta ad altri preparati al fine di ottimizzarne le loro proprietà; ciò è stato dimostrato in uno studio (Mollov P. *et al.*, 2007) riguardante bevande alla fragola, in cui il miglioramento della stabilità del colore di queste bibite è reso possibile grazie alla presenza di pigmenti polifenolici naturalmente presenti nel fiore di rosa. Nella fragola, sono presenti le antocianine, importanti non solo nel definire un'acceptabilità del prodotto dal punto



Yogurt ai fiori già presente sul mercato

di vista estetico, ma anche per il ruolo che svolgono sotto il profilo salutistico, come spiegato nel paragrafo “1.5.1 Antiossidanti”. Queste molecole, però, sono suscettibili alla luce e al calore e vengono danneggiate durante i convenzionali processi di confezionamento della bevanda. La *Rosa damascena* Mill. data la sua abbondanza in flavonoli e per gli alti livelli di pigmenti polifenolici, è stata presa in considerazione come

ingrediente, più precisamente è stata valutata la pigmentazione e la stabilità al calore delle antocianine della fragola in presenza dei polifenoli dei petali di rosa. Quindi, è stato confrontato il contenuto di antocianine in bevande alla fragola con e senza l'aggiunta dell'estratto ai petali di rosa riscaldando il preparato a 85°C e valutando i contenuti in entrambe le soluzioni a intervalli di 30 minuti. Dall'analisi del colore si è osservato un significativo cambiamento verso il giallo durante il riscaldamento della sola bevanda alla fragola; mentre, la stabilità del colore incrementa con l'aggiunta dell'estratto di petali di rosa.

CAPITOLO 2
SCOPO DELLA TESI

I recenti dati pubblicati su antiossidanti alimentari e su particolari sostanze protettive presenti nei prodotti vegetali, inducono sempre più i consumatori ad attribuire importanza al tipo di alimenti da prediligere e, quindi, a seguire una dieta corretta. Gli alimenti funzionali sono evidenze tangibili dell'aumentato interesse presso i consumatori odierni per ciò che riguarda il rapporto tra alimentazione e salute. Tra gli alimenti funzionali vi sono i prodotti naturali vegetali che contengono componenti biologicamente attivi. I petali di rosa sono un esempio. Data la loro ricchezza in principi attivi come polifenoli e antociani (Kumar et al., 2008), sono stati scelti per la realizzazione di un nuovo ingrediente alimentare suscettibile di sviluppi interessanti.

Lo studio compiuto ai fini della presente tesi di dottorato è stato svolto presso l'Unità di Ricerca per i processi dell'industria agroalimentare di Milano afferente al Consiglio per la Ricerca in Agricoltura (CRA-IAA) in collaborazione con l'Università degli Studi di Milano (Dipartimento di Scienze Farmacologiche). Per l'interdisciplinarietà delle tematiche condotte, lo studio ha previsto anche il contributo della sezione di Microbiologia del Centro di Ricerca per le produzioni foraggere e lattiero-casearie (CRA-FLC) di Lodi.

Le indagini intraprese hanno inizialmente riguardato la caratterizzazione chimico-nutrizionale dei petali di diverse cultivar di rosa appartenenti ai gruppi 'Rose inglesi', 'Rose coprisuolo' e 'Rose antiche' tutte coltivate biologicamente. La scelta di tali cultivar di rosa si è basata sulla valutazione della loro capacità di resistenza alle principali avversità biotiche ed abiotiche tipiche di questo fiore, permettendo una crescita spontanea senza interventi da parte dell'uomo quali irrigazione, potatura, e trattamenti fitosanitari. Queste caratteristiche garantirebbero la produzione di un alimento biologico e, valutando una realtà più estesa rispetto a quella da noi considerata, permetterebbe di costituire una filiera produttiva, intesa come concatenazione di soggetti interessati, in grado di moltiplicare le disponibilità attuali di materia prima di alcuni ordini. Altre caratteristiche che hanno decretato la scelta delle cultivar d'interesse sono state la profumazione caratteristica e la ricchezza in pigmenti antocianici.

