



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse naturali e Ambiente

Dipartimento Territorio e Sistemi Agro-forestali

Corso di laurea in Scienze e tecnologie alimentari

Influenza di filtrazione e omogeneizzazione ad alta pressione sulla  
qualità del succo di mela Kissabel® durante la conservazione

Relatore

Prof. Lorenzo Guerrini

Correlatrice

Dott.ssa Anna Perbellini

Laureanda/o

Matteo Fabris

Matricola N. 2032777

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

## SOMMARIO

RIASSUNTO .....	3
ABSTRACT .....	4
1 INTRODUZIONE.....	5
1.1 MELA KISSABEL® .....	6
1.2 IMBRUNIMENTO ENZIMATICO .....	8
1.3 HPH .....	10
2 OBIETTIVO .....	12
3 MATERIALI E METODI.....	13
3.1 PRODUZIONE DEL SUCCO .....	13
3.2 PRELIEVO DEI CAMPIONI .....	14
3.3 ANALISI DI FISICO-CHIMICHE .....	17
3.3.1 DENSITÀ.....	17
3.3.2 pH, TEMPERATURA, POTENZIALE REDOX.....	17
3.3.3 °BRIX .....	17
3.4 TEMPO DI SEDIMENTAZIONE .....	17
3.5 VISCOSITÀ.....	18
4 ANALISI COLORIMETRICHE .....	19
4.1 COLORE.....	19
4.1.1 TRAMITE FOTO .....	19
4.1.2 TRAMITE COLORIMETRO .....	19
4.2 CARATTERIZZAZIONE AL MICROSCOPIO.....	20
5 RISULTATI E DISCUSSIONE.....	21
5.1 EFFETTO DI PRESSIONE DI OMOGENEIZZAZIONE E TEMPO .....	21
5.1.1 CARATTERIZZAZIONE AL MICROSCOPIO .....	21
5.1.2 CARATTERIZZAZIONE FISICO-CHIMICA.....	24
5.2 EFFETTO DI FILTRAZIONE, OMOGENEIZZAZIONE E TEMPO .....	27
5.2.1 CARATTERIZZAZIONE AL MICROSCOPIO .....	27

5.2.2	VARIAZIONE DEL COLORE DURANTE LA CONSERVAZIONE.....	33
6	CONCLUSIONI.....	36
7	BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA.....	37
7.1	Bibliografia .....	37
7.2	Sitografia.....	39

## RIASSUNTO

La mela Kissabel® è una varietà di mela a polpa rossa nata dall'incrocio di diverse varietà di mele. La sua commercializzazione è iniziata nel 2018 dopo 20 anni di studi. Tra i tratti caratteristici di questa varietà di mela si può osservare un'attività piuttosto elevata degli enzimi ossidativi nativi, con conseguente imbrunimento enzimatico particolarmente elevato. Tale imbrunimento fa sì che i prodotti realizzati con questo tipo di mela cambino colore e siano soggetti al rapido sviluppo di aromi e odori sgradevoli durante la conservazione. Questo studio si propone di indagare se diverse intensità di filtrazione e pressioni di omogeneizzazione possono influenzare l'attività di questi enzimi e, in caso affermativo, se possono fornire la possibilità di ottenere un prodotto il più naturale possibile.

I campioni sono stati divisi in 2 blocchi di 3 serie per effettuare analisi di conservabilità accelerate e non accelerate. All'inizio e alla fine della vita commerciale (dopo 9 mesi) su tutti i campioni sono state eseguite le seguenti analisi: colore tramite colorimetro e analisi d'immagine, pH, potenziale redox, viscosità, dispersione nanometrica, caratterizzazione microscopica, tempo di sedimentazione, °Brix. Le analisi sono state eseguite tramite l'analisi di fotografie fatte ad intervalli di due settimane sui campioni.

Il confronto delle immagini ha evidenziato un'influenza dei campioni al calore, alla pressione di omogeneizzazione, con un aumento dell'indice di imbrunimento nel tempo con un aumento maggiore per i campioni che sono stati conservati ad una temperatura maggiore.

## ABSTRACT

The Kissabel® apple is a variety of red-fleshed apple born from the crossbreeding of various apple varieties. Its commercialization began in 2018 following 20 years of studies. Among the characteristic traits of this apple variety, one can observe a rather high activity of native oxidative enzymes, resulting in particularly high enzymatic browning. This browning causes products made with this type of apple to change color and be subject to the rapid development of unpleasant aromas and odors during shelf-life. This study aims to investigate whether different intensities of filtration and homogenization pressures can influence the activity of these enzymes, and if so, whether they can provide the possibility of obtaining a product as natural as possible.

The samples were divided into 2 blocks of 3 series to carry out accelerated and non-accelerated shelf-life analyses. At the beginning and at the end of the shelf-life (after 9 months) the following analyzes were performed on all samples: color using a colorimeter and photography, pH, redox potential, viscosity, nanometric scattering, microscopic characterization, sedimentation time, °brix. While time points were performed every two weeks in which color measurements were performed via photography, and then analyzed the color via software.

From the comparison of the analyses, no notable differences were found between the various samples, although a more in-depth analysis needs to be carried out to confirm this conclusion.

# 1 INTRODUZIONE

La mela (*Malus domestica* Borkh.; Rosaceae) è uno dei frutti più importanti dal punto di vista economico e culturale, frutto ricco di sostanze nutritive coltivato in tutte le zone temperate (Spengler et al. Plant Sci. 2019).

Il frutto intero è commestibile tranne i semi; oltre a ciò, da loro si producono molti altri prodotti: sidro e succhi, marmellate, composte, tè, vino o mele secche. Sono insostituibili nell'alimentazione umana poiché aumentano il sistema immunitario, hanno un effetto positivo sulla resistenza allo stress e contengono molte sostanze bioattive benefiche per l'uomo.

(Jiri Patočka et al. 2020)

A livello industriale la mela è utilizzata per una svariata gamma di prodotti, può essere commercializzata fresca, essiccata, in purea, e come succo che successivamente può essere sottoposto a fermentazione per ottenere sidro o aceto di mele (Marcellus et al., 2022).

Il succo di mela come altri prodotti ottenibili dalla mela è soggetto al fenomeno dell'imbrunimento enzimatico a carico di enzimi nativi della mela.

L'utilizzo di agenti antiossidanti, come l'acido ascorbico, permette di limitare la comparsa nel tempo dei difetti causati dall'azione degli enzimi coinvolti nell'imbrunimento enzimatico, tuttavia, la richiesta sempre maggiore da parte del consumatore di avere a disposizione dei prodotti ottenuti con un ridotto uso di conservanti e additivi, chiamati anche MP (Minimally Processed), ha spinto le industrie a ricercare trattamenti alternativi che permettano l'inattivazione degli enzimi responsabili dell'imbrunimento. (Marcellus et al., 2022).

Tra queste alternative stanno sempre più diffondendosi i NTT (Non Thermal Treatments), ovvero tecnologie che non prevedono l'applicazione di calore. (Marcellus et al., 2022).

Alcuni esempi di queste NTT possono essere: ultrasuoni, cold plasma, omogeneizzazione, campi elettrici pulsati e altri. Uno dei vari aspetti positivi che queste tecnologie possono apportare al prodotto è legato alla conservazione di aromi e sostanze nutritive che generalmente vengono perse nei convenzionali trattamenti a basati sull'uso del calore. (Marcellus et al., 2022).

In questo lavoro verrà studiato come l'applicazione di una NTT, ovvero l'omogeneizzazione, combinata con diversi livelli di filtrazione possa influire sull'imbrunimento enzimatico del succo ottenuto dalla varietà di mela Kissabel®, particolarmente soggetta a tale problema, durante la shelf-life del prodotto.

## 1.1 MELA KISSABEL®

La mela Kissabel® è una varietà di mela alquanto recente; infatti, l'idea di questa di mela nasce nel 2000 circa, ma effettivamente arriva nel mercato nel 2018 dopo un lavoro durato circa 20 anni, effettuato da un consorzio di produttori e ricercatori belgi. Questa cultivar a polpa rossa rappresenta una fonte naturale di antiossidanti, con proprietà nutraceutiche preziose considerando il loro contenuto più elevato di antocianine e fenoli (Faramarzi et al., 2015; Hyson, 2011).

Presenta una polpa di colore rosso intenso che la rende unica nel suo genere e distinguibile visivamente. È una varietà particolarmente resistente a parassiti e malattie, riducendo così la necessità di utilizzare insetticidi contribuendo così a preservare l'ambiente e anche resistente alle basse temperature.

Allo stesso tempo presenta un costo elevato e perciò non la rende disponibile a tutti, che viene ulteriormente ridotta dal processo di selezione e coltivazione selettiva che possiede; questa nuova tipologia di mele è sensibile nella conservazione, infatti rispetto ad altre varietà di mela, la Kissabel® potrebbe essere ritenuta più sensibile alla conservazione e alla manipolazione post-raccolta.

La mela Kissabel® è un incrocio tra le varietà Braeburn e la Royal Gala, presenta un gusto equilibrato tra dolce e acidulo con una consistenza croccante.

La mela è originaria della Francia ed è coltivata in diversi paesi europei, tra cui Gran Bretagna, Francia, Germania, Italia e Svizzera. La sua crescente popolarità tra gli amanti della mela la rende una possibile scelta futura per le industrie della frutta. (<https://starpet.it/blog/mela-kissabel-origine/?accettato=1>)

Tuttavia, alcune di queste cultivar a polpa rossa presentano una bassa conservabilità a causa dello sviluppo del disturbo dell'imbruttimento (Espley et al., 2019), che può impedire il mantenimento della qualità fresca e, di conseguenza, la loro commercializzazione.

