

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA
DIPARTIMENTO DI AGRONOMIA ANIMALI ALIMENTI RISORSE
NATURALI E AMBIENTE

Corso di laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari

CONGELAMENTO ISOCORO: VANTAGGI E SVANTAGGI
DI UNA TECNOLOGIA EMERGENTE PER LA
CONSERVAZIONE DEGLI ALIMENTI

Relatore

Prof. Lorenzo Guerrini

Laureando:

Davide

Giordano

Matricola n.

2013828

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

Indice

Abstract.....	2
Introduzione	5
Capitolo 1 - Congelamento.....	8
1.1 Cenni storici	10
1.2 Principi fisici	11
1.3 Ciclo frigorifero	15
1.4 Tecnologie per il congelamento nell'industria alimentare.....	16
Capitolo 2 - Congelamento isocoro	21
2.1 Processo fisico congelamento isocoro	21
2.2 Principio di funzionamento	24
2.3 Applicazione nel settore alimentare	29
2.3.1 Pollo.....	30
2.3.2 Tilapia	32
2.3.3 Spinaci	36
2.3.4 Ciliegie	38
2.3.5 Pomodoro	41
2.4 Effetti sui microrganismi	43
Capitolo 3 - Impatto Ambientale	45
Capitolo 4 - TRL	47
Capitolo 5 - Conclusioni	50
Bibliografia	51
Sitografia.....	53

Abstract

L'obiettivo di questa tesi è di indagare gli effetti del congelamento isocoro sulla conservazione dei prodotti alimentari e sulla loro qualità. Il congelamento isobaro, cioè a pressione costante, presenta nonostante le numerose applicazioni, la perdita di struttura e acqua dell'alimento. Questo comporta una diminuzione delle proprietà organolettiche del prodotto.

Si è cercato quindi di riassumere le varie ricerche scientifiche per ottenere un quadro generale dei vantaggi e degli svantaggi del congelamento a volume costante.

La tecnologia alla base è semplice l'alimento viene inserito all'interno di una camera insieme ad una soluzione di acqua e un soluto che fa rimanere in equilibrio osmotico l'alimento con la soluzione. Questo permette ai tessuti di non perdere liquidi per osmosi. La camera viene chiusa e in seguito viene abbassata la temperatura sotto gli 0 C°. La formazione di ghiaccio all'interno della camera fa alzare la pressione del sistema, mantenendo però l'alimento integro.

Dal punto di vista qualitativo, questo sistema permette ai tessuti di non rompersi e quindi non fa uscire dalle cellule acqua durante e dopo la fase di scongelamento, che è il problema principale delle tecnologie convenzionali. Inoltre, sono stati osservati altri effetti positivi; contenuto invariato di composti antiossidanti rispetto al prodotto fresco.

Dal punto di vista operativo invece, è stata osservata una diminuzione del consumo energetico totale.

Il processo però riporta dei limiti, legati alle attrezzature che devono resistere a pressioni elevate, ed alla mancanza ad oggi della possibilità di applicare questo metodo a livello industriale, dato che gli alimenti sono ad oggi posti singolarmente nel contenitore dove il congelamento avviene. È anche fondamentale trovare l'equilibrio osmotico tra alimento e soluzione per evitare la compressione data dalle alte pressioni, cosa estremamente difficile su scala industriale dove il prodotto ha un'elevata variabilità.

In base a queste informazioni, questo metodo di conservazione appare essere una promettente alternativa al congelamento tradizionale, ma necessita di ulteriori studi e miglioramenti prima di poter essere applicato nell'industria alimentare.

Abstract

The objective of this thesis is to investigate the effects of isochoric freezing on the preservation of food products and their quality. Despite its numerous applications, isobaric freezing, i.e., at constant pressure, results in the loss of food structure and water, leading to a decrease in organoleptic properties of the product.

Therefore, an attempt has been made to summarize various scientific research to obtain a general overview of the advantages and disadvantages of freezing at constant volume. The underlying technology is simple: the food is placed inside a chamber along with a water solution and a solute that maintains osmotic equilibrium with the food. This prevents the tissues from losing liquids through osmosis. The chamber is then sealed, and the temperature is lowered below 0°C. The formation of ice inside the chamber increases the system's pressure, keeping the food intact.

From a quality perspective, this system allows the tissues not to break, thereby preventing water from exiting the cells during and after the thawing phase, which is the main issue with conventional technologies. Furthermore, other positive effects have been observed, such as the unchanged content of antioxidant compounds compared to fresh products.

From an operational standpoint, a decrease in total energy consumption has been observed. However, this process has its limitations, related to the equipment's need to withstand high pressures, and the current inability to apply this method on an industrial scale since foods are currently placed individually in the container where freezing occurs. It is also crucial to find the osmotic balance between the food and the solution to avoid compression due to high pressures, which is extremely challenging on an industrial scale where the product exhibits high variability.

Based on this information, this preservation method appears to be a promising alternative to traditional freezing, but it requires further research and improvements before it can be applied in the food industry.

Introduzione

In questa tesi si descriverà l'implementazione di un sistema che, in futuro, potrebbe contribuire a migliorare la conservazione degli alimenti. Al giorno d'oggi, il fabbisogno alimentare globale ha superato tutti i limiti precedenti. La popolazione globale è in aumento e ci si aspetta di raggiungere circa i 10 miliardi di abitanti mondiali entro il 2050. Si stima, inoltre, che un terzo della produzione mondiale di cibo venga gettato o scartato prima di essere consumato. Per questo è fondamentale riuscire a ricercare nuovi metodi che possano diminuire lo spreco alimentare ed aumentare la conservazione degli alimenti il più possibile, cercando di mantenerne inalterate le qualità. (Kumari, Chauhan, e Tyagi 2022)

Attualmente, il metodo più utilizzato per la conservazione dei prodotti alimentari è il congelamento, che è sicuramente il metodo migliore finora per mantenere le proprietà organolettiche, rispetto all'essiccazione e all'inscatolamento. Tuttavia, presenta delle controindicazioni, in quanto la struttura dell'alimento spesso ne risente, soprattutto durante lunghi periodi di congelamento. Anche le proprietà organolettiche tendono a diminuire col tempo, come i composti bioattivi come l'acido ascorbico e i polifenoli totali, che sono fondamentali come attività antiossidante per il nostro organismo. (Kumari, Chauhan, e Tyagi 2022)

Il congelamento, come lo conosciamo, ha un funzionamento semplice. Si abbassa la temperatura al di sotto del punto di congelamento dell'alimento fino al completo passaggio di stato dell'acqua e dei soluti presenti all'interno. Il processo avviene a pressione costante, ma cambia il volume poiché il ghiaccio occupa uno spazio maggiore rispetto all'acqua. Questo, tuttavia, causa ingenti danni alla struttura cellulare. La texture e i componenti spesso ne risentono e vengono persi una volta che l'alimento viene scongelato. (Kumari, Chauhan, e Tyagi 2022)

Per ovviare a questo problema è stata sviluppata una nuova tecnologia, definita "congelamento isocoro" o "congelamento con sistema isocoro", con cui tali obiettivi vengono raggiunti. Al contrario della conservazione a pressione costante, in questo caso viene sfruttato il volume costante. Ciò è possibile attraverso una camera che viene sigillata, all'interno della quale sono presenti l'alimento e dell'acqua con un soluto disciolto.

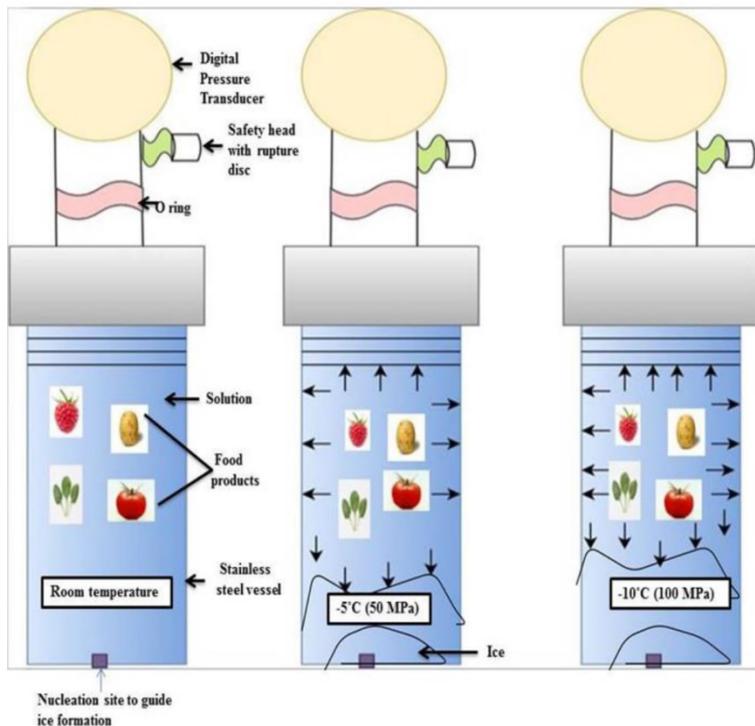


Figura 1.0 Rappresentazione grafica del congelamento isocoro. (Kumari, Chauhan, e Tyagi 2022, 6)

Tutta la camera poi viene fatta scendere di temperatura al di sotto degli 0 °C. In tal modo si formano i primi cristalli di ghiaccio che, aumentando di volume, si scontrano con le pareti rigide della camera. Non potendo espandersi, la pressione del sistema aumenta. Questo metodo permette di raggiungere temperature inferiori alla temperatura di congelamento dell'acqua senza che si formino cristalli di ghiaccio all'interno dell'alimento, che ne comprometterebbero la qualità.

In particolare, l'obiettivo della tesi è stato raccogliere tutte le informazioni possibili per spiegare al meglio i vantaggi e i limiti di questa nuova tecnologia emergente. È stato approfondito subito l'aspetto scientifico del sistema, affrontando il principio fisico alla base e il funzionamento dei macchinari utilizzati.

Proseguendo con le ricerche, è stata riscontrata grande problematica dei costi elevati e delle limitazioni delle attrezzature. Sono state analizzate le applicazioni sugli alimenti e gli effetti su di essi.

C'è da aggiungere che questa tecnologia ha già circa 20 anni e che le applicazioni in campo industriale sono ancora nulle. L'obbiettivo è che con nuovi studi e ricerche si possa trovare un modo per implementare le macchine e che si possa raggiungere sia la grande che la piccola distribuzione. In questo modo, sarà possibile tutelare i piccoli produttori, che potranno così conservare i loro prodotti per un periodo di tempo maggiore, mentre nella grande distribuzione si potrà ridurre notevolmente la perdita di materie prime, conservando gli alimenti per un periodo di tempo più lungo, mantenendo la qualità del tutto simile al prodotto fresco.

Lo scopo della tesi, quindi, è quello di portare alla luce e riassumere gli articoli più importanti presenti in letteratura, con la speranza che questa tecnologia possa essere maggiormente conosciuta e che ne possano essere implementate le sue caratteristiche.

Approfondire il congelamento isocoro e la sua potenzialità sono il fulcro di questa tesi, cercando di fornire nuovi spunti per la ricerca futura e per contribuire ad una migliore comprensione di un processo termico relativamente poco esplorato.

Il congelamento isocoro potrebbe avere applicazioni significative nell'industria alimentare per la conservazione di alimenti. Sono stati quindi esaminati gli aspetti di questo processo per preservare la qualità e la freschezza degli alimenti, contribuendo così a ridurre gli sprechi alimentari.