Gli studi di caratterizzazione della materia prima (carboidrati solubili, acidi organici, vitamina C, pigmenti, polifenoli totali, attività antiossidante), hanno permesso di individuare le cultivar più idonee, in termini nutrizionali e tecnologici, per la trasformazione dei loro petali in semilavorato idoneo alla formulazione di yogurt commerciali. Da un punto di vista nutrizionale lo yogurt di per sé è ritenuto un alimento adatto alla dieta giornaliera per il suo contenuto in sali minerali (calcio), vitamine del gruppo B e proteine facilmente assimilabili grazie alla presenza di fermenti lattici attivi. Nel recente passato, il segmento commerciale dello yogurt si è sviluppato a ritmi sostenuti, favorito dalla destrutturazione dei pasti, dalla riduzione del tempo dedicato alla prima colazione, dall'emergere di una cultura alimentare che apprezza il ridotto contenuto calorico e le proprietà salutistiche del prodotto. Il consumatore tipico di yogurt si caratterizza per una scarsa fidelizzazione verso le singole marche ed una elevata propensione alle innovazioni di prodotto. Attualmente non esistono in letteratura studi riguardanti le proprietà chimiche e biochimiche di preparati, ottenuti dalla lavorazione di matrici floricole e non dai loro estratti, utilizzabili in prodotti lattiero-caseari di largo consumo.

L'obiettivo finale della presente ricerca, pertanto, è stato quello di formulare un nuovo ingrediente o semilavorato per yogurt a base di petali di rosa dotato di proprietà sensoriali originali (sapore/profumo naturale) e naturalmente caratterizzato dalla presenza di sostanze bioattive proprie della matrice floricola.

I petali di rosa delle cultivar prescelte sono stati trasformati in miscela-base seguendo una 'ricetta' appositamente studiata per la matrice fiore. Nello studio di formulazione di questo nuovo ingrediente, il processo tecnologico ha svolto un ruolo fondamentale specialmente nella fase di scelta della qualità e quantità del materiale di partenza e dei coadiuvanti tecnologici (zucchero, correttori di acidità) utilizzati nella miscela-base. Tale ruolo chiave si è ripresentato con forza anche nella fase di stabilizzazione della miscela, con l'adozione di idonei protocolli termici. La miscela stabilizzata è inserita in condizioni di sterilità in uno yogurt commerciale, è stata sottoposta a controlli microbiologici durante la *shelf-life* per poterne garantire la sicurezza alimentare. Sulla miscela originaria e su quella stabilizzata con il calore, sono state condotte le determinazioni delle sostanze bio-attive (polifenoli e antociani totali) per indagare sulla funzionalità del preparato che, data l'originalità e l'impiego considerato non ancora convenzionale, deve rispondere a criteri tecnologici predefiniti, dettati dalle esigenze di una possibile produzione industriale sostenibile.

CAPITOLO 3
MATERIALI E METODI

3.1 PIANO SPERIMENTALE PER LA VALUTAZIONE DELLA MATERIA PRIMA

Le cultivar di rose analizzate sono state raccolte in tre località differenti e appartengono a specie diverse. Si rimanda al capitolo “4.1 Campionamento delle cultivar analizzate” per la spiegazione dettagliata.

Il diagramma di flusso presentato in figura 10 indica i passaggi effettuati dalla raccolta del fiore fino alla sua conservazione, per l’esecuzione delle analisi successive.