Tuttavia, alcune di queste cultivar a polpa rossa presentano una bassa conservabilità a causa dello sviluppo del disturbo dell'imbrunimento (Espley et al., 2019), che può impedire il mantenimento della qualità fresca e, di conseguenza, la loro commercializzazione. In questo scenario, le mele appartengono alla categoria dei frutti climaterici, in cui l'ormone etilene è principalmente coinvolto nella regolazione della sindrome di maturazione (Gapper et al., 2013; Zhang et al., 2015). Da un confronto tra mele 'Golden Delicious' e 'Kissabel®' è emerso che entrambe le cultivar hanno presentato un modello di evoluzione dell'etilene simile ma caratterizzato da tempistiche diverse. Nella cultivar Kissabel®, l'etilene inizia ad accumularsi

immediatamente dopo la raccolta (due giorni dopo la raccolta, DHA) e raggiunge il primo picco a nove giorni dopo la raccolta ( $24,62 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). La quantità massima dell'ormone,  $36,65 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ , viene raggiunta dopo due settimane (14 DHA). Successivamente il livello diminuisce e a 23 DHA la quantità di etilene aumenta nuovamente rimanendo stabile intorno a  $30 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$  fino alla fine del periodo di conservazione (32 DHA). In 'Golden Delicious', invece, l'etilene aumenta gradualmente dopo 4 DHA e la concentrazione raggiunge il massimo ( $39,34 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) a 16 DHA. Alla fine dell'esperimento (32 DHA), il livello di etilene era di  $29,56 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ , un valore comparabile con la concentrazione misurata in 'Kissabel®' ( $28,85 \mu\text{L kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ ). (F. Populin et al. 2022).

Per caratterizzare il comportamento di maturazione nella mela a polpa rossa R201-'Kissabel®', è stato testato il profilo di espressione dei geni biosintetici dell'etilene (MdACS3, MdACS1 e MdACO1) e della poligalatturonasi-1 (MdPG1). In 'Golden Delicious', il livello di espressione di questi geni era in accordo con il profilo dell'etilene. I livelli di espressione di MdACS3 erano, come previsto, più alti nei primi quattro giorni dopo la raccolta per poi diminuire ulteriormente durante la fase di maturazione (Ji e Wang, 2021; Varanasi et al., 2011; Zhu et al., 2012).

Sono stati identificati tre cluster genetici, uno corrispondente ai geni correlati alla maturazione (MdACS1, MdACO1 e MdPG1), mentre gli altri due erano distintamente rappresentati dal profilo dell'etilene e dall'espressione del gene MdACS3, rispettivamente. I livelli di espressione più elevati dei tre geni coinvolti nella biosintesi dell'etilene e nella degradazione della parete cellulare sono stati osservati a 7DHA, due giorni prima del primo picco dell'ormone (F. Populin et al. 2022). Sulla base di questi risultati preliminari, sembra che nella mela a polpa rossa la produzione di etilene e l'inizio della maturazione inizino dopo la raccolta, progredendo più rapidamente rispetto alla fisiologia di maturazione osservata in 'Golden Delicious' (Espley et al., 2019).



## 1.2 IMBRUNIMENTO ENZIMATICO

L'imbrunimento enzimatico dei frutti, come la mela, è causato dall'ossidazione dei fenolici della mela (Sommano et al., 2020). L'imbrunimento enzimatico (Figura 1) è principalmente causato da Polifenol ossidasi (PPO) (Muñoz-Pina et al., 2022; Singh et al., 2018).

In presenza di ossigeno, PPO catalizza l'idrossilazione di monofenoli, come fenolo, tirosina e p-cresolo in o-difenoli (attività di ossidasi monofenolo), e inoltre, o-difenoli, come catecolo, dopamina e adrenalina, in o-chinoni (scuri in colore e responsabili nel cambiamento di colore). È stato riportato che l'ossidazione dei composti fenolici nelle reazioni catalizzate da PPO può sintetizzare l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, che può poi aumentare l'attività di perossidasi nei frutti (Singh et al., 2018). La PPO può essere classificata in tre tipi in base al substrato e meccanismo di ossidazione: (a) tirosinasi che ha l'attività di cresolasi e catecolasi; (b) catecol-ossidasi che catalizza l'ossidazione da o-difenoli a o-chinoni; e (c) laccasi che può ossidare vari composti aromatici attraverso un meccanismo di reazioni catalizzate da radicali (Taranto et al., 2017).

Senza trattamento di inibizione, la pianta stessa ha un'autodifesa contro l'imbrunimento enzimatico e lo attua producendo antiossidanti naturali (Sommano et al., 2020). Uno di essi è la vitamina C che rimuove i radicali liberi, compresi i ROS, diminuendo così lo stress ossidativo (Arnold et al., 2021) e inibisce la reazione di annerimento. L'altro possibile meccanismo della vitamina C per bloccare l'imbrunimento enzimatico è la riduzione di o-chinoni (il prodotto di PPO) ai substrati fenolici (M. Lee et al., 2022). Poiché ogni cultivar di mela ha diverse composizioni chimiche (inclusi i composti fenolici), questa potrebbe essere la possibile ragione per le diverse attività di annerimento enzimatico, sia prima che dopo i trattamenti di inibizione (Marcellus et al., 2022).

Si è osservato che la maturità, la selezione delle cultivar, e le condizioni preraccolta (clima, irrigazione, condizioni di pioggia) possono influenzare la qualità e l'attività della PPO di frutta e verdura fresche tagliate (Nogales-Delgado, 2021).

Nell'ambito della conservazione nella 'Kissabel®' l'etilene inizia ad accumularsi immediatamente dopo la raccolta, a differenza di quanto registrato per la varietà 'Golden Delicious' (F. Populin et al., 2022).

Dal momento che la rimozione dell'O<sub>2</sub> non è sufficiente a prevenire l'imbrunimento enzimatico, una strategia preventiva è l'uso di agenti anti-imbrunimento. Gli antiossidanti possono prevenire l'inizio dell'imbrunimento reagendo con l'ossigeno. Reagiscono anche con i prodotti intermedi, interrompendo così la reazione a catena e prevenendo la formazione di melanina (Lindley, 1998). La specificità dei substrati PPO verso i fenolici dipende solitamente

dalla loro qualità, natura (i substrati difenolici sono tipicamente favoriti rispetto ai substrati monofenolici e trifenolici) e condizione o ambiente di reazione.

Oltre al trattamento termico, metodo più comunemente usato per l'inattivazione enzimatica, in quanto allo stesso tempo permette di ridurre il livello di carica microbica nel prodotto, possono anche essere usati: metodi chimici (agenti antiossidanti), estratti di erbe, NTT (Non Thermal Treatments), rivestimenti edibili. (Marcellus et al., 2022).

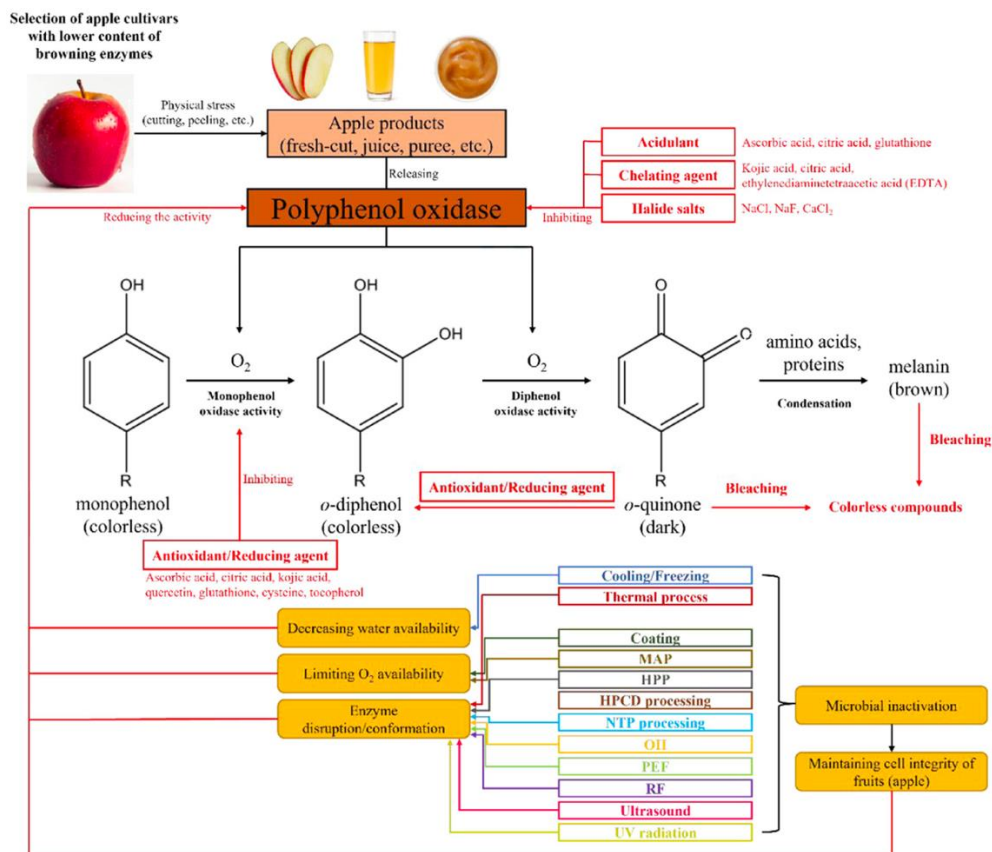


Fig. 1 Schema di azione del PPO (Marcellus et al., 2022).

### 1.3 HPH

La parola “omogeneizzazione” si riferisce alla capacità di produrre una distribuzione dimensionale omogenea delle particelle sospese in un liquido, forzando il liquido sotto l'effetto della pressione attraverso una valvola di omogeneizzazione appositamente progettata (Fakhreddin Salehi 2020).

L'omogeneizzazione ad alta pressione (HPH) è un componente importante della lavorazione del succo che può migliorare la stabilità e la qualità del succo e rilasciare sostanze bioattive, migliorando così le proprietà nutrizionali e funzionali del succo. L'HPH è realizzato da un pistone che forza il fluido attraverso piccoli fori, quando il fluido passa attraverso la valvola, il rapido cambiamento di velocità e pressione produce turbolenza e cavitazione, frammentando il polimero, le particelle o le cellule del sistema. L'HPH può migliorare la torbidità e il colore generale del succo d'arancia, ridurre la dimensione delle particelle e aumentare l'accessibilità ai nutrienti (carotenoidi totali, flavonoidi e vitamina C) e le proprietà funzionali (attività antiossidante) nel succo d'arancia che a sua volta aumenta l'accettazione da parte dei consumatori e migliora il valore di mercato (Wantong et al., 2021).

I recenti progressi nella tecnologia di omogeneizzazione ad alta pressione e la progettazione di nuove valvole di omogeneizzazione (con sedi e aghi in ceramica e, più recentemente, rivestimento diamantato) in grado di resistere a pressioni fino a 400-600 MPa hanno aperto nuove opportunità al processo di omogeneizzazione nell'industria alimentare per ridurre granulometrie ben inferiori al micron e, di conseguenza, ha consentito lo sviluppo di nuovi prodotti differenziati da quelli tradizionali per caratteristiche fisico-chimiche e di qualità. (Patrignani et al. 2017).