È un processo più sostenibile rispetto ad altre forme di congelamento dato che richiede meno energia. Le implicazioni ambientali di questo processo sono state approfondite e sono state confrontate con altre tecniche di congelamento.

CAPITOLO 1 - CONGELAMENTO

Il congelamento è un processo termodinamico in cui una sostanza passa dallo stato liquido allo stato solido a causa della diminuzione della temperatura al di sotto del punto di congelamento. Durante il congelamento, le molecole o gli atomi della sostanza rallentano la loro energia cinetica, avvicinandosi tra loro e formando una struttura solida regolare. Durante questo processo, la temperatura rimane costante fino a quando tutto il materiale non si è solidificato, a quel punto la temperatura inizia a scendere ulteriormente.

Il congelamento è un processo fondamentale in molti contesti, come la conservazione degli alimenti, la produzione di ghiaccio e la criopreservazione di cellule e tessuti. Durante il congelamento, è importante controllare la velocità di raffreddamento per evitare la formazione di grandi cristalli di ghiaccio che potrebbero danneggiare i prodotti o le sostanze.

È importante notare una distinzione tra il congelamento dell'acqua pura e delle soluzioni acquose. Nel primo caso, la temperatura viene portata fino a 0°C , il punto di congelamento, a cui avviene il cambiamento di fase. Successivamente, si verifica un periodo in cui esistono contemporaneamente sia una fase liquida che una fase solida. Alla fine di questa fase, tutta l'acqua è stata trasformata in ghiaccio, e la temperatura continua a diminuire. Nel secondo caso, il processo inizia a una temperatura inferiore rispetto al punto di congelamento dell'acqua pura, poiché sono presenti soluti disciolti. Quando la temperatura raggiunge il punto di congelamento, è solo il solvente che cambia di stato. Con il passare del tempo e la formazione di cristalli di ghiaccio, i soluti si concentrano nella soluzione rimanente, creando così una curva che ha come estremi il punto in cui l'acqua inizia a congelare e l'altro in cui anche i soluti solidificano. Questo momento è chiamato punto eutettico. (Friso 2018)

In entrambi i casi, il processo segue due fasi: la nucleazione, durante la quale si formano i primi cristalli di ghiaccio, e la fase di accrescimento, durante la quale i cristalli crescono in dimensioni. La velocità con cui si formano i cristalli determina anche il loro numero finale. Maggiore è il numero di cristalli, minore sarà il danno meccanico inflitto alle pareti cellulari.

Prima di raggiungere la fase di congelamento, esiste un periodo chiamato sopraraffusione o super raffreddamento, durante il quale la temperatura scende molto al di sotto del punto di congelamento. Il grado di sopraraffusione influisce sulla formazione dei cristalli di ghiaccio. Maggiore è il grado di sopraraffusione, maggiore è il calore di cristallizzazione che può essere assorbito dalla soluzione sopraraffusa, accelerando così il processo di congelamento. (Geidobler e Winter 2013)

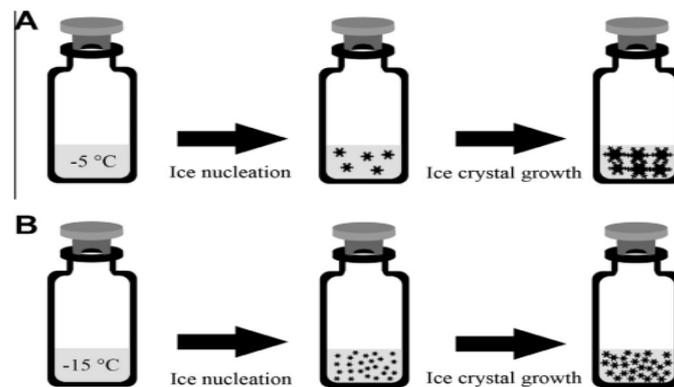


Figura 1.1. Descrizione esemplificativa della nucleazione del ghiaccio a diverse temperature del prodotto. Nel caso A la temperatura è di $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ con formazione di cristalli di ghiaccio più larghi. Nel caso B ci troviamo a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ con cristalli di ghiaccio più piccoli e numerosi. (Geidobler e Winter 2013)

Quindi più bassa è la temperatura e più velocemente la soluzione la raggiunge, migliore sarà il congelamento finale. Con una struttura cristallina più piccola e un numero maggiore di nuclei.

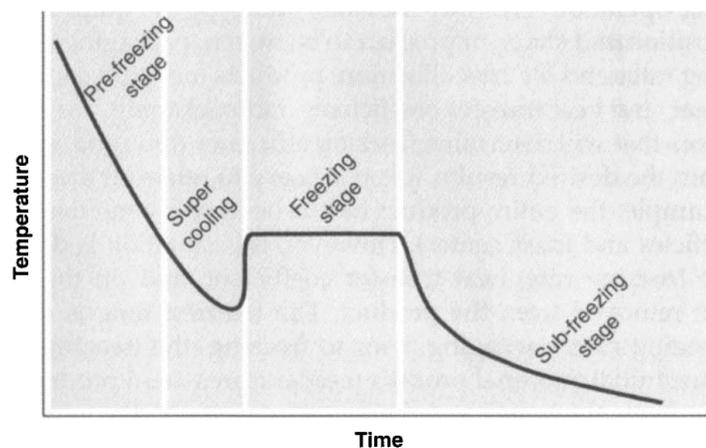


Figura 1.2. Curva di raffreddamento tipica di un processo di congelamento. (Alexandre, Brandão, e Silva 2013, 129)

Riassumendo, il processo di congelamento è composto da quattro stadi: pre-congelamento, sopraffusione, fase di congelamento e fase di sotto-congelamento. Nella prima fase, il calore viene rimosso dal prodotto fino a raggiungere il punto di congelamento. Nel secondo stadio, la temperatura scende al di sotto del valore di congelamento. Durante il terzo passaggio, il calore latente viene eliminato e l'acqua si trasforma in ghiaccio. Nell'ultimo stadio, la temperatura dell'oggetto viene abbassata fino alla temperatura di conservazione.

1.1 Cenni storici

Il congelamento è stato utilizzato fin dall'antichità come metodo di conservazione degli alimenti. Questo processo rallenta l'attività degradativa dei microrganismi e permette la preservazione dei prodotti per lunghi periodi di tempo. Il congelamento ha origini in Cina, dove venivano costruite delle cantine di ghiaccio per conservare gli alimenti già nel 1000 a.C. Successivamente, Greci e Romani conservarono gli alimenti in celle dove veniva compressa la neve. Nella seconda metà dell'Ottocento, negli Stati Uniti d'America, si iniziò a congelare il pesce utilizzando sale e ghiaccio per ridurre la temperatura. Questo metodo divenne fondamentale per l'industria, che iniziò a congelare sia la carne bovina che il pollame, consentendo il loro trasporto per lunghi periodi. La svolta nella vendita al dettaglio degli alimenti congelati avvenne negli anni '30, con il commercio di oltre 26 varietà di verdure, carne, pesce e frutta da parte di un'azienda americana. Si iniziò a sviluppare il concetto di congelamento rapido per assicurare la formazione di cristalli di ghiaccio più piccoli, al fine di massimizzare la qualità dei prodotti congelati. Per alcuni tipi di alimenti, venne applicata la tecnica del "blanching" un trattamento termico rapido utilizzato per inattivare enzimi che potrebbero danneggiare le proprietà organolettiche durante il periodo di conservazione. Il blanching è applicato soprattutto alle verdure per periodi brevi, da 1 a 10 minuti, a temperature di circa 75-95°C. (Archer 2004)

1.2 Principi fisici

Il congelamento ha come base del suo funzionamento la temperatura. Essa è un descrittore fondamentale dello stato di un sistema. Se la temperatura viene ridotta, il movimento delle molecole diminuisce, così come la velocità delle reazioni. Questo è spiegato nella relazione di Arrhenius, dove i tassi di reazione sono collegati alla temperatura.

$$\ln k = -\frac{E_a}{RT} + \text{const.}$$

Figura 1.3. Legge di Arrhenius (Reid 1997, 11)

E_a rappresenta l'energia di attivazione delle singole reazioni. Un criterio da tenere in considerazione è il calore. Esso deve essere eliminato dal sistema e viene definito trasferimento di calore. Viene così quantificata la quantità di calore che passa da un corpo all'altro, che è correlata quindi alla sua temperatura.

La relazione può essere descritta secondo questa formula: $q = C \Delta T$. Dove q rappresenta lo scambio di calore, C è la capacità termica del sistema e ΔT è la differenza di temperatura.

Una prima caratteristica di un sistema congelato è la coesistenza di due fasi: quella liquida e quella solida. La frazione solida può essere suddivisa ulteriormente in due categorie: lo stato amorfo e lo stato cristallino. Un altro fenomeno importante è che sotto gli 0 °C, la formazione del ghiaccio non è automatica. Sebbene la termodinamica indica il ghiaccio come la forma più stabile dell'acqua, la cinetica gioca un ruolo fondamentale. Per entrare nella fase cristallina, devono esistere dei nuclei di iniziazione. Anche con i nuclei, però, l'equilibrio non viene raggiunto subito, ma subentra una fase di propagazione influenzata dalle proprietà del sistema e dalla velocità di trasferimento del calore. Alla temperatura di 0 °C, il passaggio dall'acqua al ghiaccio impiega circa 1 ora. Questo vale per l'acqua pura. In presenza di un soluto, invece, la pressione di vapore del solvente è ridotta. Questo fa sì che la temperatura del cambio di fase sia più bassa. Questo effetto di riduzione della pressione di vapore e la sua influenza sulle relazioni di fase all'equilibrio sono noti come "effetto colligativo". (Reid 1997)

$\Delta T = k / m$ è la formula utilizzata per descrivere la diminuzione del punto di congelamento, dove con ΔT si indica la differenza di temperatura, con k la costante crioscopica e con m la concentrazione della soluzione espressa in molalità. Questa equazione deriva dalla legge di Raoult ed è valida a basse concentrazioni. A concentrazioni elevate, è impossibile predire la diminuzione del punto di congelamento. Finora è stato preso in considerazione un sistema semplice in cui la temperatura varia come una funzione continua del contenuto di calore. Sebbene possa essere una descrizione accurata del sistema senza cambiamento di fase, di fatto il passaggio di stato è accompagnato da un cambiamento nel contenuto di calore e deve essere preso in considerazione se si tratta di un trasferimento di energia durante il congelamento. All'equazione prima descritta va aggiunto quindi un termine q_p , che rappresenta il calore latente del cambio di stato. Quindi l'equazione diventerà $q = C \Delta T + q_p$. A causa del rilascio di calore latente associato alla formazione del ghiaccio, è necessario rimuovere molto più calore quando si verifica il congelamento. (Reid 1997)

Tutti i prodotti alimentari contengono alcuni soluti. Non è possibile congelare tutta l'acqua presente nel prodotto alimentare a una temperatura precisa, ossia al punto di congelamento. Man mano che sempre più acqua viene convertita in ghiaccio, la concentrazione dei soluti aumenta, causando una depressione del punto di congelamento. È molto difficile stabilire un punto finale definito per un processo di congelamento. Nel calcolo del tempo necessario per completare un processo di congelamento, si prende come punto finale del congelamento il tempo necessario per ridurre la temperatura del prodotto, misurata nel suo centro termico, a una temperatura richiesta, che porta alla cristallizzazione della maggior parte dell'acqua e di alcuni soluti.