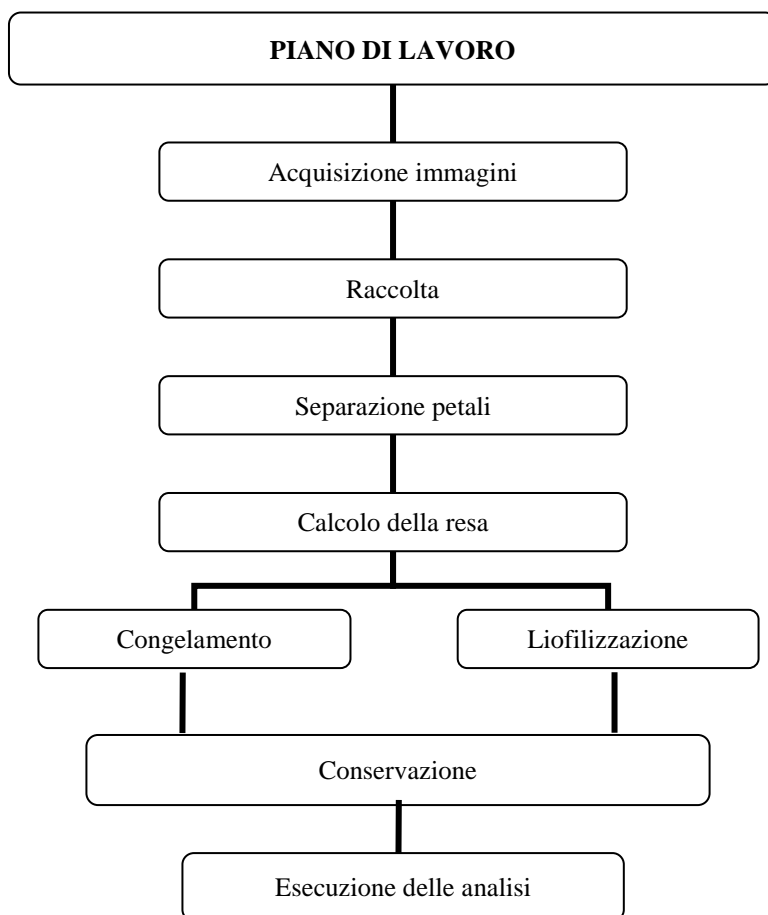


Figura 10 Diagramma di flusso rappresentante gli *step* eseguiti per la pianificazione del lavoro

CAPITOLO 4
RISULTATI E DISCUSSIONE

Materia prima

4.1 SCELTA DELLE CULTIVAR DA INCLUDERE NELLO STUDIO

Nello schema in figura 16 sono descritte le varietà di rose selezionate per lo studio, in particolare sono riportati i tre siti di raccolta dei campioni e le cultivar analizzate con i rispettivi gruppi di appartenenza.

- Il primo sito di campionamento è un roseto privato a conduzione biologica (“Cascina Brogginà” ad Abbiategrasso (MI)), in cui sono state raccolte le varietà riportate in figura. Queste rose, appartenenti al gruppo “rose inglesi” e tutte protette da brevetto, sono state raccolte tra l’ultima settimana di maggio e la prima settimana di giugno nelle stagioni 2006-2008 e sono state scelte soprattutto per l’intensità delle loro fragranze (David Austin, 2009). La concimazione del terreno è stata effettuata in inverno con concime di cavallo, e prima e dopo la potatura di fine inverno è stata somministrata poltiglia bordolese al 30 e al 10% (prodotto fitosanitario ammesso per l’agricoltura biologica come da Regolamento CEE n. 2092/91 del 24 giugno 1991).

- Il secondo sito di campionamento è stato individuato presso il campo sperimentale della scuola di orto-floro-vivaismo della Fondazione Minoprio di Vertemate con Minoprio (CO), in cui sono state prelevate le varietà di rose presentate in figura. Queste rose, definite “coprisuolo” sono per lo più utilizzate nell’arredo urbano in quanto caratterizzate da un’alta resistenza alle avversità ambientali e ai parassiti, inoltre non necessitano di pratiche e cure colturali come irrigazioni, concimazioni e trattamenti fitosanitari. Tali varietà sono state raccolte nei giorni di massima fioritura, tra l’ultima settimana di maggio e la prima settimana di giugno nel 2008.

- Il terzo sito di campionamento è il “Museo Giardino Rose Antiche” di Serramazzone (MO), in cui, la seconda settimana di maggio del 2009, sono state prelevate le cultivar elencate in figura. Come le rose coprisuolo, anche queste varietà sono molto resistenti alle malattie e non necessitano di cure o pratiche agricole particolari. Sono varietà arbustive, rustiche, rifiorenti, e sono state scelte soprattutto per la loro accesa pigmentazione e per la profumazione caratteristica.

Sono state analizzate rose di varietà e di specie differenti, poiché analogamente a quanto avviene nel settore della frutta e degli ortaggi, è plausibile che anche nell’ambito dei fiori di rosa si possano riscontrare variabilità di composizione tra le cultivar di una medesima specie e tra specie differenti.