HPH è una tecnologia emergente basata sull'applicazione dinamica dell'alta pressione che consente la lavorazione continua di alimenti fluidi, proposta come alternativa alla pastorizzazione termica per alimenti con proprietà termosensibili. (Velázquez-Estrada et al., 2013).

L'applicazione dell'HPH è molto promettente perché i succhi risultanti potrebbero essere sicuri con un alto contenuto di composti bioattivi e con un sapore fresco. In tutti i casi osservati i trattamenti a pressione hanno aumentato, mantenuto o solo leggermente diminuito rispetto ai trattamenti termici, il contenuto dei componenti bioattivi (Betoret et al., 2015).

Saldo, et al. 2009 hanno riportato aumenti del valore  $L^*$  di AJ dopo HPH a 200 MPa e 300 MPa, mentre i valori  $a^*$  sono aumentati significativamente dopo HPH a 100 Mpa.

L'elaborazione HPH non ha mostrato un impatto significativo sulle variabili di colore dei succhi misti di mela, carota e pesca. L'applicazione di successo dei trattamenti HPH può fornire una nuova generazione di prodotti minimamente trasformati, si spera più vicini a quelli freschi in termini di proprietà organolettiche e nutritive, ma sicuri e duraturi come quelli pastorizzati (Fakhreddin Salehi 2020).

## 2 OBIETTIVO

L'obiettivo della tesi è di indagare l'influenza di omogeneizzazione ad alta pressione e filtrazione sull'imbrunimento enzimatico dei succhi di mela Kissabel® nel corso della shelf-life. In particolare, si analizza l'effetto dei trattamenti tecnologici sulle caratteristiche fisico-chimiche e sul colore del succo, all'inizio, al termine e nel corso del periodo di conservazione di 6 mesi.

## 3 MATERIALI E METODI

### 3.1 PRODUZIONE DEL SUCCO

Le mele di varietà Kissabel® sono state sottoposte ad una selezione visiva e manuale rimuovendo quelle che presentavano ammaccature o annerimenti superficiali.

In seguito alla selezione le mele sono state triturate utilizzando un tritatore Agrieuro Premium line modello 995.

Il triturato ottenuto è stato posto in una piccola pressa idraulica cilindrica, GRIFO PEW80 80L, dotata di un telo filtrante con uno spessore delle maglie di 100µm, e pressato per estrarne il succo.

Il succo ottenuto è stato pesato, ed è stata determinata la quantità di acido ascorbico, tenendo come concentrazione 400ppm sulla massa di succo; successivamente il succo è stato riscaldato per effettuare un'inattivazione degli enzimi nativi della mela, avvenuta riscaldando il succo a 85°C per 15 minuti.

Il succo trattato è stato versato ancora caldo all'interno di alcune bag in box, raffreddato in acqua fredda per 10 minuti e successivamente posto in cella frigorifera a 4°C, fino al momento del prelievo dei campioni.

Le prove prevedono i seguenti campioni: 3 campioni alla quale non è stato applicato alcun trattamento; 3 campioni con diverse pressioni di omogenizzazioni, per essere più precisi pressioni di 200 bar, 400 bar e 600 bar; per tutte le filtrazioni sono stati disposte 2 serie di campioni che corrispettivamente rappresentano una serie di campioni che sono stati filtrati e un'altra serie di campioni che oltre alla filtrazione hanno subito un processo di omogeneizzazione a 400 bar; per le filtrazioni si avranno i campioni filtrati a 50µm, 5µm e 0,2µm omogenizzati e non, mentre per la filtrazione a 0,2µm data l'elevata capacità filtrante di questa tipologia di filtrazione non è possibile effettuare il campione non omogenizzato dovuto a problematiche di intasamento delle setto filtrante e la filtrazione è avvenuta solamente dopo la fase di omogeneizzazione. Per ogni tipologia di campione saranno necessarie almeno 5 bottigliette, che devono essere di vetro, trasparenti e del volume di 250ml.

Di seguito si riporta un dettaglio dei campioni di succo di mela raccolti:

- 1) Non filtrato e non omogenizzato (NFNH)
- 2) Non filtrato e omogenizzato a 200bar (NFH2)
- 3) Non filtrato e omogenizzato a 400bar (NFH4)
- 4) Non filtrato e omogenizzato a 600bar (NFH6)

- 5) Filtrato a 50µm e non omogenizzato (F50NH)
- 6) Filtrato a 50µm e omogenizzato a 400bar (F50H)
- 7) Filtrato a 5µm e non omogenizzato (F5NH)
- 8) Filtrato a 5µm e omogenizzato a 400bar (F5H)
- 9) Omogenizzato a 400bar e filtrato a 0,2µm (F0,2H)

TRATTAMENTO	CAMPIONE	OMOGENEIZZAZIONE	PRESSIONE	FILTRAZIONE
FILTRAZIONE	F02H	SI	200,00	0,20
	F50H	SI	200,00	50,00
	F50NH	NO	0,00	50,00
	F5H	SI	200,00	5,00
	F5NH	NO	0,00	5,00
OMOGENEIZZAZIONE	NFH2	SI	200,00	100,00
	NFH4	SI	400,00	100,00
	NFH6	SI	600,00	100,00
	NFNH	NO	0,00	100,00

Tabella 1 riassuntiva dei vari campioni e trattamenti effettuati su ognuno.

### 3.2 PRELIEVO DEI CAMPIONI

I campioni che non hanno subito alcun sono stati imbottigliati direttamente all'interno di bottiglie di vetro da 250ml, chiuse e siglate con codice del campione, data e serie di produzione, infine pastorizzate, ottenendo i campioni NFNH.

Tutti i campioni hanno subito un processo di pastorizzazione, attraverso un forno Rational, modello iCombi Pro XS, utilizzando un programma personalizzato secondo i seguenti parametri: 100% vapore, temperatura di 90°C per 17 minuti.

Al termine, le bottiglie di succo sono state raffreddate in una bacinella con acqua fredda con l'aggiunta di disinfettante (Amuchina); è stato necessario cambiare l'acqua nella bacinella non appena diventava calda e ripetere tale procedura fino a quando l'acqua non restava fredda.

Imbottigliati i campioni di succo, è stato possibile passare ai campioni che venivano solamente omogeneizzati, dal succo restante è stato prelevato un volume di succo leggermente superiore a quello necessario per la realizzazione di tre campioni con una diversa pressione di omogeneizzazione.

Per l'omogeneizzazione è stato usato un GEA TRIPLEXPANDA LAB HOMOGENIZER. Prima dell'utilizzo lo strumento è stato riscaldato facendoci passare dell'acqua.

Inserito il succo nella tramoggia dell'omogeneizzatore, quest'ultimo è stato avviato e gradualmente portato a 200bar, ruotando delicatamente la manopola con scritto stadio 1 fino a 50bar, e poi con la manopola del secondo stadio portare alla pressione di interesse.

Sui campioni NFH2, NFH4, NFH6 è stato effettuato un trattamento di omogeneizzazione.

Ad omogeneizzazione conclusa il macchinario è stato lavato facendoci passare dell'acqua calda al suo interno.

Imbottigliati tutti i campioni che hanno subito solo l'omogeneizzazione, ed utilizzando le stesse temperature e tempistiche riportate in precedenza, sono stati pastorizzati. Terminata la loro sono stati raffreddati prima della conservazione.

Per i campioni che richiedono la filtrazione è stato usato un Tenco Enolmatic associato ad un Tenco Tandem filterhousing, e le cartucce filtranti da 50, 5, 0,2 um (<https://www.tenco.it/en/vacuum-bottling-machines/enolmatic>), che permette anche l'imbottigliamento.

Assemblato il tubo filtrante e l'Enolmatic come da immagine illustrata





Figura 2 sistema di filtrazione assemblato a sx il tubo di pescaggio e a dx il tubo in uscita con il filtrato. Al centro l'alloggio per il filtro.

Inserito all'interno del cilindro trasparente il filtro da  $50\mu\text{m}$ , è stata avviata la filtrazione, l'enolmatic permette dopo la filtrazione l'imbottigliamento dei campioni (F50NH), per tale motivo non appena era possibile sono stati prelevati i campioni filtrati che non richiedevano l'omogeneizzazione.

Dal succo filtrato sono stati prelevati all'incirca 4L, i quali sono stati omogeneizzati e sono stati creati i campioni F50H, la procedura attuata, è stata la stessa riportata in precedenza per gli altri campioni omogeneizzati, fermandosi alla pressione di 200bar.

La filtrazione, in base alla necessità, è stata interrotta per effettuare una pulizia del filtro, per farla è stata fatta passare dell'acqua calda continua in direzione opposta al senso di filtrazione, e un successivo passaggio con dell'aria compressa, in entrambi i sensi di filtrazione, assicurandosi l'assenza di acqua all'interno.

Alla filtrazione da  $50\mu\text{m}$  è seguita la filtrazione da  $5\mu\text{m}$  per la quale è stato usato lo stesso procedimento operativo, incluso il prelievo per l'omogeneizzazione ottenendo i campioni F5NH e F5H, e più lavaggi date le dimensioni del filtro.

A questo punto si è iniziata il prelievo dei campioni F02H, ai quali dopo aver osservato problemi di intasamento dei filtri, l'omogeneizzazione è stata eseguita antecedentemente alla filtrazione, e con la stessa metodica dei campioni precedenti sono stati imbottigliati, siglati e pastorizzati.

La pulizia di questo filtro è avvenuta solamente alla fine della lavorazione, ciò è dovuto al fatto che la ridotta porosità del filtro richiede molto tempo per una completa pulizia e l'asciugatura non può avvenire con aria compressa, in quanto il filtro è di materiale cartaceo e la pressione dell'aria lo rovinerebbe, e di conseguenza il filtro è stato posto vicino ad una fonte di calore.

I succhi di mela sono stati sottoposti a due diverse tipologie di conservazione. Una serie di campioni, in tre repliche, è stata conservata a temperatura ambiente e al riparo da fonti luminose (condizione non accelerata). Un'altra serie di campioni, in tre repliche, è stata riposta in un incubatore IVYX Scientific (25L) a 36°C.

Il periodo di conservazione è durato dal 13/12/2023 fino al 05/07/2024, date in cui sono state svolte tutte le analisi iniziali e finali di caratterizzazione fisico-chimica.