Il tasso di congelamento, che influenza il tempo di congelamento e la qualità del prodotto, può essere definito come la differenza tra la temperatura iniziale e finale del prodotto divisa per il tempo di congelamento (°C/s). Può anche essere espresso come il rapporto tra la distanza superficiale e il centro termico del cibo e il tempo che trascorre tra il raggiungimento della temperatura superficiale a 0°C e il centro termico a 5°C al di sotto della temperatura di formazione del ghiaccio iniziale. La profondità si misura in centimetri e il tempo in ore, dando unità di cm/h per il tasso di congelamento.

La stima del tempo di congelamento è il principale fattore in qualsiasi operazione sugli alimenti. La capacità dell'impianto di refrigerazione è determinata dal tempo necessario per l'operazione di congelamento. Nel calcolo, si utilizza il concetto di tempo di arresto termico, ossia il tempo necessario per ridurre la temperatura del prodotto a una temperatura stabilita al di sotto del punto di congelamento iniziale. Durante il congelamento, il calore si propaga dall'interno del cibo alla superficie e viene poi condotto o convettivamente trasferito al mezzo di congelamento. I fattori che influenzano questo processo sono la conducibilità termica, lo spessore, la densità, l'area superficiale del cibo, la differenza di temperatura tra il prodotto e il mezzo di congelamento e la resistenza offerta dallo strato limite che circonda il prodotto. La previsione del tempo di congelamento è complicata perché le proprietà del cibo, come la conducibilità termica, la densità e il calore specifico, cambiano con la temperatura, così come le differenze nella temperatura iniziale, le dimensioni e la forma degli alimenti.

Un'equazione semplice e diretta per la previsione del tempo di congelamento è stata sviluppata da Planck. L'equazione coinvolge la combinazione di conduzione e convezione di base e l'uguaglianza di questa al calore latente di congelamento liberato quando l'acqua si trasforma in ghiaccio.

La forma più generale dell'equazione di Planck è la seguente:

$$tf = \rho L (T_i - T_m) Pa / (h Ra^2 k)$$

Dove: t_f è il tempo di congelamento (s), ρ è la densità del prodotto (kg/m^3), L è il calore latente di fusione (J/kg), T_i è la temperatura iniziale di congelamento del cibo (K), T_m è la temperatura del mezzo di congelamento (K), a è lo spessore della lastra o il diametro della sfera o del cilindro infinito (m), h è il coefficiente di

trasferimento di calore superficiale ($W/m^2 K$), k è la conducibilità termica del cibo congelato ($W/m K$), P e R sono fattori geometrici.

Per una lastra infinita, $P=1/2$ e $R=1/8$. Per una sfera, P e R sono rispettivamente $1/6$ e $1/24$, e per un cilindro infinito, $P=1/4$ e $R=1/16$.

L'effetto della forma del prodotto alimentare sul tempo di congelamento può essere dedotto dai fattori geometrici. Una lastra di spessore " a ", un cilindro e una sfera di diametro " a " avranno tempi di congelamento rispettivamente di 6:3:2 quando sono esposti alle stesse condizioni di congelamento. (Muthukumarappan, Marella, e Sunkesula 2019)

L'equazione di Nagaoka è una modifica dell'equazione di Planck che introduce alcune correzioni per renderla più adatta a situazioni pratiche. In particolare, sostituisce il calore latente con la variazione di entalpia specifica del prodotto tra lo stato iniziale e lo stato finale del congelamento. Inoltre, aggiunge un "fattore correttivo" per tener conto della temperatura iniziale del prodotto rispetto alla sua temperatura di inizio del congelamento. L'equazione di Nagaoka ha la seguente forma:

$$tf = h \cdot f(a) \cdot k \rho \cdot \Delta H \cdot [1 + 0.008 \cdot (T_i - T_{ic})]$$

Dove: tf è il tempo di congelamento (in secondi), ρ è la densità del prodotto (in kg/m^3), ΔH è la variazione di entalpia specifica del prodotto tra lo stato iniziale e lo stato finale del congelamento (in J/kg), T_i è la temperatura iniziale del prodotto (in Kelvin), T_{ic} è la temperatura di inizio del congelamento del prodotto (in Kelvin), h è il coefficiente di trasferimento di calore sulla superficie del prodotto (in $W/m^2 \cdot K$), $f(a)$ è il termine geometrico che considera la forma del prodotto, k è la conducibilità termica del prodotto (in $W/m \cdot K$).

Questo modello tiene conto in modo più accurato delle variazioni nella temperatura iniziale del prodotto e nella sua entalpia specifica durante il processo di congelamento. È utile per previsioni più precise dei tempi di congelamento in ambienti di produzione alimentare e ricerca. (Friso 2018)

1.3 Ciclo frigorifero

Per applicare il congelamento a un prodotto, è necessaria una macchina frigorifera, che è un dispositivo progettato per rimuovere il calore da uno spazio o da un materiale e trasferirlo altrove, generando un ambiente a temperatura più bassa. Questo processo è reso possibile grazie a un ciclo termodinamico noto come "ciclo di refrigerazione".

Di seguito, una descrizione di base di una macchina frigorifera.

Il compressore è il cuore della macchina frigorifera. Ha la funzione di comprimere un gas refrigerante, aumentandone la pressione e la temperatura.

Il gas compresso ad alta pressione viene quindi inviato al condensatore, dove cede il calore all'ambiente circostante o a un fluido di raffreddamento (come l'aria o l'acqua). Il gas si condensa e passa allo stato liquido a causa del rilascio di calore.

Il liquido ad alta pressione viene quindi fatto passare attraverso una valvola di laminazione, dove la pressione viene improvvisamente ridotta. Ciò provoca un'espansione del liquido, il che lo fa evaporare e riduce drasticamente la sua temperatura.

Il liquido refrigerante a bassa pressione e temperatura entra nell'evaporatore, situato all'interno dell'area o del sistema che si desidera raffreddare. In questo processo, il liquido assorbe il calore dall'ambiente circostante e si trasforma di nuovo in gas.

Il gas refrigerante in forma gassosa viene quindi risucchiato nuovamente dal compressore, e il ciclo riprende. Il processo si ripete continuamente per mantenere la temperatura della camera e/o del materiale al di sotto della temperatura ambiente.

La macchina frigorifera utilizza un gas refrigerante, che viene ciclicamente compresso e decompresso. Durante la compressione, il gas assorbe il calore dal condensatore, e durante la decompressione, il gas cede il calore all'evaporatore. Questo ciclo consente al sistema di rimuovere costantemente il calore da un'area e mantenerla a una temperatura desiderata più bassa. (Friso 2018)

I sistemi di adsorbimento richiedono intrinsecamente ampie superfici di scambio termico per trasferire il calore da e verso i materiali adsorbenti, il che comporta automaticamente un problema di costi. I sistemi ad alta efficienza richiedono che il calore di adsorbimento venga recuperato per fornire una parte del calore necessario per rigenerare l'adsorbente. Questi cicli rigenerativi necessitano quindi di multipli scambiatori di calore a due letti e di complessi circuiti di trasferimento del calore e controlli per recuperare ed utilizzare il calore residuo dovuto al passaggio degli scambiatori di calore dall'adsorbimento al desorbimento del refrigerante. (Tassou et al. 2010)

1.4 Tecnologie per il congelamento nell'industria alimentare

Il metodo più ampiamente utilizzato per congelare i prodotti alimentari è il congelamento per contatto con aria fredda. Il congelamento naturale per convezione, che comporta basse velocità di congelamento (e quindi tempi di congelamento elevati), non viene molto utilizzato a livello industriale a causa di queste limitazioni.

Quando il calore viene rimosso dal prodotto mediante convezione forzata (ventole che aumentano la velocità dell'aria fredda), l'efficienza del processo migliora. La temperatura dell'aria è più uniforme e la velocità dell'aria può essere controllata per favorire il trasferimento di calore sulla superficie dei prodotti. Tuttavia, il tempo di congelamento dipende sempre dalle caratteristiche e dalla forma del prodotto. Nei prodotti sottili con ampie superfici esposte, il tempo di congelamento può essere ridotto aumentando la velocità dell'aria fredda. Nei prodotti spessi con superfici esposte più limitate, il tempo di congelamento sarà essenzialmente limitato dalla velocità di conduzione del calore attraverso lo spessore del prodotto. (Alexandre, Brandão, e Silva 2013)

In generale, la temperatura dell'aria in un congelatore a refrigerazione meccanica si situa solitamente tra -32°C e -40°C . Questo metodo consente di congelare in modo efficace una vasta gamma di prodotti alimentari, mantenendo la loro qualità e sicurezza.

Un' altra tecnologia è il congelamento a piastre. Questo metodo coinvolge il posizionamento del prodotto alimentare tra due piastre metalliche estremamente fredde, spesso realizzate in alluminio o acciaio inox. Le piastre sono mantenute a temperature molto basse tramite un sistema di refrigerazione. Il contatto diretto con le piastre consente un rapido trasferimento di calore, congelando efficacemente il cibo. Questa tecnologia è spesso utilizzata per prodotti come hamburger, pesce e carne sottile.

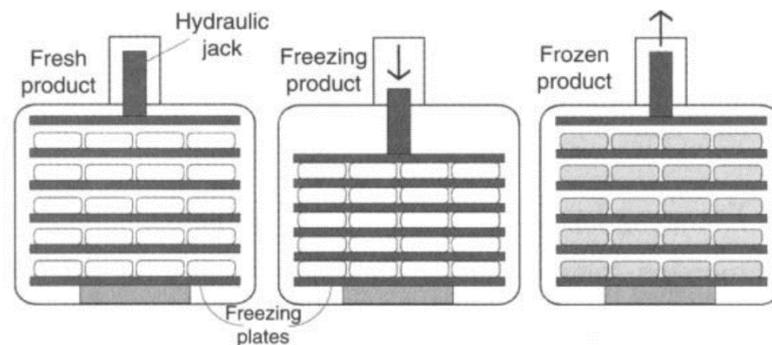


Figura 1.4. Illustrazione schematica di un congelatore criogenico. (Alexandre, Brandão, e Silva 2013, 136)

Nei due seguenti metodi, la tecnologia alla base è la stessa, in quanto sfruttano entrambi un getto di aria fredda a contatto con l'alimento.

Il congelamento a spirale o tunnel è un'altra tecnica in cui i prodotti alimentari vengono trasportati attraverso un tunnel di congelamento a spirale. Durante il passaggio attraverso il tunnel, l'aria fredda viene soffiata sui prodotti per rimuovere il calore. Questo metodo è molto efficiente ed è utilizzato per prodotti confezionati o sfusi, come verdure, frutta e prodotti da forno. (Alexandre, Brandão, e Silva 2013)

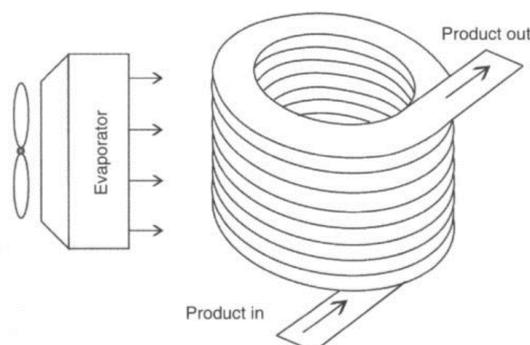


Figura 1.5. Illustrazione schematica di un congelatore a nastro a spirale. (Alexandre, Brandão, e Silva 2013, 133)

Il congelamento a flusso continuo o nastro è un processo in cui i prodotti alimentari vengono posizionati su un nastro trasportatore che scorre attraverso una camera di congelamento. L'aria fredda circola intorno ai prodotti per rimuovere il calore e congelarli gradualmente. Questa tecnologia è comunemente utilizzata per prodotti come hamburger, patatine fritte e alimenti sfusi.