Il metodo di campionamento utilizzato per il prelevamento della materia prima è stato quello di recidere circa venti fiori da tre piante differenti per ciascuna cultivar di rosa; questo metodo permette di ottenere campioni che siano rappresentativi dell’area e della cultivar in esame tenendo conto delle possibili variabili quali l’esposizione della pianta a zone di luce e ombra ed eventuali differenze compositive del terreno che potrebbero far variare le caratteristiche del fiore.

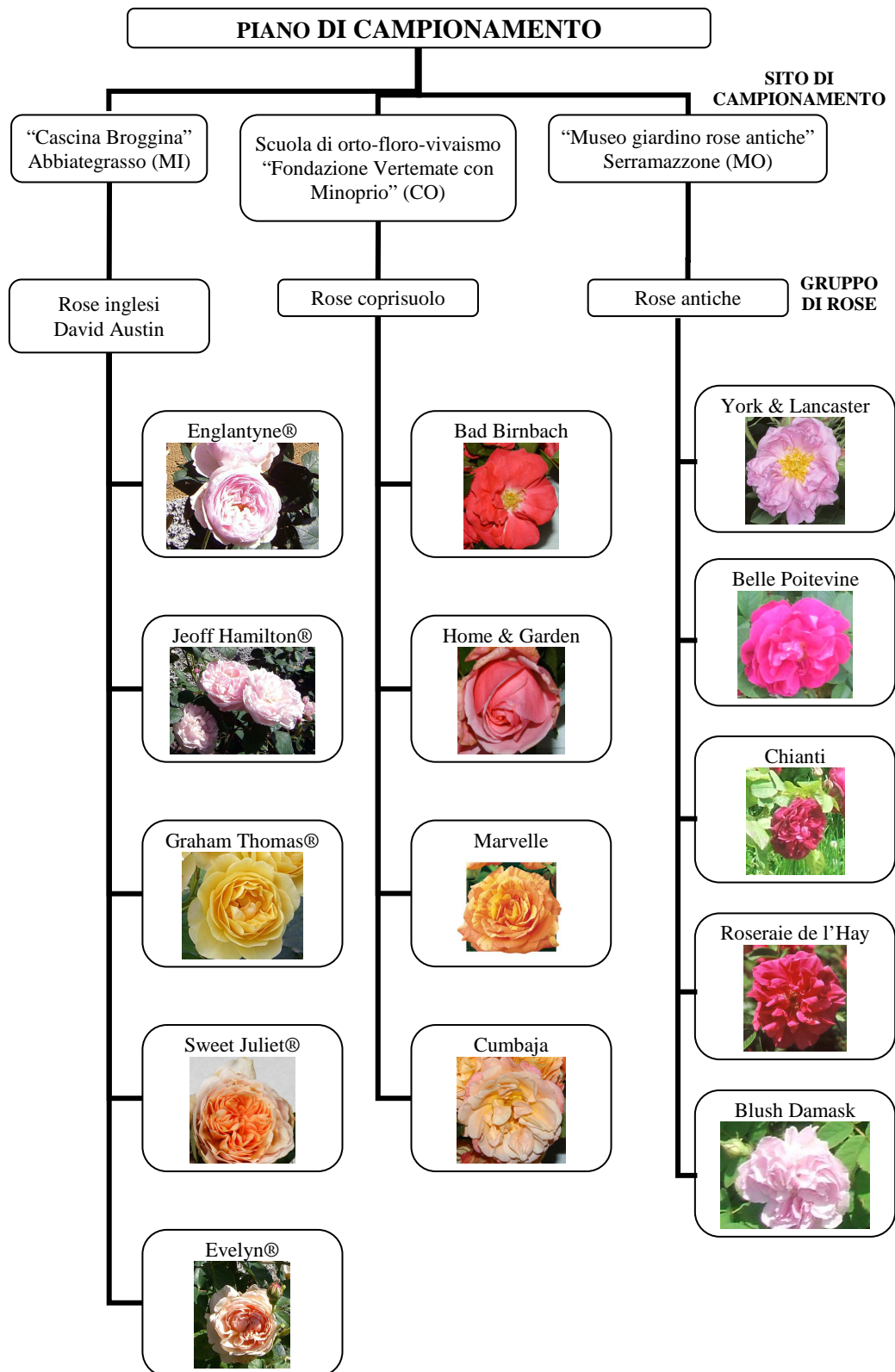


Figura 16 Selezione delle varietà di rose da includere nello studio e siti di produzione

4.2 ANALISI ESEGUITE SULLE CULTIVAR DI ROSA

In figura 17 è presentato lo schema relativo all'esecuzione delle analisi sul campione di rosa fresca (congelata sottovuoto) e di rosa liofilizzata.