Nel periodo compreso dal 13/12/2023 al 05/07/2024 ogni 14 giorni sono state scattate le fotografie per l'analisi dell'immagine, il tutto per un totale di 15 time point.

### 3.3 ANALISI DI FISICO-CHIMICHE

#### 3.3.1 DENSITÀ

La densità è stata misurata ricorrendo all'uso di un matraccio tarato da 100ml e una bilancia Radwag PS1000.R2. Il matraccio con il succo è stato ripesato, ottenendo la massa in gr, tramite la sua formula è stato possibile ricavare la densità, ovvero dividendo la massa del succo per 0,1 (il volume del matraccio espresso in litri).

#### 3.3.2 pH, TEMPERATURA, POTENZIALE REDOX

Per tutti i campioni, pH e potenziale redox (ORP, mV) sono stati misurati utilizzando un pHmetro 50110022 XS pH 7 Vio FOOD con elettrodo XS 201T.

#### 3.3.3 °BRIX

Il contenuto di zuccheri è stato misurato tramite l'utilizzo di un rifrattometro digitale, HANNA instrumental HI96811; sullo strumento è presente una specula o finestrella, prima di iniziare l'analisi è stata svolta una calibrazione con acqua demineralizzata.

### 3.4 TEMPO DI SEDIMENTAZIONE

Il tempo di sedimentazione è stato misurato ricorrendo alla misurazione della torbidità.

È stato utilizzato un turbidimetro della HANNA instrument modello HI93703C, calibrato e caricato con le cuvette con i campioni. Il risultato è espresso in NTU. La calibrazione dello

strumento è stata effettuata riempiendo delle cuvette con acqua demineralizzata. Dopo una prima misurazione di riferimento (tempo 0), i campioni sono stati centrifugati per 1,5 minuti a 600rpm, utilizzando una centrifuga una Neya 8xs Remi lab, con provette da 10ml. Al termine delle centrifugazione, sono state ripetute le misurazioni dei campioni, tralasciando la calibrazione. Le centrifugazioni si sono ripetute fino a ottenere un valore di torbidità costante.

### 3.5 VISCOSITÀ

Per la misura della viscosità (mPa\*s) è stato utilizzato un viscosimetro Anton Paar ViscoQC 300L con spindle L1 (codici prodotti 105023 e 190249). L'analisi si è effettuata all'interno della bottiglia di vetro in cui sono conservati i campioni, a 18°C, a 160rpm per 1 minuto.

## 4 ANALISI COLORIMETRICHE

### 4.1 COLORE

L'analisi del colore è avvenuta utilizzando come parametri quelli dello spazio CIELAB, con due tipologie di analisi differenti tra i time point e le analisi iniziali e finali, oltre ai parametri L, a e b, CIELAB sono stati calcolati Chroma, Hue,  $\Delta E$ , quest'ultimi utilizzando le equazioni riportate sotto. Il parametro L rappresenta la luminosità, riflettendo quanto un campione sia chiaro o scuro dove 0 indica il nero assoluto e 100 il bianco assoluto; a indica l'asse che vaaria tra verde e rosso, in cui i valori positivi indicano una predominanza del rosso; b indica invece l'asse del giallo-blu dove valore positivi indicano una predominanza del giallo; Hue rappresenta la tonalità, ovvero l'angolo (in gradi) che tra a e b rispetto all'asse a; Chroma è una misura della saturazione del colore, è strettamente legato alla percezione da parte dell'uomo del colore, a bassi valori il campione appare poco brillante mentre ad alti è più intenso.

$$Chroma = \sqrt{a^2 + b^2}$$

$$Hue = \tan^{-1} \left( \frac{b}{a} \right)$$

$$\Delta E = \sqrt{(L_1^2 - L_2^2)^2 + (a_1^2 - a_2^2)^2 + (b_1^2 - b_2^2)^2}$$

Tramite le fotografie è stata analizzata la variazione del colore ad ogni time point, mentre il colorimetro è stato utilizzato per osservare le differenze di colore tra l'inizio e la fine della conservazione.

#### 4.1.1 TRAMITE FOTO

Per le fotografie è stata utilizzata una Canon EOS R10 con obiettivo RF-S 18-150mm F3.5-6.3 IS STM (#5564C005) settata a F4.3 ISO 100 con modalità di fuoco manuale e impostato durante le foto a 0,40, e una lightbox, un campione alla volta Una volta scattate le foto, i dati del colore nello spazio CIELAB sono stati ricavati tramite l'utilizzo del sito Trigit (<https://trigit.com.au>).

#### 4.1.2 TRAMITE COLORIMETRO

Il colorimetro utilizzato è uno DNA phone SMART ANALYSIS (<https://www.dnaphone.it/smart-analysis-vino>), per la scansione del colore con i parametri CIELAB. La calibrazione è avvenuta con acqua distillata come riferimento.

## 4.2 CARATTERIZZAZIONE AL MICROSCOPIO

Al fine di quantificare le particelle presenti all'interno dei campioni di succo, sono state effettuate alcune fotografie tramite microscopio. Per questa analisi sono stato usato un microscopio Leica DM500 con il modulo aggiuntivo ICC50W il tutto connesso ad un computer Windows con il programma LAS EZ. L'analisi richiede l'utilizzo di un vetrino con cella di Thoma Colaver (codice 15CE2953).

Una volta agitato bene il campione, con l'uso di una pipetta Pastuer una goccia di campione è stata posta sulla griglia presente sul vetrino, posto un vetrino copri-oggetto ed osservata al microscopio.

Al microscopio prima di poter scattare una foto tramite il programma, ci si è accertati che nell'immagine siano presenti un'area di tre quadratini per tre, e che le particelle presenti fossero messe a fuoco, se tutto ciò è presente si può scattare una foto e rinominarla con il numero della foto ed il campione. Per ogni campione sono necessarie avere tre foto.

L'analisi delle foto si è svolta con l'utilizzo dei seguenti programmi in successione: IrfranView 64 thumbnail, IrfranView, e ImageJ.

## 5 RISULTATI E DISCUSSIONE

Dalla caratterizzazione fisico-chimica è stato possibile confermare che i valori di pH e ORP sono rimasti stabili nel tempo, con differenze non significative in relazione ai trattamenti. I succhi si caratterizzano quindi con valori medi di pH  $3,46 \pm 0,02$  e ORP  $192,01 \pm 1,71$ .

L'analisi statistica è stata suddivisa in tre parti. La prima sezione riguarda gli effetti della pressione di omogeneizzazione e del tempo sui parametri misurati. In questo caso, il tempo è relativo alle misurazioni effettuate sui campioni all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2). La seconda analisi ha indagato l'effetto di filtrazione e omogeneizzazione sulla variazione dei parametri fisico-chimici. Infine, è stato il cambiamento del colore. Nei paragrafi successivi si farà spesso riferimento ai parametri del colore dello spazio CIELAB, che sono L, a, b, Hue, Chroma e indice di imbrunimento (Browning Index, BI).

### 5.1 EFFETTO DI PRESSIONE DI OMOGENEIZZAZIONE E TEMPO

#### 5.1.1 CARATTERIZZAZIONE AL MICROSCOPIO

I seguenti paragrafi mostrano i risultati relativi all'effetto della pressione di omogeneizzazione sui campioni all'inizio e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente e in condizioni accelerate, in relazione alla quantificazione delle particelle presenti nei succhi. L'analisi ha evidenziato differenze significative per il tempo e, nel caso del numero di particelle e dell'area media delle particelle, anche per la pressione di omogeneizzazione.

Dalla fig. 3a è possibile osservare la variazione nei tre stadi temporali dei campioni, notando un aumento complessivo delle particelle presenti nei campioni tra l'inizio e la fine della shelf-life. Inoltre, si osserva che all'aumentare della pressione si presenta un incremento del numero di particelle (fig. 3b).

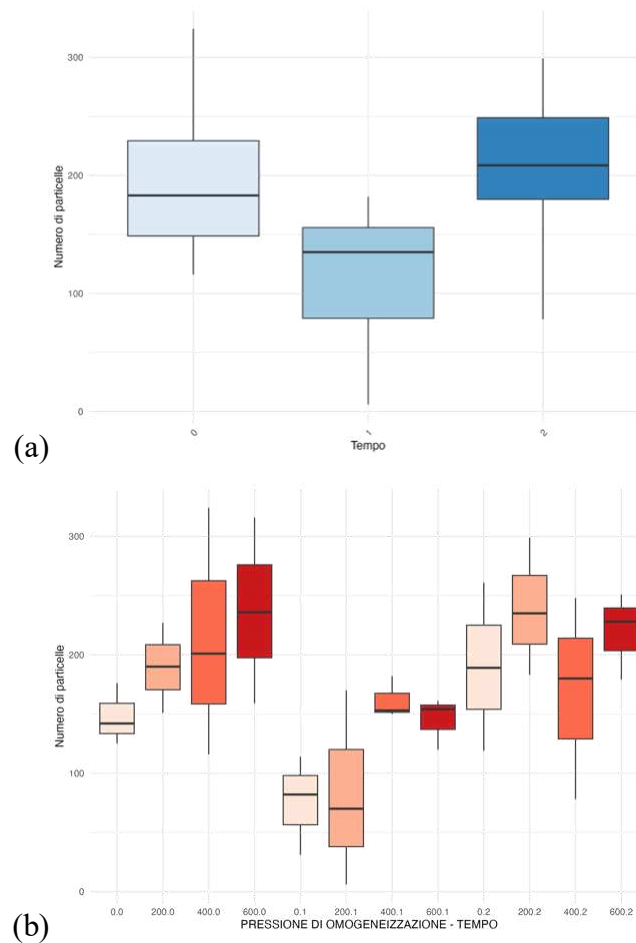


Fig. 3 Variazione del n° di particelle nei tre stadi temporali: all’inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2) (a); Variazione del n° di particelle in relazione al tempo e alla pressione di omogeneizzazione (0, 200, 400, 600 MPa) (b).

Per l’area media si osserva una sua riduzione all’aumentare della pressione (fig. 4b) con una minor riduzione nel tempo (fig. 4a). Inoltre, come rappresentato in figura 5, l’area totale delle particelle risulta invece significativamente diversa tra i campioni all’inizio (0) e al termine della conservazione a temperatura ambiente (1).