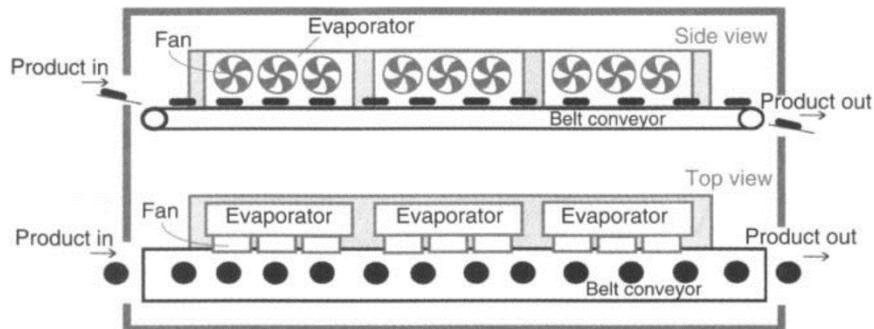


Figura 1.6. Illustrazione schematica di un congelatore a tunnel.(Alexandre, Brandão, e Silva 2013, 133)

Il congelamento per immersione è un altro metodo che implica l'immersione dei prodotti alimentari in un liquido refrigerante molto freddo, come azoto liquido o una soluzione di sale e acqua. Il contatto diretto con il liquido a basse temperature provoca il congelamento immediato dei prodotti. Questo metodo è spesso utilizzato per alimenti delicati o di piccole dimensioni, come frutta, verdura o prodotti ittici. (Alexandre, Brandão, e Silva 2013)

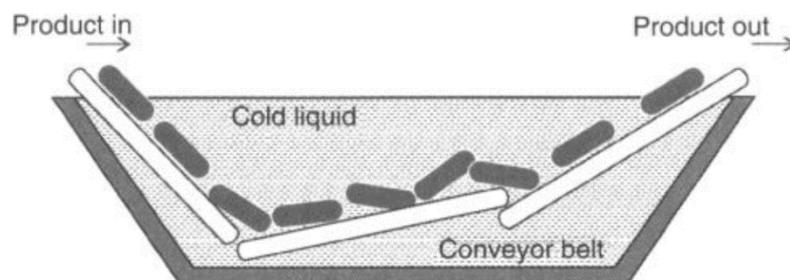


Figura 1.7. Illustrazione schematica di un congelatore a immersione.(Alexandre, Brandão, e Silva 2013, 135)

Nel congelamento criogenico viene coinvolto l'uso di gas criogenici come l'azoto liquido o il biossido di carbonio solido (gelo secco) per congelare rapidamente i prodotti. I gas criogenici sono estremamente freddi e possono congelare il cibo molto rapidamente. Questa tecnologia è spesso utilizzata in applicazioni industriali e per la criopreservazione di materiali biologici. Il congelamento criogenico può essere effettuato in tre modi diversi: il liquido criogenico viene spruzzato direttamente sul cibo in un congelatore a tunnel, il liquido criogenico viene vaporizzato e soffiato sul cibo in un congelatore a spirale o in un congelatore a batch, o il prodotto alimentare viene immerso nel liquido criogenico in un congelatore per immersione. Tuttavia, il metodo più comune è l'applicazione diretta di soluzioni criogeniche sul prodotto mentre viene trasportato attraverso un tunnel isolato. (Alexandre, Brandão, e Silva 2013)

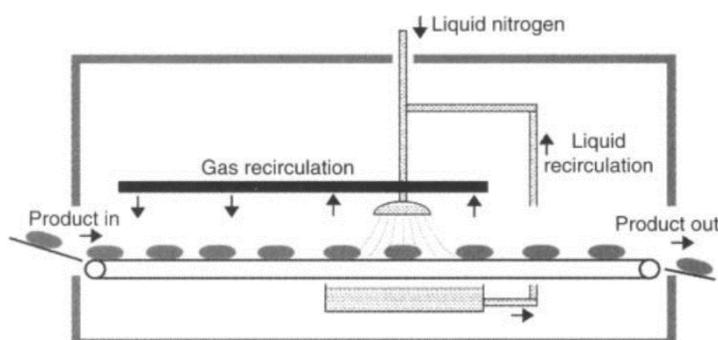


Figura 1.8. Illustrazione schematica di un congelatore criogenico. (Alexandre, Brandão, e Silva 2013, 137)

Si stanno implementando anche tecnologia non invasive per il prodotto alimentare. Si possono sfruttare ad esempio le alte pressioni. La temperatura di cambiamento di fase dell'acqua si abbassa sotto pressione per il ghiaccio I fino a 200 MPa (2000 bar), corrispondente a una temperatura di cambiamento di fase di circa -20 °C. Per pressioni più elevate, la temperatura di cambiamento di fase aumenta. Questa proprietà molto specifica è considerata in tre processi di congelamento specifici:

Congelamento con spostamento di pressione (PSF). Congelamento assistito dalla pressione (PAF). Cristallizzazione indotta dall'alta pressione (HPIC).

Nel caso di PAF, il processo di congelamento viene effettuato a pressione costante ed elevata. Ciò comporta un processo lungo con trasferimento di calore guidato dalla convezione naturale in un recipiente ad alta pressione, che produce un processo espansivo. Nel caso di PSF, il prodotto alimentare da congelare viene posto in un contenitore contenente un fluido refrigerante a temperatura di congelamento, quindi il contenitore viene chiuso e la pressione viene aumentata al di sopra della temperatura di congelamento del prodotto. Il prodotto viene quindi raffreddato nel contenitore senza cambiamento di fase. Successivamente, la pressione viene improvvisamente e rapidamente riportata alla pressione atmosferica. Durante la diminuzione della pressione, il calore sensibile del prodotto viene convertito in cristalli di ghiaccio. Durante la diminuzione della pressione, di solito si osserva uno spostamento dell'equilibrio di fase pressione-temperatura, con conseguente alto livello di super-raffreddamento e una struttura dei cristalli di ghiaccio molto raffinata. Tuttavia, il congelamento è parziale e si stima che nel miglior caso possa formarsi circa il 10% di ghiaccio. Il PSF è già un processo piuttosto lungo che richiede, inoltre, un processo di congelamento finale alle condizioni atmosferiche per finalizzare la completa conversione dell'acqua parzialmente congelata in congelamento completo. Nel processo HPIC, viene applicata alta pressione dopo il congelamento convenzionale per indurre una transizione solida-solido (transizioni di fase da Ice I a Ice III). Questo processo è stato proposto come possibile metodo a bassa temperatura per ridurre il carico microbico sugli alimenti. (Jha, Le-Bail, e Jun 2022)

CAPITOLO 2 - CONGELAMENTO ISOCORO

2.1 Processo fisico congelamento isocoro

Gli obiettivi del congelamento sono due: ridurre la velocità metabolica al minimo, dato che gli enzimi sono proteine temperatura-dipendenti e rendere inospitale l'ambiente per i microrganismi. Il congelamento tradizionale raggiunge questi obiettivi, ma allo stesso tempo diminuisce la qualità degli alimenti, il consumo energetico è elevato e c'è un'elevata perdita di peso.

Alla base del congelamento isocoro bisogna considerare il processo fisico. Da un punto di vista prettamente termodinamico, questa metodologia può essere considerata un sistema chiuso, in cui il volume è tenuto costante. Per sistema chiuso, si intende un sistema che non scambia massa con l'ambiente esterno, ma può effettuare solo scambi di energia. È un sistema chiuso perché il processo avviene in una camera sigillata.

Il principio alla base è quello di Le Chatelier, perché all'interno della camera abbiamo due fasi contemporaneamente, quella liquida cioè l'acqua e quella solida cioè il ghiaccio. Questo è dovuto al fatto che l'acqua si espande con il congelamento. Si forma così una pressione causata dal sistema a volume costante, e la formazione della fase solida viene ostacolata. Si forma solo il 55% del ghiaccio a partire dal volume iniziale d'acqua, al punto triplo. (Kumari, Chauhan, e Tyagi 2022)

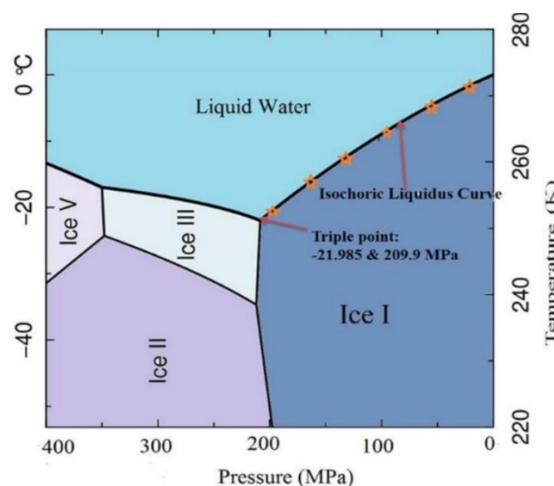


Figura 2.1. Diagramma pressione-temperatura dell'acqua pura. (Kumari, Chauhan, e Tyagi 2022, 5)

Nel grafico pressione-temperatura qui riportato, si può osservare che la curva del congelamento isocoro coincide con quella del passaggio di fase tra liquido e solido. La curva prosegue poi fino al punto triplo, cioè al punto in cui troviamo due fasi diverse di ghiaccio e la fase liquida, cioè l'acqua. La differenza tra le fasi solide sta principalmente nella forma del ghiaccio; ad esempio, "Ice 1" corrisponde al ghiaccio con una struttura esagonale, mentre "Ice 3" corrisponde a un ghiaccio tetragonale, formato raffreddando l'acqua fino a $-23,15\text{ }^{\circ}\text{C}$ e 300 MPa. È la fase meno densa tra quelle ad alta pressione e risulta più densa dell'acqua. (Rubinsky, Perez, e Carlson 2005)

La pressione, come detto in precedenza, è causata dalla formazione del ghiaccio che, entrando in contatto con le pareti rigide della camera, riesce a creare una pressione idrostatica molto elevata; ciò avviene anche grazie all'assenza di aria, che è altamente comprimibile. Questo aumento genera inoltre un abbassamento del punto di congelamento. Per questo motivo, al punto triplo precedentemente enunciato, il ghiaccio che si forma è di circa la metà del volume iniziale; quindi, il ghiaccio continua ad espandersi fino al raggiungimento dell'effettivo punto di congelamento del sistema a una precisa temperatura.

Grazie a questo processo, gli alimenti vengono conservati in acqua e non in ghiaccio, trovandoci in una situazione bifasica. Questo evita i danni da congelamento, dato che non solo il prodotto è immerso in acqua, ma esso stesso non congela. Questa separazione tra alimento e ghiaccio non si verifica nel congelamento convenzionale isobaro.

L'osmolalità extracellulare e intracellulare giocano anche un ruolo significativo nell'ostacolare la formazione dei cristalli di ghiaccio nel congelamento isocoro. Mentre nel congelamento isobaro l'osmolalità extracellulare è maggiore rispetto a quella intracellulare, si verifica una formazione incontrollata di cristalli di ghiaccio che danneggiano la struttura cellulare, cosa che non avviene nel congelamento a volume costante. (Kumari, Chauhan, e Tyagi 2022)

Per spiegare il modello teorico del congelamento isocoro, bisogna prima partire dal congelamento isobaro. Ci sono diversi fattori da considerare all'interno del modello. Il calore necessario per portare una massa d'acqua dalla sua temperatura fino agli $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, il calore latente di solidificazione, cioè il calore

necessario all'acqua liquida per cambiare stato al punto di congelamento, e infine il calore necessario per portare la massa di ghiaccio alla temperatura al di sotto del congelamento, cioè quando tutta la massa liquida è passata allo stato solido. Il modello è riassumibile con questa formula:

$$E = m_{total}L(T_0) + m_{total} \int_{T_0}^{T_1} c_{p_ice}(T)dT$$

Figura 2.2. Formula per calcolare l'energia necessaria per effettuare un congelamento isobaro (Powell-Palm e Rubinsky 2019, 4)

Dove E è l'energia richiesta per raggiungere l'equilibrio alla temperatura di sotto congelamento T1, L(T0) è il calore latente di fusione dell'acqua a 0 °C, mtotal è la massa totale del sistema, cp_ice è il calore specifico del ghiaccio. Nel congelamento isobaro, l'intero passaggio da liquido a solido avviene al punto di congelamento, quindi il calore latente non è integrato.