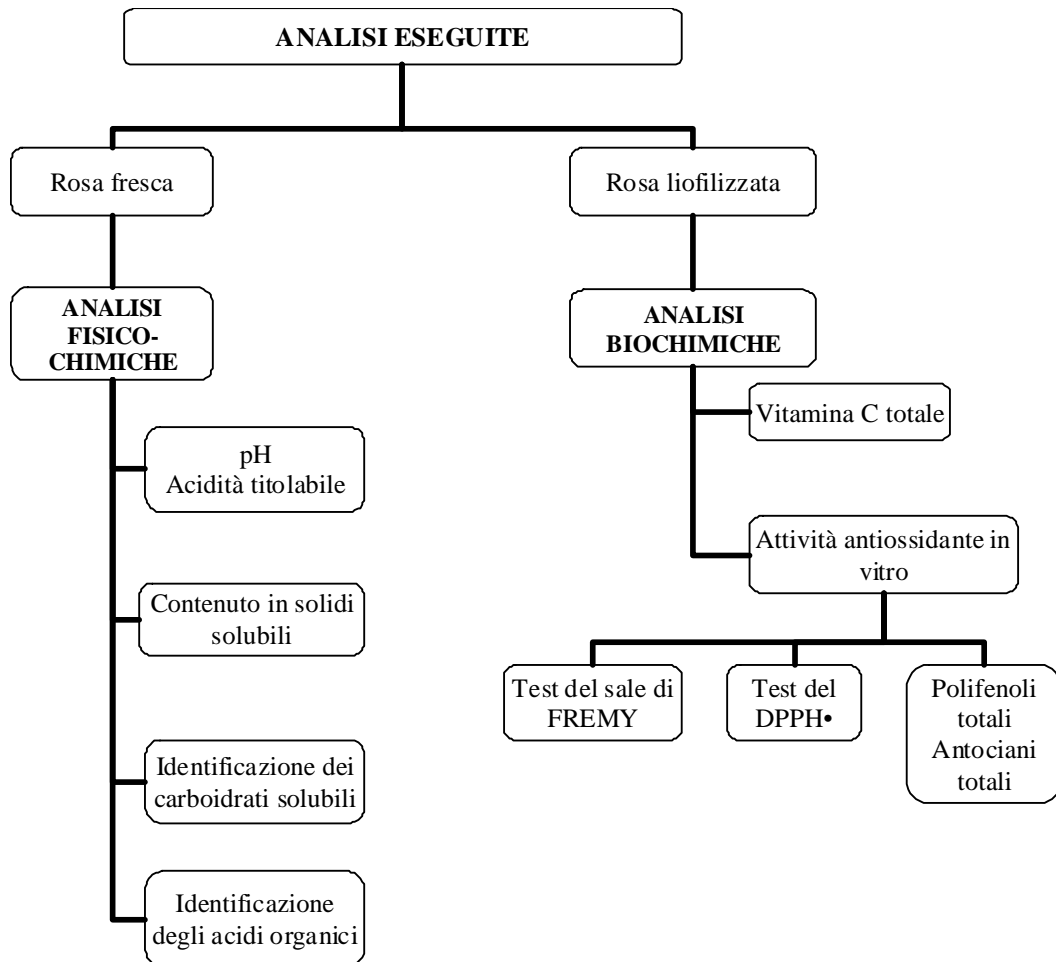


Figura 17 Analisi eseguite sul campione rosa fresca e rosa liofilizzata

CAPITOLO 5
RISULTATI E DISCUSSIONE

Semilavorato

5.4 SCELTA DEI METODI DI STABILIZZAZIONE

Il pretrattamento del semilavorato (acidificazione e concentrazione mediante aggiunta di zucchero) è stato eseguito al fine di ottenere un ingrediente caratterizzato da condizioni chimiche presumibilmente sfavorevoli allo sviluppo dei microrganismi. Il trattamento termico successivamente condotto è stato messo a punto con l'obiettivo di ridurre l'insorgenza di alterazioni delle caratteristiche nutrizionali del semilavorato stesso (Fellows, 1988). La stabilizzazione termica della miscela è stata effettuata sia per sanificare il prodotto sia per ottenere un rapporto ottimale tra componenti solidi e acqua, risultanti in una struttura più stabile ed una tessitura più cremosa nel prodotto finale (figura 49).