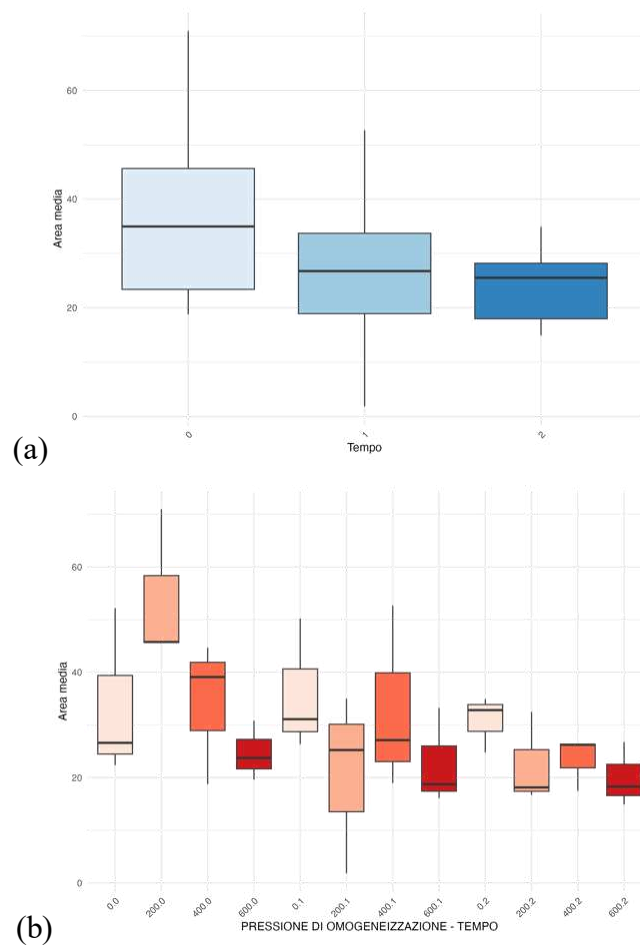


Fig. 4 Variazione dell'area media nei tre stadi temporali: all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2) (a); Variazione dell'area media in relazione al tempo e alla pressione di omogeneizzazione (b).

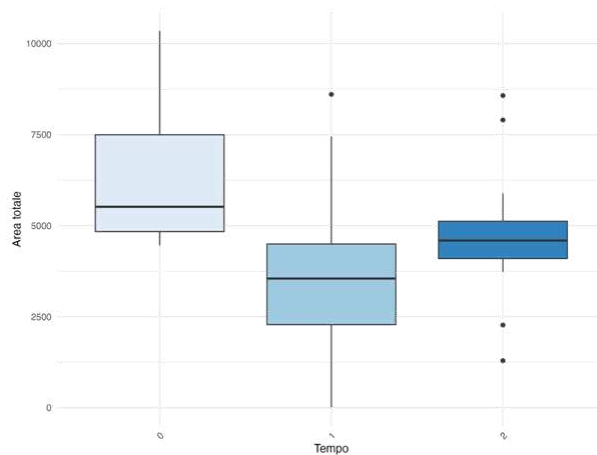


Fig. 5 Variazione dell'area totale nei tre stadi temporali: all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2).



## 5.1.2 CARATTERIZZAZIONE FISICO-CHIMICA

In relazione alla caratterizzazione fisico-chimica dei campioni, l'analisi svolta ha evidenziato un aumento della pressione per quanto concerne la torbidità, in relazione al tempo e alla pressione di omogeneizzazione. In fig. 6 è possibile notare che la torbidità aumenta all'aumentare del tempo e della pressione di omogeneizzazione.

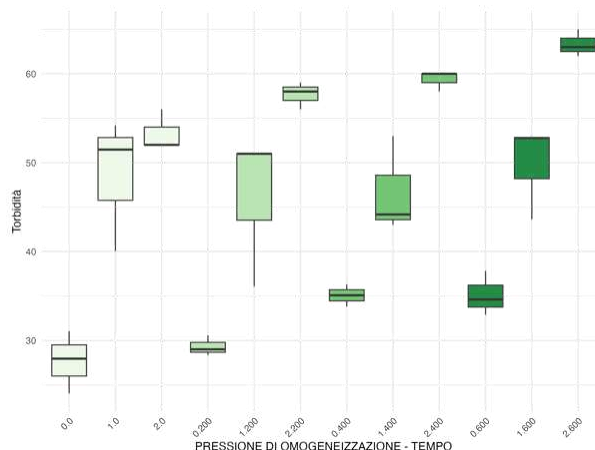


Fig. 6 Variazione della torbidità nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla pressione di omogeneizzazione.

L'analisi del colore ha evidenziato differenze significative in relazione al tempo e alla pressione di omogeneizzazione.

Il Tono (fig. 7) discrimina significativamente i campioni nei tre stadi temporali e a seconda della pressione di omogeneizzazione.

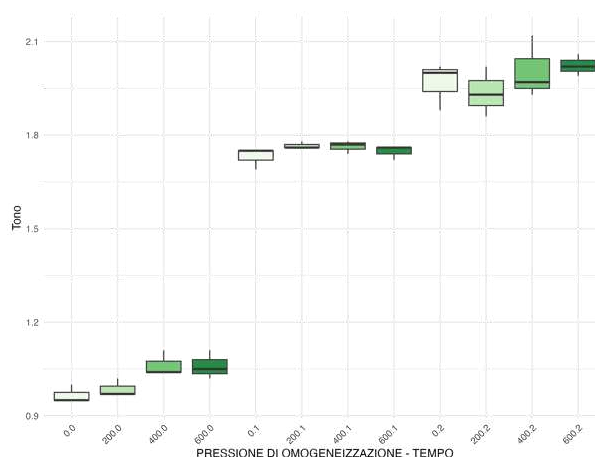


Fig. 7 Variazione del tono nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla pressione di omogeneizzazione (b).

Similmente, i campioni si differenziano in termini di Hue (fig. 8) in relazione al tempo, alla pressione di omogeneizzazione all'interazione delle due variabili. In particolare, si sono rilevate differenze tra i campioni analizzati al tempo 0 e i campioni al termine della conservazione, con differenze non significative tra i succhi sottoposti alle due distinte condizioni di conservazione (accelerata e non accelerata).

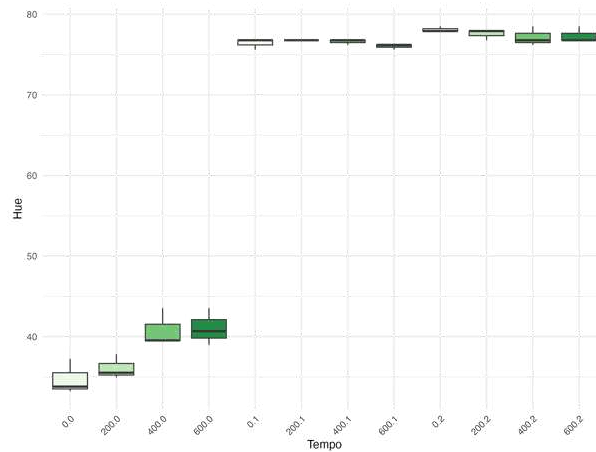


Fig. 8 Variazione di Hue nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla pressione di omogeneizzazione.

La saturazione (Chroma) aumenta gradualmente nel tempo, con differenze significative tra i tre stadi temporali, e all'aumentare della pressione di omogeneizzazione (fig. 9).

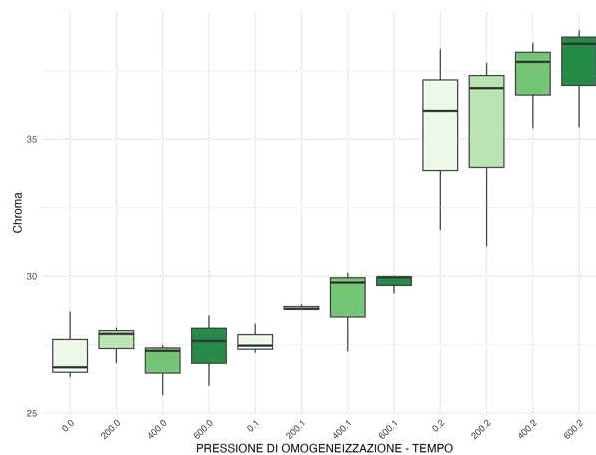


Fig. 9 Variazione di Chroma nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla pressione di omogeneizzazione.

Il parametro  $L$  non subisce cambiamenti significativi. I valori di  $a$  diminuiscono significativamente dall'inizio alla fine della conservazione, per entrambe le condizioni di conservazione (fig. 10). Il parametro  $b$  (fig. 11) permette di differenziare i succhi di mela nei tre stadi temporali e in relazione alla pressione di omogeneizzazione. I valori aumentano nel tempo e all'aumentare della pressione di omogeneizzazione.

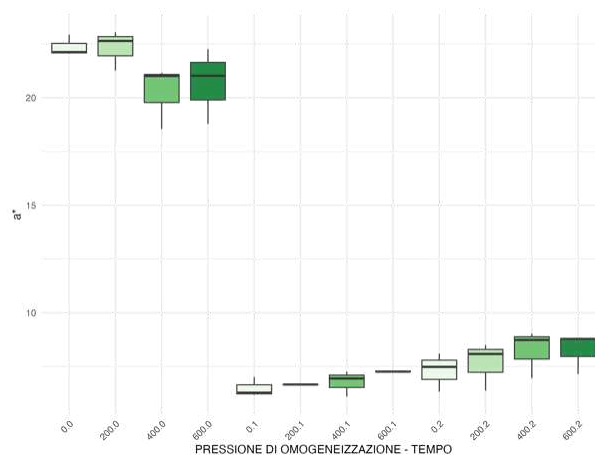


Fig. 10 Variazione di  $a$  nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla pressione di omogeneizzazione.

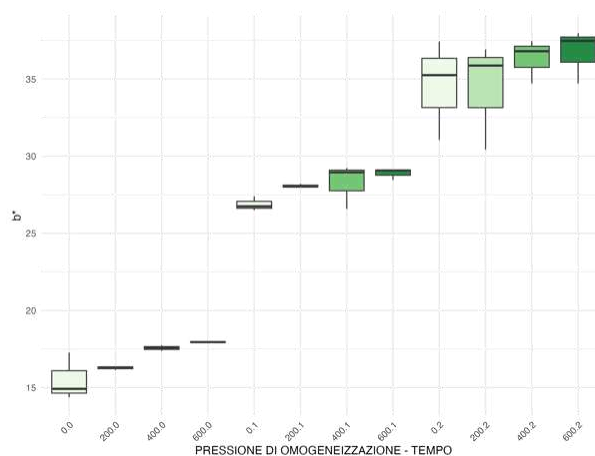


Fig. 11 Variazione di  $b$  nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla pressione di omogeneizzazione.