Al contrario, nel congelamento isocoro, il punto di congelamento decresce durante la fase di transizione; tutto ciò è causato dall'incremento di pressione interna e quindi solo una parte della massa iniziale d'acqua può congelare. (Powell-Palm e Rubinsky 2019)

$$E = \int_{T_0}^{T_1} L(T)m_{total}mp'_{ice}(T)dT + \int_{T_0}^{T_1} c_{p_water}(T) \times m_{total}(1 - mp_{ice}(T))dT + \int_{T_0}^{T_1} c_{p_ice}(T) \times m_{total}mp_{ice}(T)dT$$

Figura 2.3. Formula per calcolare l'energia necessaria per effettuare un congelamento isocoro (Powell-Palm e Rubinsky 2019, 4)

Con questa formula viene spiegata la quantità di energia E, necessaria al sistema per raggiungere l'equilibrio alla temperatura di sotto del congelamento. Il primo termine integrato rappresenta il calore latente di fusione, il secondo indica la perdita di calore integrata alla porzione di sistema che rimane liquida, infine il terzo termine integrato corrisponde alla porzione del sistema che, perdendo calore, diventa ghiaccio.

2.2 Principio di funzionamento

Per effettuare il congelamento isocoro occorre una camera a volume costante con la capacità di resistere a pressioni elevate. Solitamente, la camera è in acciaio inossidabile ed è ermeticamente sigillata, con un misuratore di pressione in alto. Questo serve a monitorare la pressione interna e a registrare i dati.

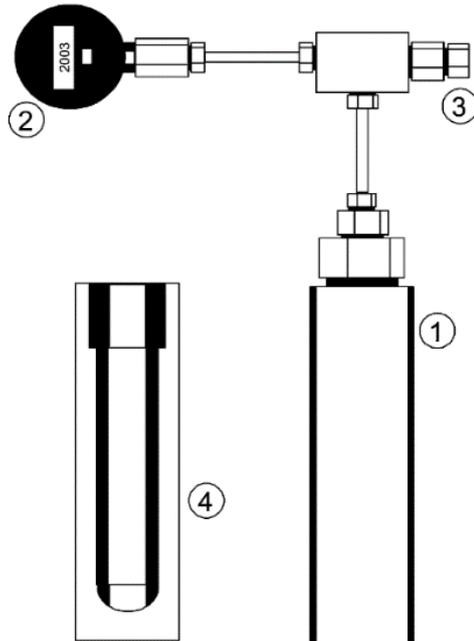


Figura 2.4.
1) recipiente a pressione
2) manometro
3) disco di rottura
4) sezione trasversale del recipiente in pressione

Camera di crioconservazione isocora. È composta da una camera a volume costante, chiusa ermeticamente in cui il manometro serve per monitorare la pressione. Il recipiente viene riempito con il fluido e il campione e viene raffreddato mediante immersione in un bagno a temperatura costante.

(Rubinsky, Perez, e Carlson 2005, 124)

Preso l'attrezzatura, si può procedere al processo. All'interno della camera viene posizionato l'alimento da congelare, insieme a una soluzione acquosa fino a riempimento. Nella soluzione acquosa, solitamente, vengono disciolti sale, glicerolo, glicole etilenico o zucchero. La scelta del soluto e la concentrazione servono a mantenere l'equilibrio osmotico con il campione. L'osmolalità extracellulare della soluzione semi-congelata è resa paragonabile a quella intracellulare, al fine di eliminare i danni osmotici causati dal congelamento (Bilbao-Sainz et al., 2020).

La camera, che è ancora aperta, viene immersa in un bagno a temperatura costante, il quale serve ad abbassare la temperatura del sistema. La temperatura viene ridotta fino al punto di transizione di fase tra liquido e solido.

A questo punto, viene aggiunto alla camera un cristallo di ghiaccio delle dimensioni di 3x3 mm, il quale serve a indurre la nucleazione del ghiaccio e a predeterminare la sua posizione.

La camera viene quindi sigillata e subisce un ulteriore abbassamento della temperatura. Il ghiaccio inizia così a formarsi nella soluzione acquosa, e l'aumento del volume del ghiaccio incrementa la pressione del sistema. (Rubinsky, Perez, e Carlson 2005)

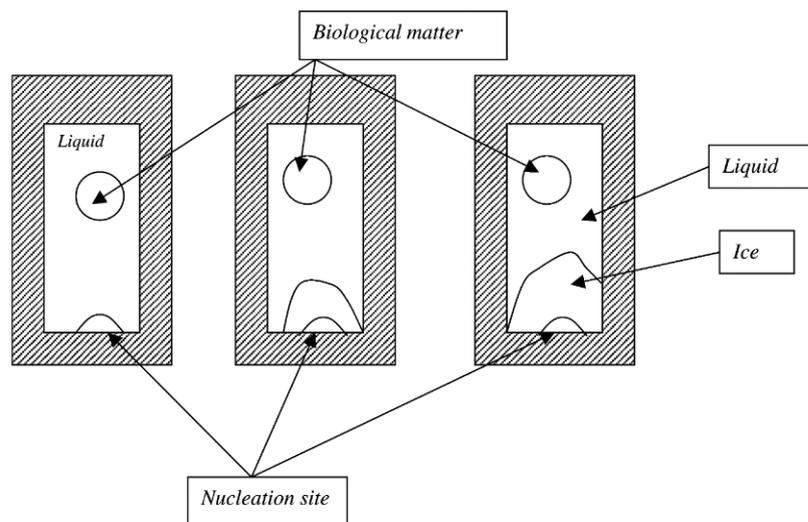


Figura 2.5. Tipico meccanismo di congelamento in camera isocora. (Rubinsky, Perez, e Carlson 2005, 125)

Questo metodo di congelamento si basa sulla riduzione del danno fisico causato dalla formazione di ghiaccio all'interno dell'alimento. In realtà, il ghiaccio non si forma mai all'interno dell'alimento, come spiegato attraverso il diagramma di fase dell'acqua.

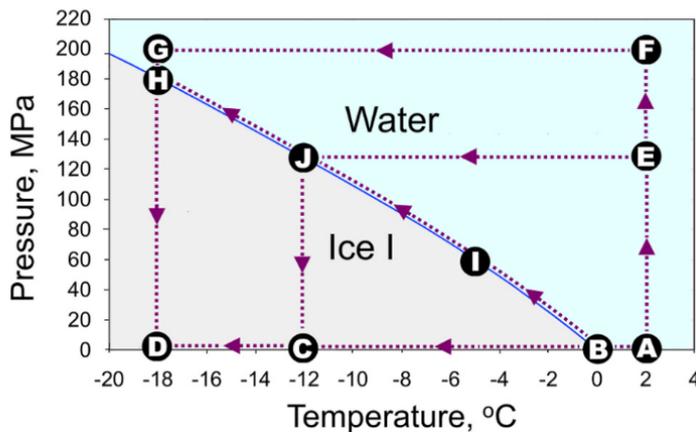


Figura 2.6. Modalità di refrigerazione degli alimenti manipolati sotto pressione:
 - (A-B-C-D) congelamento isobarico classico a pressione atmosferica
 - (A-B-I) congelamento isobarico a -5°C e 50 MPa
 - (A-B-I-J) congelamento isobarico a -12°C e 130 MPa
 - (A-B-I-J-H) congelamento isobarico a -18°C e 180 MPa
 (Fikiin e Akterian 2022, 186)

Nel congelamento isocoro, l'acqua rimane sempre in equilibrio termodinamico con la fase solida, cioè il ghiaccio. Si passa dalla fase A liquida a B all'equilibrio. Si abbassa la temperatura e la pressione aumenta in maniera costante, e la quantità di ghiaccio cresce in base alla temperatura (Fikiin e Akterian, 2022).

Questo fenomeno è causato dalla struttura cristallografica e dalla densità del ghiaccio 1. L'acqua si espande quando congela. Siccome il volume è costante, poiché si utilizza un contenitore ermetico, il ghiaccio non può espandersi liberamente, creando così una pressione idrostatica che agisce sul sistema. L'aumento di pressione diminuisce il punto di congelamento della soluzione, e il ghiaccio continua ad aumentare fino a quando il punto di congelamento è uguale alla temperatura circostante. Di conseguenza, coesistono le due fasi, quella liquida e quella solida, ad una temperatura inferiore al punto di congelamento a pressione atmosferica. La matrice alimentare si colloca quindi nella porzione acquosa, la quale la protegge dall'effetto dannoso del congelamento, ma al tempo stesso diminuisce il metabolismo e aumenta la sua shelf-life (Powell-Palm e Rubinsky, 2019).

Durante la reazione, il sistema percorre esattamente la curva di stato che separa il liquido dal ghiaccio 1 fino al punto triplo.

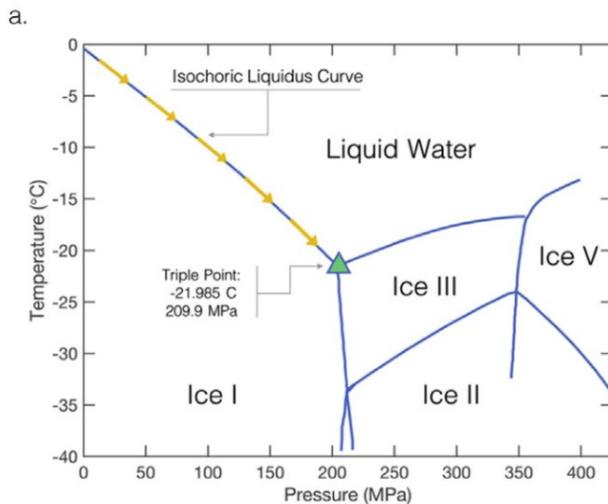


Figura 2.7. Comportamento termodinamico del sistema isocoro. Diagramma di fase dell'acqua pura. Viene evidenziata la curva di fase tra liquido, ghiaccio 1 e ghiaccio 3, che un sistema isocoro seguirà fino a temperature superiori al punto triplo. (4)

(Powell-Palm e Rubinsky 2019, 3)

È possibile osservare quanto riportato anche attraverso la microscopia elettronica a scansione, Cryo-SEM. Le immagini prese sulle ciliegie mostrano che a -4°C le cellule hanno mantenuto intatte la membrana e la parete cellulare, e lo spazio intracellulare si è riempito della soluzione acquosa esterna utilizzata per l'esperimento. A -7°C , invece, la struttura dell'alimento è diversa; ci sono zone in cui le cellule rimangono integre, mentre altre presentano delle vetrificazioni, dovute alla perdita di permeabilità cellulare. Questo fenomeno è probabilmente causato dalla elevata pressione del sistema, ovvero 62 MPa, e dalla differente comprimibilità della materia cellulare. (Bilbao-Sainz et al., 2019)