Figura 49 Stabilizzazione termica del semilavorato in recipiente di rame

I parametri di processo prefissati per il trattamento termico (temperature e tempi di trattamento per i protocolli 'A' e 'B', specificati nel paragrafo 3.7 del capitolo 3) sono stati monitorati mediante il calcolo strumentale dell'"effetto letale" (F) utile per poter valutare l'effetto del trattamento in rapporto alle caratteristiche fisico-chimiche del prodotto (Migliorini M., 2004).

Nella figura 50 è riportata la curva di temperatura monitorata con sonda ELLAB per la fase di stabilizzazione termica con protocollo 'B' (figura 50.1) e protocollo 'A' (figura 50.2). In ogni grafico vengono visualizzate:

- la curva T relativa al trattamento termico reale
- la curva F, relativa al tempo di trattamento termico teorico necessario per assicurare l'"effetto letale" sulla popolazione microbica presente nel prodotto
- i valori D (tempo di riduzione decimale) e z (gradi di calore necessari per indurre una riduzione decimale di una popolazione microbica) trascritti come $D_{92^{\circ}\text{C}} = 2/3$ minuti e $z=7$ e riferiti alle proprietà di termoresistenza dei possibili microrganismi bersaglio.

I valori D e z considerati per il calcolo di F sono quelli stabiliti in letteratura per le conserve molto acide ($\text{pH} < 4,2$). Per tali conserve i germi bersaglio sono in genere poco definiti e si considerano solo forme vegetative di microrganismi che già a 70°C vengono distrutte mentre le spore non vengono controllate in quanto a valori di pH acido non riuscirebbero a germinare.

Inoltre, sempre per le conserve molto acide sono individuati quali germi bersaglio anche le muffe, giudicate più termoresistenti.

Con tali parametri, il trattamento con protocollo 'B', relativo al raggiungimento della temperatura di 85°C, sembra essersi rivelato non del tutto efficace in quanto il prodotto non ha raggiunto la temperatura prefissata nei tempi teorici stabiliti. Il trattamento con protocollo 'A' di 98°C sembra essere, invece, risultato efficace anche per le forme più termoresistenti. Questi presupposti sono stati poi verificati con un'opportuna campionatura per l'esecuzione delle relative conte microbiche. Poiché il prodotto stabilizzato con i protocolli 'B' ed 'A' non ha una durabilità lunga come quella dei prodotti sottoposti a trattamenti termici più drastici, dopo il trattamento termico è stato conservato a temperatura costante di 4°C per 21 giorni secondo una cinetica a punti prestabiliti di controllo, in termini di tempo (T0=0 giorni; T10=10 giorni; T21=21 giorni), al fine di monitorare quei microrganismi eventualmente resistenti al calore che potrebbero interferire con la conservabilità e la sicurezza sanitaria del prodotto finale.

5.8 FORMULAZIONE PER YOGURT BASE COMMERCIALE

I lotti stabilizzati con i protocolli 'A' e 'B' e relativi ad una seconda tesi di semilavorato (volume complessivo 400 ml) sono stati utilizzati per le prove di formulazione in yogurt commerciale bianco intero (yogurt base). In figura 54 vengono riportate le immagini relative agli *step* seguiti per la formulazione dello yogurt. Nelle immagini presentate vengono visualizzati sia gli yogurt addizionati del % dei semilavorati stabilizzati 'A' e 'B' sia lo yogurt bianco.



a) Aggiunta del semilavorato (% , v/v) allo yogurt base



b) Parziale miscelazione del semilavorato nello yogurt base



c) Completa miscelazione del semilavorato nello yogurt base

Figura 54 Step a), b), c) relativi alla fase di formulazione dello yogurt bianco commerciale