## 5.2 EFFETTO DI FILTRAZIONE, OMOGENEIZZAZIONE E TEMPO

### 5.2.1 CARATTERIZZAZIONE AL MICROSCOPIO

I seguenti paragrafi mostrano i risultati relativi all'effetto dei trattamenti di filtrazione e omogeneizzazione sui campioni all'inizio e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente e in condizioni accelerate, in relazione alla quantificazione delle particelle presenti nei succhi.

L'area media (fig. 12) e l'area totale (fig. 13) non subiscono particolari cambiamenti nei periodi di conservazione, a parte i campioni filtrati a 0.2 che non presentano particelle.

Il numero di particelle (fig. 14) varia al variare della filtrazione, ovvero maggiore è quest'ultima e minore è il numero di particelle presenti, e non sono presenti notevoli differenze tra i campioni che hanno subito omogeneizzazione (N) da quelli invece che hanno subito omogeneizzazione (Y).

I campioni mostrano un aumento dei Brix tra l'inizio e la fine della conservazione (fig. 15) e non mostrano particolari differenze tra i vari campioni.

Torbidità (fig. 16), Chroma (fig. 17) e b (fig. 21) presentano un progressivo aumento tra l'inizio (0) e la fine della conservazione. In particolare, si osserva maggiore torbidità per i campioni conservati in condizioni accelerate (2) rispetto alla temperatura ambiente (1), mentre la torbidità presenta valori pari a 0 per i campioni filtrati a 0,2.

Il parametro L (fig. 18) presenta valori alquanto omogenei durante tutta la conservazione, con dei valori più alti per i campioni che hanno subito la filtrazione maggiore.

Il parametro Hue (fig. 19) mostra un sostanziale incremento tra l'inizio (0) e la fine della conservazione (1-2) senza però mostrare significative differenze tra i campioni conservati a temperatura ambiente e quelli sottoposti a conservazione accelerata.

Il Tono (fig. 20) presenta un lieve aumento se si confronta l'inizio (0) e la fine (1-2) della conservazione, con una leggera differenza tra la temperatura ambiente (1) e quella accelerata (2).

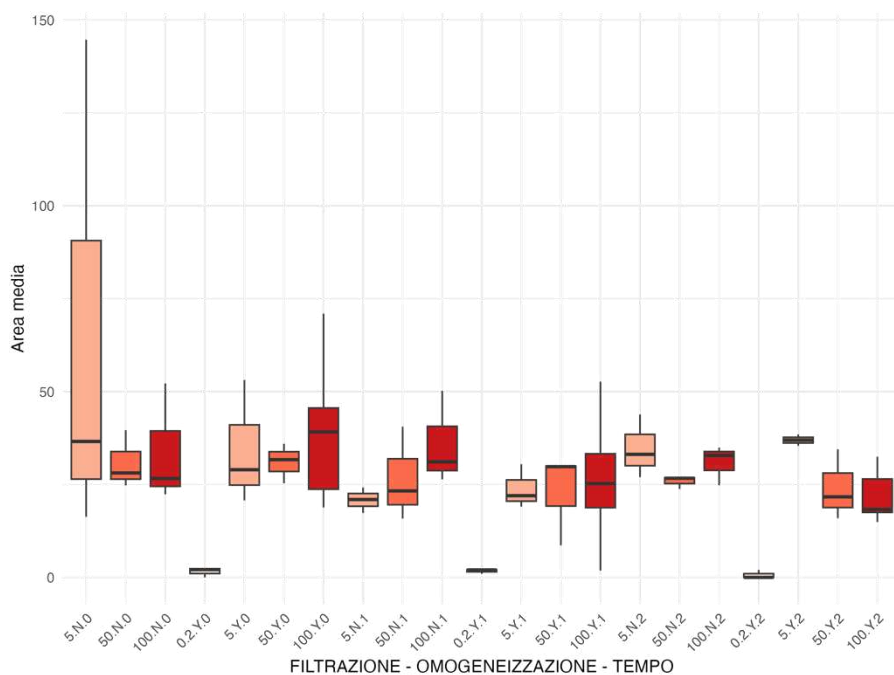


Fig.12 Variazione dell'area media nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell'omogeneizzazione.

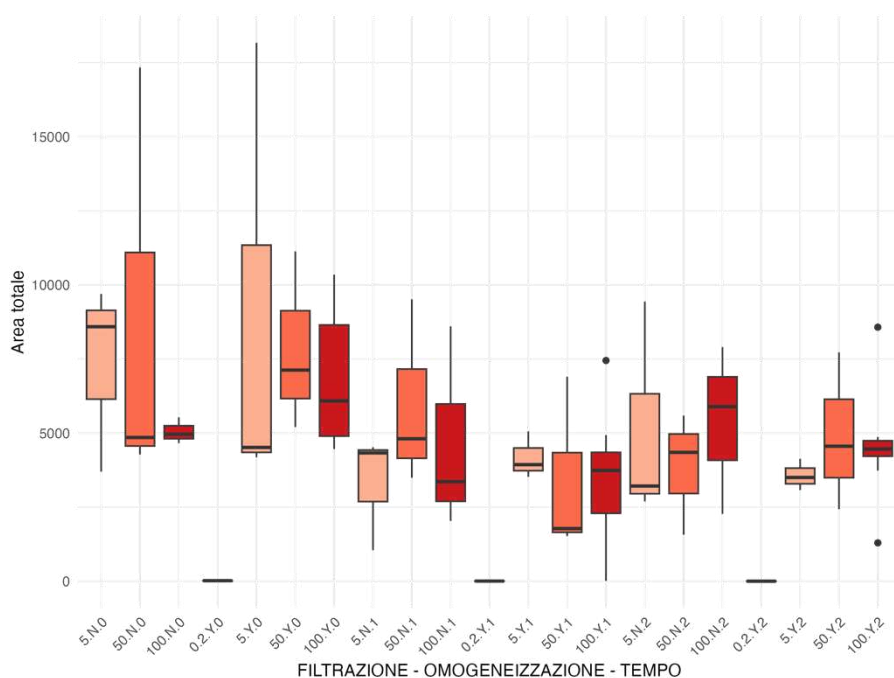


Fig.13 Variazione dell'area totale nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell'omogeneizzazione.

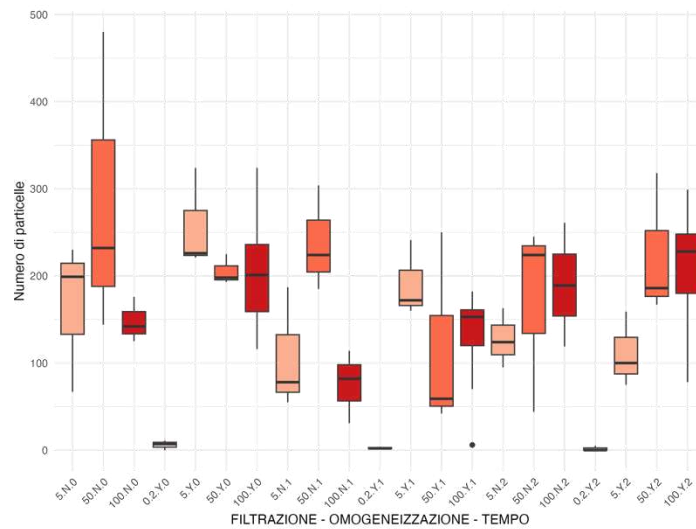


Fig. 14 Variazione del numero di particelle nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell'omogeneizzazione.

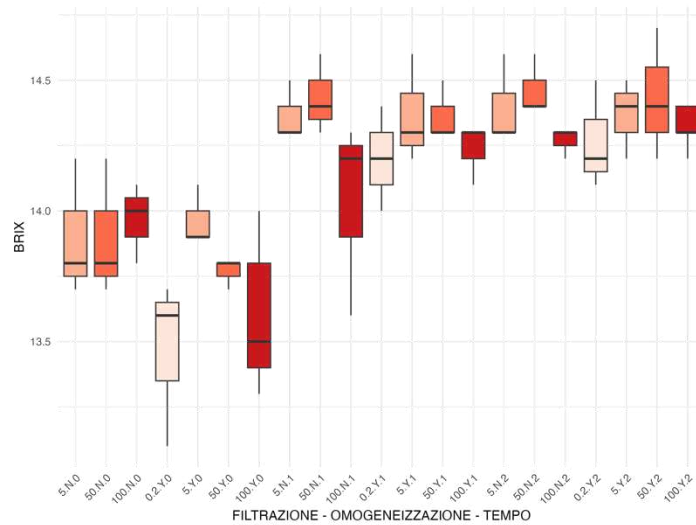


Fig. 15 Variazione dei Brix nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell'omogeneizzazione.

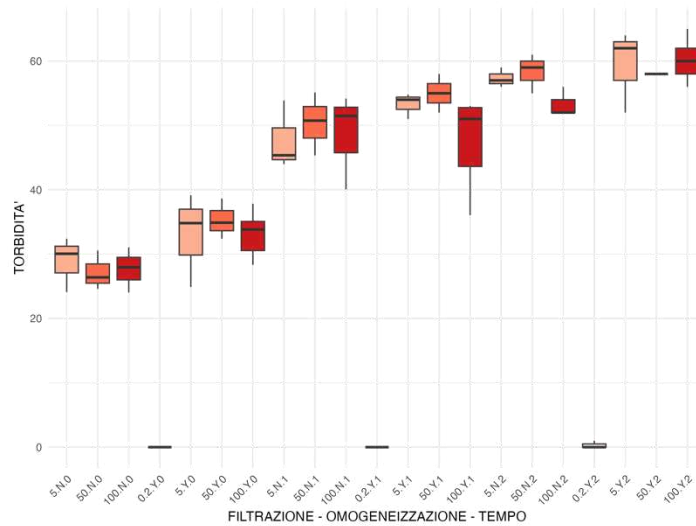


Fig. 16 Variazione della torbidità nei tre stadi temporali, all’inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell’omogeneizzazione.