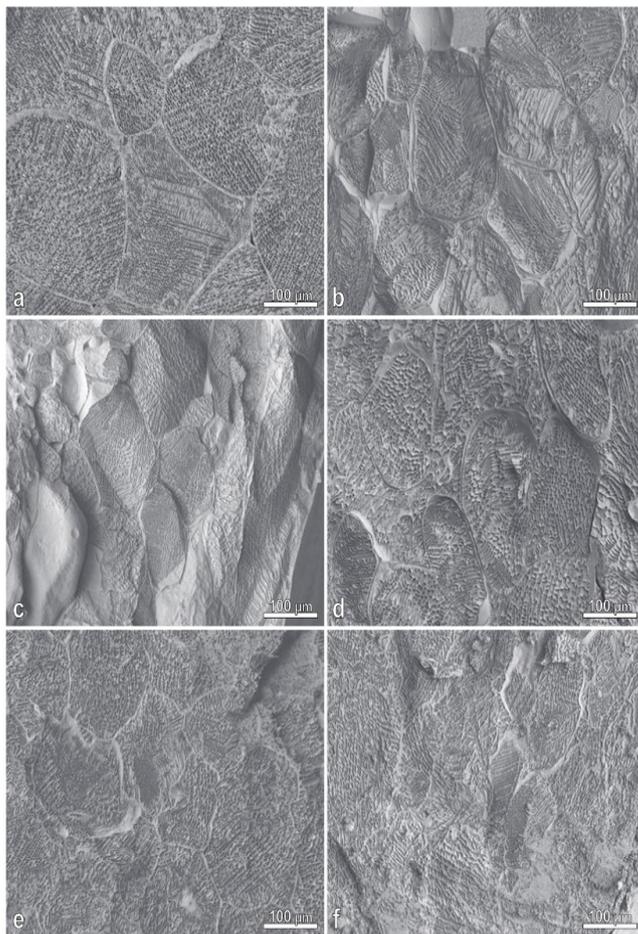


Figura 2.8. Immagini prese tramite Cryo-SEM del tessuto parenchimatico della ciliegia.

Ciliegia fresca (a), ciliegia scongelata congelata a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in sistema isocoro (b), ciliegia scongelata congelata a $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ in un sistema isocoro (c), ciliegia scongelata congelata a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in un sistema isobarico (d), ciliegia scongelata congelata a $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ in un sistema isobarico (e), ciliegia scongelata da IQF (f).

(Bilbao-Sainz et al. 2019, 114)

Il congelamento isocoro trae ispirazione in parte dalla crioconservazione iperbarica. Queste due tecnologie sono abbastanza simili; in entrambi i casi si sfruttano alte pressioni.

Nel congelamento ad alte pressioni, si ha una sola fase, quella liquida, e si aumenta la pressione del sistema senza formare il ghiaccio. La pressione viene incrementata mediante dispositivi meccanici. L'elevata pressione è seguita da un rapido congelamento, il quale permette di conservare la struttura dell'alimento. Tuttavia, questa metodologia può causare danni alla struttura del campione, dato che è stato rilevato che a pressioni superiori a 200 MPa il campione può resistere solo per brevi periodi di tempo, indipendentemente dalla temperatura. (Rubinsky, Perez e Carlson, 2005).

Nel congelamento isocoro, invece, si verificano due fasi coesistenti, la solida e la liquida. Nella crioconservazione isocora, il sistema si adatta naturalmente alla pressione minima per la temperatura selezionata, riducendo al minimo l'effetto tossico della pressione. Questo fenomeno è dovuto al fatto che durante il congelamento il processo segue la curva di liquidità nel diagramma di fase dell'acqua (Bilbao-Sainz et al., 2020).

2.3 Applicazione nel settore alimentare

Per comprendere al meglio il processo, alcuni gruppi di ricerca hanno approfondito la nuova tecnologia applicandola su diversi tipi di alimenti. Nonostante le differenze nei tipi di cibo utilizzati negli esperimenti, i risultati sono stati molto simili tra loro.

La metodologia è quasi uniforme in tutti gli esperimenti. Si utilizza un recipiente metallico spesso di alcuni millimetri di spessore, nel quale viene posto un anello di gomma in cima, seguito da un coperchio con un manometro fissato sulla parte superiore.

La scelta della soluzione immessa nel recipiente metallico dipende dal tipo di alimento. Vengono spesso effettuate prove di equilibrio osmotico dell'alimento con la soluzione scelta per un periodo di 24 ore. Se, al termine di questo periodo, l'alimento non subisce modificazioni strutturali, la soluzione viene selezionata per l'esperimento.

Nei vari paper di ricerca, vengono osservati diversi parametri. Spesso, come primo criterio di confronto con il congelamento a pressione costante, viene analizzata la massa, in particolare la perdita di peso degli alimenti subito dopo il trattamento, dovuta alla cristallizzazione dell'acqua.

Inoltre, viene valutato l'aspetto visivo dell'alimento attraverso tre parametri: luminosità L^* , colore a^* (dal rosso al verde) e colore b^* (dal giallo al blu).

La texture è un parametro frequentemente misurato, poiché si osserva come la consistenza del prodotto cambia in seguito alla conservazione isocora. Inoltre, il

pH e il contenuto d'acqua vengono misurati per comprendere come gli alimenti reagiscono al trattamento.

Gli alimenti più frequentemente studiati appartengono alle categorie di frutta e verdura. In letteratura esistono solo due studi che trattano il pollo e i filetti di pesce, ma i risultati ottenuti in entrambi i casi sono stati molto positivi.

2.3.1 Pollo

Studiando i filetti di pollo, Rinwi e collaboratori hanno osservato che, in seguito a un trattamento a -4°C e -8°C con concentrazioni del 0%, 1.5%, e 2.5% di NaCl, il prodotto mostra una morfologia molto simile a quella del prodotto fresco, soprattutto nel caso della soluzione con concentrazione salina al 2.5%. Questo parametro è di grande importanza poiché ci permette di comprendere come la concentrazione giochi un ruolo cruciale nella riduzione di peso e nella capacità di trattenere l'acqua (WHC) di un alimento, cioè la capacità di un alimento di trattenere la propria acqua o di assorbirne dall'esterno in seguito a trattamenti di pressione, centrifugazione o riscaldamento.

Inoltre, la distribuzione dell'acqua all'interno dell'alimento e la mobilità dell'acqua sono influenzate dalla diminuzione della concentrazione della soluzione.

Tutti i parametri relativi alle caratteristiche organolettiche, come colore, coesione, masticabilità ed elasticità, subiscono leggere influenze dal trattamento, mentre la durezza diminuisce solo a basse concentrazioni della soluzione. In sintesi, le condizioni ottimali per la conservazione del filetto di pollo trattato con il congelamento isocoro sono a -4°C e -8°C con una concentrazione salina al 2.5%. (Rinwi et al. 2023)

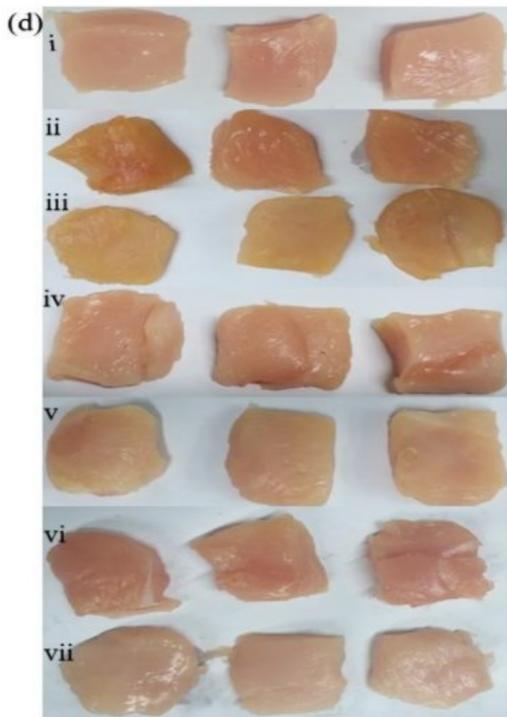


Figura 2.9. Nella figura sono riportati i vari campioni di pollo dopo il congelamento.

- (i) prodotto fresco
- (ii) trattamento a -4 °C in acqua pura
- (iii) trattamento a -8 °C in acqua pura
- (iv) trattamento a -4 °C in soluzione a 1.5% di NaCl
- (v) trattamento a -8 °C in soluzione a 1.5% di NaCl
- (vi) trattamento a -4 °C in soluzione a 2.5% di NaCl
- (vii) trattamento a -8 °C in soluzione a 2.5% di NaCl

(Rinwi et al. 2023, 5)

Nella figura 2.9 sono riportati i vari campioni dopo i diversi trattamenti selezionati. È evidente come siano stati osservati cambiamenti di colorazione in corrispondenza di concentrazioni saline basse. Questi cambiamenti sono dovuti a uno squilibrio tra la concentrazione salina della soluzione e il gocciolamento del campione chiuso nel sacchetto sottovuoto.

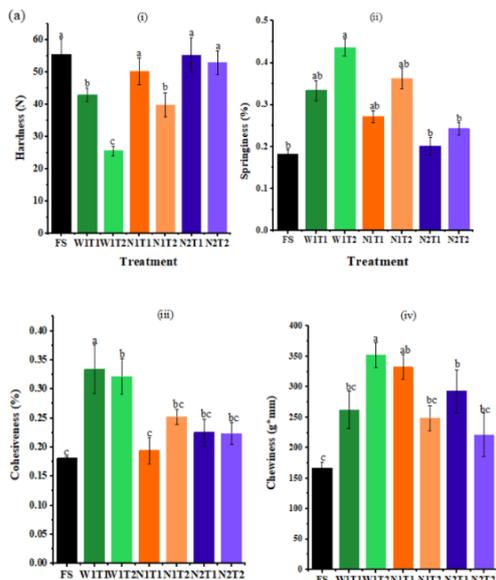


Figura 2.10. Cambiamenti delle proprietà strutturali. (i) durezza, (ii) elasticità, (iii) coesione, (iv) masticabilità.

- FS: campione fresco
- W1: water
- T1: -4 °C
- T2: -8 °C
- N1: concentrazione salina al 1.5%
- N2: concentrazione salina al 2.5%.

Differenti lettere (a-d) rappresentano differenze significative con $P < 0.05$ tra i vari campioni.

(Rinwi et al. 2023, 7)

Come si può osservare dalla figura 2.10, ci sono delle differenze tra i vari trattamenti e le varie concentrazioni saline che influenzano i parametri di durezza, masticabilità, coesione ed elasticità. Nel primo grafico, viene presa in considerazione la durezza dell'alimento prima e dopo i vari trattamenti. Si può notare che i trattamenti N1T1 (NaCl 1.5% e temperatura -4 °C), N2T1 (NaCl 2.5% e temperatura -4 °C) e N2T2 (NaCl 2.5% e temperatura -8 °C) non presentano differenze significative ($p < 0.05$) rispetto al campione fresco. Da questo si può comprendere l'importanza della corretta concentrazione salina per il trattamento, ma anche che temperature più basse possono aiutare a mantenere la durezza simile al prodotto fresco. Per quanto riguarda l'elasticità, si può osservare la stessa differenza statistica della durezza, con la differenza che i campioni simili sono solo quelli con concentrazione salina al 2.5%. Per quanto riguarda la coesione e la masticabilità, ci sono leggere differenze statistiche nel caso del prodotto trattato con il 1.5% e il 2.5% di sale.