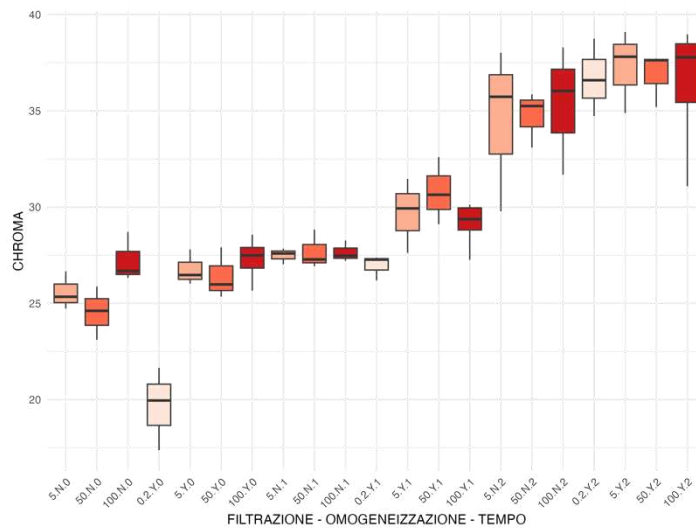


Fig. 17 Variazione del Chroma nei tre stadi temporali, all’inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell’omogeneizzazione.

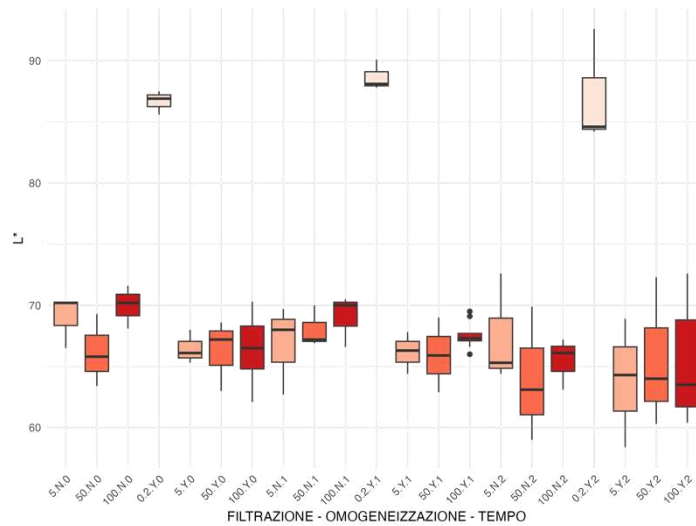


Fig. 18 Variazione di L nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell'omogeneizzazione.

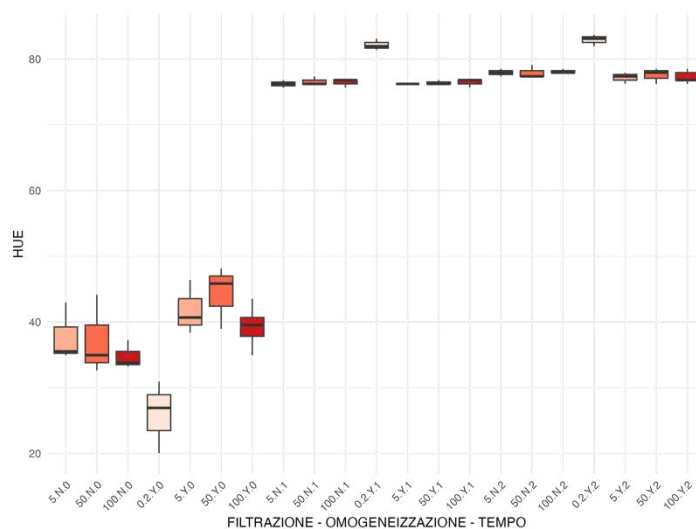


Fig. 19 Variazione di Hue nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell'omogeneizzazione.



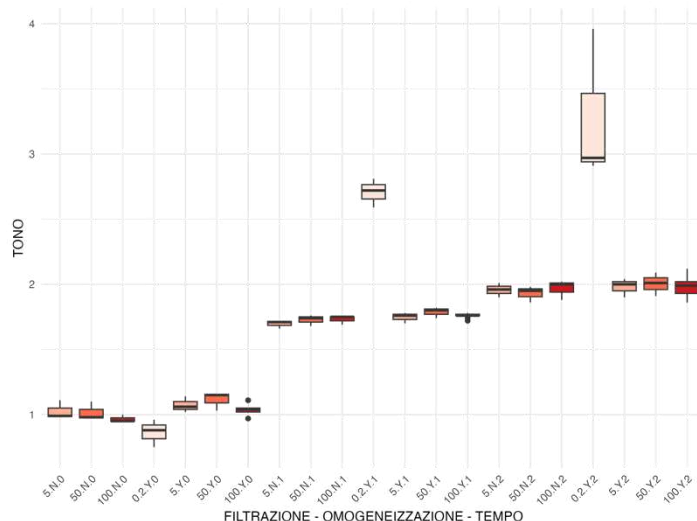


Fig. 20 Variazione del tono nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell'omogeneizzazione.

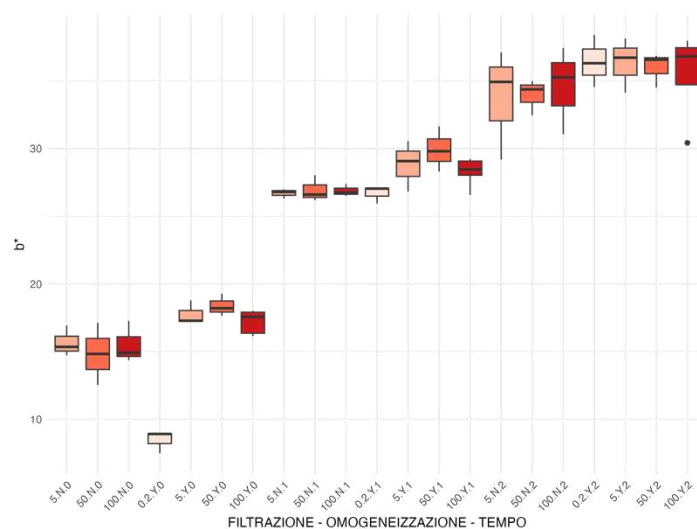


Fig. 21 Variazione del tono nei tre stadi temporali, all'inizio (0) e al termine della conservazione, svolta a temperatura ambiente (1) e in condizioni accelerate (2), e in relazione alla filtrazione e alla assenza (N) o presenza (Y) dell'omogeneizzazione.

### 5.2.2 VARIAZIONE DEL COLORE DURANTE LA CONSERVAZIONE

Al fine di descrivere la variazione del colore nel corso della conservazione dei succhi di mela, si propongono di seguito le analisi relative al  $\Delta E$  ed all'indice di imbrunimento (Browning Index – BI).

È possibile osservare l'andamento del  $\Delta E$  nei time point, si osserva un aumento del  $\Delta E$  dal tempo zero al 1° time point, per poi diminuire progressivamente stabilizzarsi. Al contrario, l'indice di imbrunimento diminuisce drasticamente all'inizio, per poi aumentare gradualmente (fig. 22). Questo cambiamento sostanziale avviene nei primi 14 giorni. Infatti, esaminando l'andamento dei due indici a partire dal quattordicesimo giorno di conservazione, è possibile osservare un aumento lineare (fig. 23).