In sintesi, questi parametri subiscono gli effetti della bassa temperatura solo nel caso in cui non ci sia un equilibrio osmotico con l'alimento, come si può dedurre da tutti i grafici della figura 2.10 dove i trattamenti con W (acqua) sono quelli statisticamente diversi dal prodotto fresco.

In conclusione, il trattamento di conservazione isocora applicato sui filetti di pollo ha portato a risultati interessanti. Si comprende come la concentrazione dei soluti all'interno della soluzione in cui viene immerso il campione sia fondamentale per il successo del trattamento. In questo caso, la concentrazione al 2.5% di sale ha rappresentato la miglior condizione sia per il congelamento a -4°C che a -8°C. (Rinwi et al. 2023)

2.3.2 Tilapia

Nel caso dei filetti di pesce, è stato analizzato uno dei pesci più consumati al mondo, la Tilapia. Lo studio si basa principalmente sulla conservazione del pesce data la sua alta deperibilità. Sono state utilizzate quattro metodologie diverse, ciascuna della durata di due settimane: congelamento, refrigerazione, super-refrigerazione e congelamento isocoro. La refrigerazione è stata effettuata a 5°C,

la super-refrigerazione a -3°C, il congelamento a -20°C e per quanto riguarda il congelamento isocoro, è stata mantenuta una temperatura di -3°C a una pressione di 37 MPa con una concentrazione di sale (NaCl) dello 0.2% rispetto alla soluzione. Quest'ultimo parametro è stato precedentemente testato sul filetto di pesce per trovare l'equilibrio osmotico. Sono stati misurati anche per questo alimento diversi parametri, tra cui la massa, il contenuto d'acqua, il pH e il colore.

Preservation method	Storage time	ΔM (%)	Muscle pH	Water content (% wb)	NaCl (% db)
Fresh	-	-	6.77 \pm 0.03 ^a	75.78 \pm 0.23 ^b	0.864 \pm 0.002 ^a
Isochoric freezing (-3°C/37MPa)	1 wk	3.69 \pm 0.39 ^a	6.67 \pm 0.03 ^{ab}	76.59 \pm 0.12 ^{ab}	0.888 \pm 0.212 ^a
	2 wk	1.61 \pm 0.24 ^{abc}	6.84 \pm 0.10 ^{ab}	77.60 \pm 0.24 ^a	0.387 \pm 0.190 ^b
Chilling (5°C)	1 wk	-0.42 \pm 0.32 ^b	6.57 \pm 0.05 ^b	75.98 \pm 0.06 ^b	-
	2 wk	0.25 \pm 0.08 ^b	6.74 \pm 0.02 ^a	76.25 \pm 0.13 ^b	-
Partial freezing (-3°C)	1 wk	-2.02 \pm 1.10 ^{bc}	6.50 \pm 0.01 ^c	73.57 \pm 0.26 ^c	-
	2 wk	-1.38 \pm 0.55 ^{bc}	6.72 \pm 0.03 ^a	75.02 \pm 1.21 ^{bc}	-
Freezing (-20°C)	1 wk	-1.98 \pm 0.31 ^c	6.50 \pm 0.01 ^c	77.24 \pm 0.13 ^a	-
	2 wk	-2.52 \pm 0.42 ^c	6.65 \pm 0.04 ^{ab}	75.07 \pm 0.45 ^{bc}	-

Tabella 2.1

Effetti dei metodi di preservazione sul cambiamento di massa, pH muscolare, contenuto d'acqua e contenuto di sale.

Differenti lettere (a-c) rappresentano differenze significative con $P < 0.05$ tra i vari campioni.

(Bilbao-Sainz et al. 2020, 5)

Il cambiamento del valore di pH è l'unico che rimane costante in tutti i trattamenti. Durante la prima settimana, c'è una leggera diminuzione dovuta alla conversione del glicogeno in lattato durante la fase post-mortem. Nella seconda settimana, invece, c'è un aumento del pH dovuto alla degradazione dei composti azotati nei muscoli del pesce. Rispetto agli altri trattamenti, però, il congelamento isocoro è l'unico che presenta differenze non significative rispetto al prodotto fresco.

Anche per quanto riguarda il colore, tutti i trattamenti hanno portato a un cambiamento dei parametri rilevati. Il gruppo di ricerca guidato da Bilbao-Sainz ha preso in considerazione tre valori: L^* (luminosità), a^* (indice verde-rosso) e b^* (indice giallo-blu). In tutti i campioni alla fine delle due settimane sono evidenti degli incrementi della luminosità. Questo corrisponde a un cambiamento dell'aspetto del muscolo del pesce, che diventa più bianco e opaco, molto simile al pesce cotto. I parametri a^* e b^* sono meno influenzati dalle basse temperature e dalla pressione. Il colore, quindi, non viene preservato dal congelamento isocoro nel caso del filetto di tilapia, che si comporta come tutti gli altri trattamenti. (Bilbao-Sainz et al. 2020)

A livello della microstruttura, nel congelamento isocoro si formano degli ampi spazi tra le cellule. Questi sono causati dalle collagenasi endogene che rompono il tessuto connettivo nelle fibre muscolari, ma potrebbero essere influenzati anche dalla pressione che potrebbe allungare il tessuto connettivo. Le cellule, però, rimangono intatte, come se il filetto fosse fresco. Questo accade anche nelle cellule conservate a temperatura di 5°C. L'unica differenza sta nella dimensione degli spazi intracellulari, nel congelamento isocoro sono più evidenti. Inoltre, nella refrigerazione vengono danneggiate le fibre intercellulari. Per tutti gli altri metodi di conservazione, le cellule vengono danneggiate dalla formazione di ghiaccio sia all'interno che all'esterno della cellula, in particolare la forma delle cellule viene notevolmente deformata e il tessuto connettivo viene disintegrato. (Bilbao-Sainz et al. 2020)

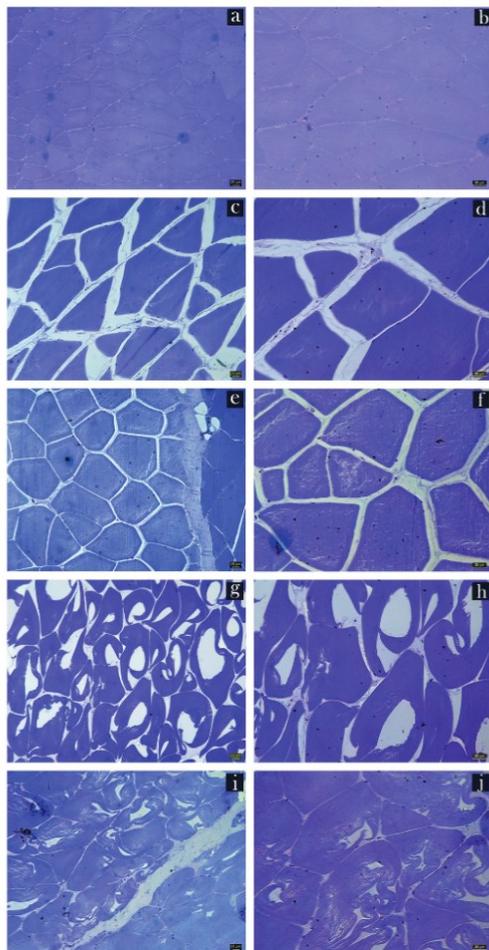


Figura 2.11.

Nella figura sono riportati i vari campioni di Tilapia dopo il trattamento termico, tutti effettuati per 14 giorni.

(a-b) prodotto fresco

(c-d) trattamento a -3 °C congelamento isocoro

(e-f) trattamento a 5 °C refrigerazione

(g-h) trattamento a -3 °C super-refrigerazione

(i-j) trattamento a -20 °C congelamento

(Bilbao-Sainz et al. 2020, 7)

In questo caso, sono stati analizzati anche i parametri di durezza, masticabilità, gommosità, coesione ed elasticità. Tutti i campioni hanno mostrato una diminuzione della durezza delle fibre muscolari dopo il trattamento. Nel congelamento isocoro, questa diminuzione è stata causata dalla durata prolungata del trattamento sotto alte pressioni, che ha portato alla scomparsa del collagene intramuscolare. Anche gli altri criteri analizzati hanno subito una diminuzione dei valori rispetto al prodotto fresco, ma il congelamento isocoro è stato l'unico processo a produrre dati interessanti rispetto agli altri trattamenti. L'unico parametro che ha mostrato un valore con un comportamento superiore rispetto al prodotto fresco è stato la coesione, che rappresenta la capacità del filetto di resistere a ripetute deformazioni.

Le proprietà organolettiche sono state misurate attraverso l'analisi del TBARS (sostanze reattive all'acido tiobarbiturico), che consente di valutare il livello di ossidazione del pesce. Nei campioni trattati con il congelamento isocoro, non sono stati osservati cambiamenti significativi nei TBARS rispetto al prodotto fresco anche dopo due settimane. Al contrario, trattamenti come il super-raffreddamento hanno mostrato una percentuale di TBARS molto elevata rispetto al prodotto refrigerato già dopo una settimana. (Bilbao-Sainz et al. 2020)

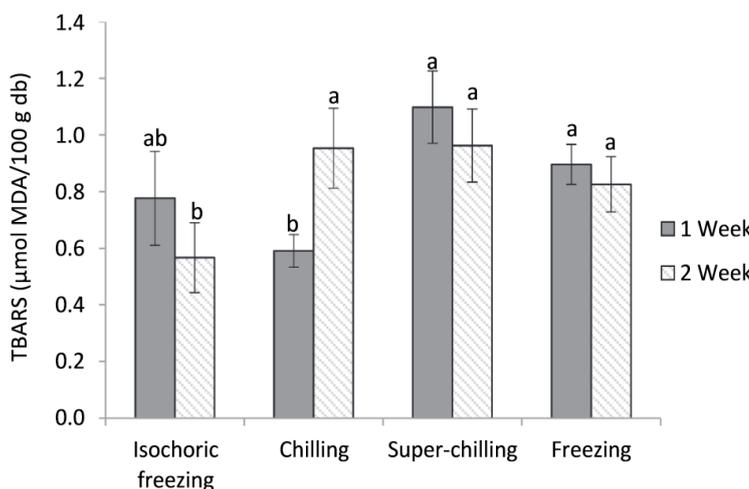


Figura 2.12.
Effetto dei vari trattamenti sui TBARS del filetto di Tilapia. (Bilbao-Sainz et al. 2020, 9)

I filetti di Tilapia conservati attraverso il congelamento isocoro mostrano un rallentamento della fase post-mortem e non presentano danni dovuti alla formazione di ghiaccio, come si verifica in altri metodi di conservazione. In conclusione, il congelamento isocoro si presenta come una valida alternativa ai metodi classici di conservazione a temperatura controllata.

Tuttavia, i dati riportati nell'articolo mettono in luce che il trattamento non previene completamente la degradazione muscolare e che anche la texture del filetto viene compromessa. Il dato interessante riguarda la misurazione dei TBARS, che mostra una conservazione dall'ossidazione anche a distanza di due settimane (Bilbao-Sainz et al. 2020).

Oltre ai prodotti menzionati in precedenza, in letteratura sono presenti lavori sul congelamento isocoro di spinaci, ciliegie e pomodori.

2.3.3 Spinaci

La preservazione degli spinaci attraverso il congelamento isocoro è stata effettuata seguendo il metodo degli esperimenti precedenti. Gli spinaci sono stati immersi in una soluzione di acqua e zucchero con una concentrazione di 10° Brix, scelta dopo aver raggiunto l'equilibrio osmotico tra le foglie di spinaci e la soluzione in seguito a prove preliminari.