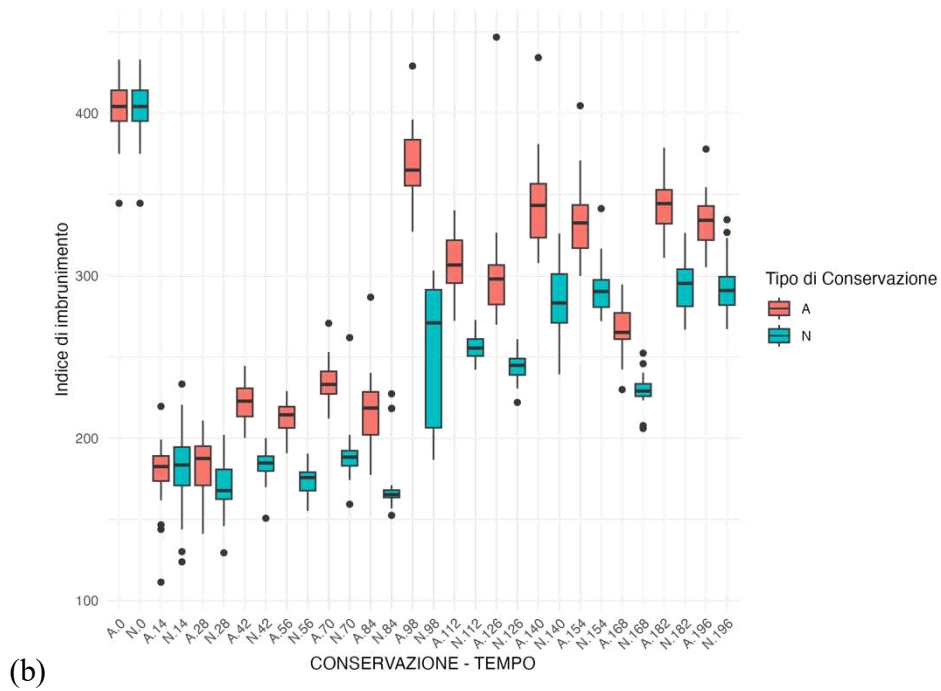
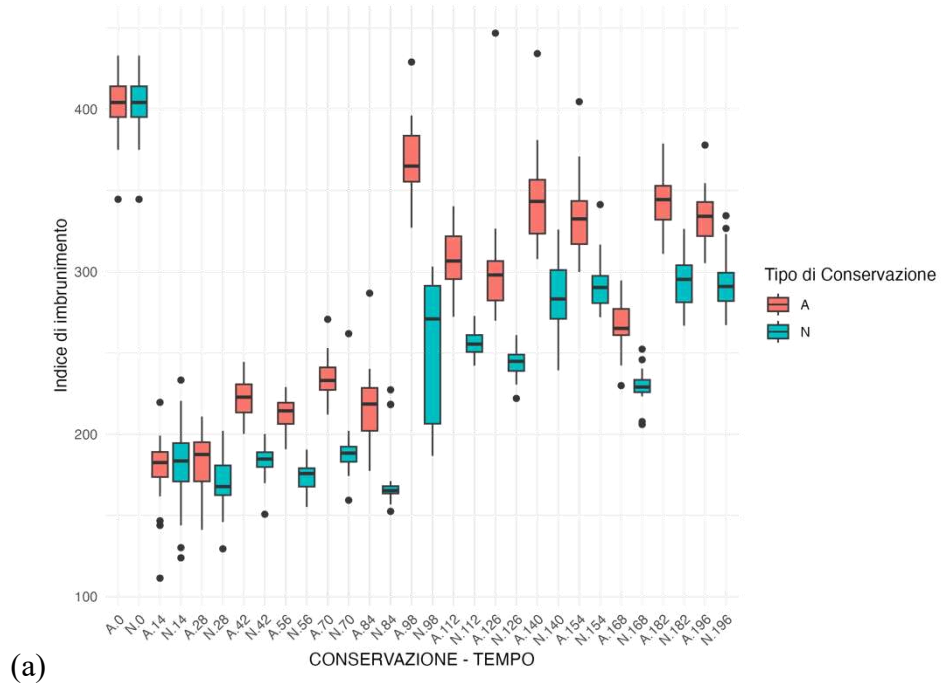
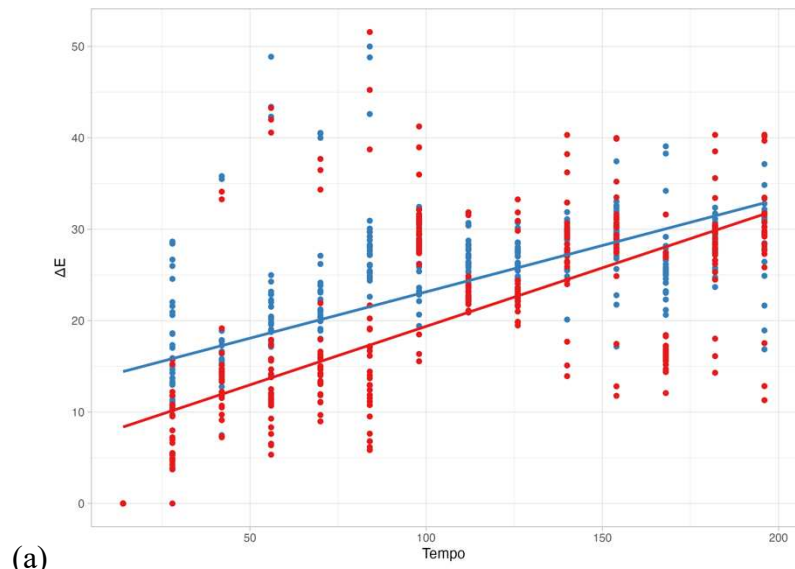
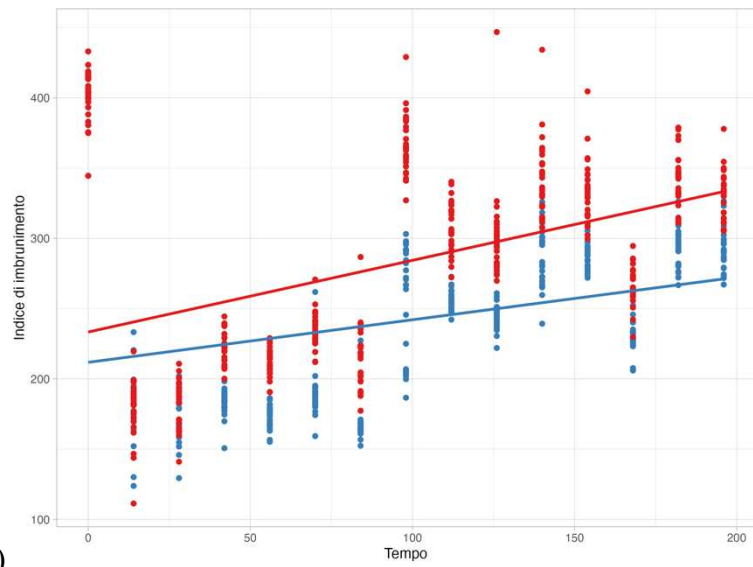


Fig. 22 Variazione di  $\Delta E$  ed Indice di imbrunimento durante la conservazione in condizioni accelerate (A) e non accelerate (N).



(a)



(b)

Fig. 23 Variazione di  $\Delta E$  ed Indice di imbrunimento a partire dal quattordicesimo giorno di conservazione in condizioni accelerate (rosso) e non accelerate (blu).

## 6 CONCLUSIONI

In conclusione, dato che l'obiettivo della tesi era quello di indagare come l'omogeneizzazione ad alta pressione e la filtrazione agiscono sulla qualità del succo di mela Kissabel® durante la conservazione tramite le analisi effettuate è possibile affermare che tali trattamenti tecnologici hanno avuto un impatto sulla qualità del succo.

I risultati mostrano che l'imbrunimento è stato influenzato dall'aumento della pressione di omogeneizzazione ha portato a un incremento del numero di particelle e della torbidità, mentre per quanto riguarda i campioni che sono stati sottoposti a filtrazione più fine hanno mostrato dei cambiamenti minori per quanto riguarda la torbidità e anche nell'imbrunimento.

Le variazioni del colore, misurate tramite  $\Delta E$  e indice di imbrunimento, hanno dato conferma che i campioni conservati a temperature elevate sono soggetti a un cambio della qualità e ad un imbrunimento più rapido rispetto ai campioni conservati a temperatura ambiente.

Per quanto riguarda l'obiettivo della tesi, si può dire che sia stato raggiunto, in quanto si è dimostrato come i trattamenti tecnologici influenzano l'attività enzimatica e le proprietà del succo di mela kissabel®.

## 7 BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

### 7.1 Bibliografia

Arnold, M., & Gramza-Michałowska, A. (2022). PPO and POD in browning reactions. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13059>

Betoret, E.; Betoret, N.; Rocculi, P.; Dalla Rosa, M. Strategies to Improve Food Functionality: Structure–property Relationships on High Pressures Homogenization, Vacuum Impregnation and Drying Technologies. *Trends Food Sci. Technol.* 2015, 46, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.006>

Espley, R. V., Hellens, R. P., Putterill, J., Stevenson, D. E., & Allan, A. C. (2019). Red-fleshed apple cultivars and their post-harvest behavior. *Postharvest Biology and Technology*, 28(3), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.10.004>

Faramarzi, S., Zare, D., & Hojjati, M. (2015). Antioxidant properties of red-fleshed apples. *Journal of Agricultural Science*, 63(2), 98-107. <https://doi.org/10.1590/S0021-25712015000200007>

Fakhreddin Salehi 2020 Physico-chemical and rheological properties of fruit and vegetable juices as affected by high pressure homogenization: A review, *International Journal of Food Properties* <https://doi.org/10.1080/10942912.2020.1781167>

Gapper, N. E., Giovannoni, J. J., & Watkins, C. B. (2013). Ethylene regulation in apples. *Plant Physiology*, 160(1), 10-17. <https://doi.org/10.1104/pp.112.205047>

Hyson, D. A. (2011). The health benefits of apple antioxidants. *Nutrition Journal*, 10, 49-58. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-10-49>

Ji, Y., & Wang, Z. (2021). Polygalacturonase activity in apple ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(12), 480-488. <https://doi.org/10.1021/jf400703h>

Lee, M., Kim, J., & Kwon, H. (2022). Role of ascorbic acid in browning inhibition. *Food Chemistry*, 354, 129546. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129546>

Lindley, M. G. (1998). Antioxidants in food processing. *Trends in Food Science and Technology*, 9(4), 89-91. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00020-2](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00020-2)

Marcellus, A., & Gramza-Michałowska, A. (2022). Enzymatic browning in fruit: Mechanisms and prevention strategies. *Trends in Food Science and Technology*, 22(1), 134-140. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.04.008>

- Marcellus, D., Smith, J., & Lee, M. (2022). Browning enzyme inhibition in fruit preservation: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 58(4), 654-665. <https://doi.org/10.1016/j.jfst.2021.08.005>
- Muñoz-Pina, S., Aguilera, J. M., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2022). PPO activity in browning reactions of fruit juices. *Food and Bioprocess Technology*, 12(8), 789-795. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-05489-w>
- Nogales-Delgado, S., Morales, P., & Garcia-Segovia, P. (2021). Influence of pre-harvest conditions on enzyme activity in fruits. *Horticulture Research*, 7(3), 400-412. <https://doi.org/10.1038/s41538-021-00057-4>
- Patrignani, F.; Lanciotti, R. Applications of High and Ultra High Pressure Homogenization for Food Safety. *Front. Microbiol.* 2016, 7, 1–13 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01132>
- Populin, F., Cata, P., & Morandini, A. (2022). Ethylene production in Kissabel apples compared to Golden Delicious. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 98(4), 345-353. <https://doi.org/10.1007/s13197-021-05110-5>
- Singh, S., Ray, S., & Nanda, D. (2018). Polyphenol oxidase and enzymatic browning: Mechanisms and control. *Journal of Food Science and Technology*, 55(3), 1020-1031. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3037-2>
- Saldo, J.; Suárez-Jacobo, Á.; Gervilla, R.; Guamis, B.; Roig-Sagués, A. Use of Ultra-high-pressure Homogenization to Preserve Apple Juice without Heat Damage. *High Pressure Res.* 2009, 29, 52–56 <https://doi.org/10.1080/08957950802715112>
- Sommano, S., Tungmunnithum, D., & Tahara, M. (2020). Natural antioxidants in apple browning inhibition. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(9), 1-12. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1653939>
- Taranto, F., Dicorato, V., & De Pascale, F. (2017). Classification of PPO enzymes in browning reactions. *Plant Science*, 258, 90-98. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.02.015>
- Varanasi, P., Yen, K. W., & Tandon, R. (2011). Gene expression of ethylene biosynthesis in apples. *Journal of Plant Physiology*, 168(8), 780-788. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2010.11.010>
- Wantong et al., 2021 Effects of High-Pressure Homogenization on Pectin Structure and Cloud Stability of Not-From-Concentrate Orange Juice <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.647748>

Zhang, X., Wang, S., & Luo, J. (2015). Comparative study of apple ripening: Golden Delicious vs. Kissabel. *Postharvest Biology and Technology*, 104, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.04.008>

Zhu, L., Zeng, L., & Wang, R. (2012). Ethylene and its role in apple ripening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(20), 5132-5138. <https://doi.org/10.1021/jf400703h>

## 7.2 Sitografia

<https://www.dnaphone.it/smart-analysis-vino>

<https://starpet.it/blog/mela-kissabel-origine/?accettato=1>

<https://www.tenco.it/en/vacuum-bottling-machines/enolmatic>

<https://trigit.com.au>