Nel protocollo sperimentale, sono stati adottati tre metodi diversi. Il primo ha previsto il congelamento isocoro a -4°C per uno e sette giorni. Il secondo metodo ha previsto il congelamento a -4°C in condizioni isobare per 7 giorni, inserendo gli spinaci in un sacchetto sottovuoto insieme alla soluzione precedentemente citata. Il terzo e ultimo metodo ha seguito la stessa procedura del secondo, ma senza aggiungere la soluzione nel sacchetto sottovuoto. (Bilbao-Sainz et al. 2020)

In questo esperimento, sono stati analizzati parametri come la perdita di massa, la perdita di umidità interna, il colore, il contenuto di clorofilla e il contenuto di acido ascorbico per valutare l'efficacia del congelamento isocoro come alternativa al congelamento tradizionale.

Sample	% ΔMass	%Δ Thickness	Soluble solids (%)	% Moisture
Fresh	–	–	8.28 ± 0.05 ^b	91.12 ± 0.51 ^{ab}
Isoch. 1 day	41.2 ± 25.9	–6.8 ± 5.6	8.05 ± 0.86 ^b	90.93 ± 0.39 ^a
Isoch. 7 days	27.2 ± 10.1	–30.7 ± 7.2	7.57 ± 0.91 ^b	90.74 ± 0.41 ^{ab}
Isob. 1 day	3.8 ± 15.5	–30.5 ± 5.1	8.03 ± 0.75 ^b	89.74 ± 1.03 ^{abc}
Isob. 7 days	–7.9 ± 18.1	–34.4 ± 14.1	11.07 ± 0.09 ^a	86.34 ± 0.69 ^{bcd}
Pack Isob. 1 day	–32.6 ± 11.2	–59.6 ± 4.4	7.13 ± 0.34 ^b	89.04 ± 0.50 ^b
Pack Isob. 7 days	–31.7 ± 7.4	–69.9 ± 3.3	8.13 ± 0.83 ^b	86.95 ± 0.17 ^c
Commercial	–	–	4.41 ± 0.03 ^c	85.04 ± 0.52 ^d

Tabella 2.2. Effetto del congelamento su massa, spessore, solidi solubili e contenuto di umidità degli spinaci scongelati.(Bilbao-Sainz et al. 2020, 2145)

In questa tabella sono riportati i dati relativi alle misurazioni dei parametri precedentemente citati, inclusi spessore e soluti solubili. Si nota come nel congelamento isocoro aumenti la massa delle foglie di spinaci, probabilmente a causa della pressione elevata presente nella camera, che si attesta a circa 30 MPa. Nei casi degli altri metodi, si osserva una perdita di peso dovuta al processo di scongelamento, evidenziando la rottura delle cellule.

Per quanto riguarda la percentuale di solidi solubili, non emergono differenze significative tra i campioni. Inoltre, per quanto riguarda l'umidità, si nota che il congelamento isocoro mostra similitudini con il prodotto fresco, così come nel caso del congelamento isobarico per un giorno.

Il colore delle foglie di spinaci non presenta differenze significative tra i vari metodi. Sono stati considerati i parametri di luminosità e colore, valutando a* (dalla componente verde al rosso) e b* (dalla componente blu al giallo).

La microstruttura delle foglie di spinaci subisce notevoli cambiamenti con il congelamento isobarico, mostrando chiari segni di danneggiamento. Mentre, il trattamento con il congelamento isocoro sembra non compromettere la struttura cellulare delle foglie, con la parete cellulare che rimane ben definita.

Per quanto riguarda il contenuto di acido ascorbico, le foglie di spinaci trattate con il congelamento isocoro conservano circa il 32% di acido ascorbico dopo 1 giorno e il 10% dopo 7 giorni, mentre quelle trattate con il congelamento isobarico mantengono il 15% dopo un giorno, valore che rimane invariato per 7 giorni. (Bilbao-Sainz et al. 2020)

Il contenuto di polifenoli sembra essere ridotto quasi completamente sia con il congelamento isocoro che con quello isobarico.

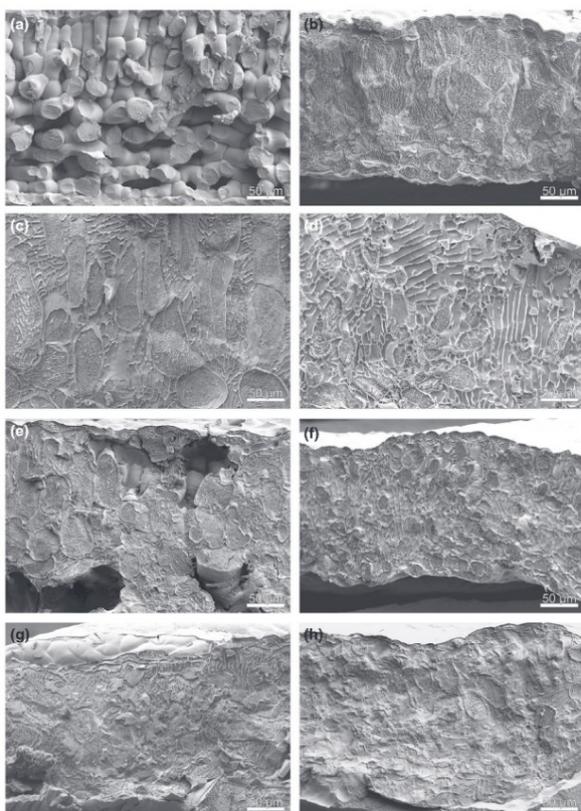


Figura 2.13.

Micrografie Cryo-SEM di (a) spinaci freschi, (b) spinaci scongelati, congelati in commercio, (c) spinaci scongelati, congelati a -4°C per 1 giorno in un sistema isocoro, (d) spinaci scongelati, congelati a -4°C per 7 giorni in un sistema isocoro, (e) spinaci scongelati, congelati a -4°C per 1 giorno in un sistema isobarico, (f) spinaci scongelati, congelati a -4°C per 7 giorni in un sistema isobarico, (g) spinaci confezionati scongelati, congelati a -4°C per 1 giorno in un sistema isobarico, (h) spinaci confezionati scongelati, congelati a -4°C per 7 giorni in un sistema isobarico.

(Bilbao-Sainz et al. 2020, 2147)

In conclusione, è possibile affermare che la preservazione delle foglie di spinaci mediante congelamento isocoro è migliore su quasi tutti i fronti rispetto al congelamento isobarico. Questa tecnologia consente all'acqua di non congelare all'interno dell'alimento, evitando così la rottura delle cellule e la perdita di qualità.

2.3.4 Ciliegie

Il congelamento isocoro è stato testato anche sulle ciliegie. Come campione sono state scelte ciliegie Rainier, precedentemente conservate in una cella frigorifera a 5°C prima dell'esperimento. La tecnologia utilizzata è analoga a quella descritta in precedenza, con l'inserimento delle ciliegie in un contenitore ermetico insieme a una soluzione di acqua e zucchero con una concentrazione di $17,5^{\circ}\text{Brix}$. La camera chiusa è stata portata a -4°C e $29,5\text{ MPa}$ e successivamente a -7°C e $32,1\text{ MPa}$.

Le ciliegie sono rimaste a questa temperatura per 23 ore e poi sono state gradualmente riportate alla temperatura iniziale di 0°C. Oltre a queste due modalità, sono state sperimentate anche le stesse temperature, ma con il congelamento isobarico, e un altro campione è stato congelato utilizzando il metodo IQF.

Sono stati analizzati gli effetti sulle ciliegie in termini di cambiamenti di massa, pH, °Brix e perdita d'acqua. Il congelamento isobarico e il metodo IQF non hanno mostrato cambiamenti significativi di massa. Mentre, nel caso del congelamento isocoro si è verificato un aumento di massa dovuto all'assorbimento di acqua da parte delle ciliegie, causato dalla concentrazione esterna di saccarosio. °Brix e pH sono rimasti invariati in tutte le modalità.

Il congelamento isocoro ha comportato una minore perdita di peso dovuta alla perdita di acqua rispetto al trattamento IQF. Le ciliegie congelate a -4°C mediante congelamento isocoro non hanno mostrato differenze significative rispetto al prodotto fresco. (Bilbao-Sainz et al. 2019)

Effect of freezing on mass change (%), °Brix, pH and drip loss (%).

Sample	ΔM (%)	°Brix	pH	Drip loss (%)
Fresh		22.6 ± 4.5a	3.99 ± 0.14a	23.2 ± 2.1d
Isochoric -4 °C	2.99 ± 0.73	18.4 ± 3.6a	4.05 ± 0.15a	32.2 ± 1.6d
Isochoric -7 °C	2.27 ± 0.84	17.6 ± 2.7a	3.91 ± 0.13a	50.1 ± 3.5b
Isobaric -4 °C	0.02 ± 0.03	18.0 ± 1.1a	3.91 ± 0.11a	43.5 ± 0.1c
Isobaric -7 °C	-0.45 ± 0.56	17.6 ± 2.7a	3.76 ± 0.22a	47.8 ± 1.4b
IQF	-0.36 ± 0.33	23.0 ± 0.5a	3.87 ± 0.07a	58.4 ± 1.0a

Tabella 2.3. Effetto del congelamento su differenza di massa, °Brix, pH e perdita d'acqua nelle ciliegie scongelate. (Bilbao-Sainz et al. 2019, 111)

È interessante notare che il congelamento isocoro ha prodotto risultati migliori rispetto agli altri metodi di conservazione, mantenendo la lucentezza e l'integrità del colore dei campioni. Inoltre, l'aumento dei valori di a^* e b^* potrebbero essere attribuibili alla concentrazione zuccherina esterna, che potrebbe influenzare il colore delle ciliegie.

È importante sottolineare che non ci sono state evidenti differenze statistiche tra i campioni trattati a -4°C e -7°C , suggerendo che il beta-carotene non si è degradato a causa delle alte pressioni utilizzate nel congelamento isocoro, a differenza di quanto possa accadere a pressioni superiori a 600 MPa.



Figura 2.14. Fotografie di (a) ciliegia fresca, (b) ciliegia scongelata, congelata a -4°C in un sistema isocoro, (c) ciliegia scongelata, congelata a -7°C in un sistema isocoro, (d) ciliegia scongelata, congelata a -4°C in un sistema isobarico, (e) ciliegia scongelata, congelata a -7°C in un sistema isobarico e (f) ciliegia scongelata da IQF. (Bilbao-Sainz et al. 2019, 112)

Le proprietà meccaniche delle ciliegie sono rimaste invariate a -4°C in isocoro, mentre a -7°C sono diminuite dovute non alla formazione di ghiaccio all'interno dell'alimento, bensì causate dall'elevata pressione idrostatica che si è formata. Il congelamento isobaro e l'IQF hanno riportato i maggiori cambiamenti, dato che la formazione di ghiaccio all'interno dei tessuti vegetali ha causato una diminuzione della rigidità ed elasticità cellulare. (Bilbao-Sainz et al. 2019)

Per quanto riguarda la quantità di acido ascorbico, il trattamento in IQF è stato quello con la maggiore perdita, arrivando fino al 72%, seguito dal 63% nel congelamento isobaro a -4°C e dal 51% nel congelamento isobaro a -7°C . Paragonando queste metodologie con il processo isocoro, si può evincere che la massima ritenzione di acido ascorbico si è verificata in quest'ultimo trattamento.

In base a quanto riportato, si può concludere affermando che le ciliegie conservate a -4°C hanno proprietà molto simili al prodotto fresco, sia per quanto riguarda la qualità organolettica che quella nutrizionale. L'assenza completa di cristalli di ghiaccio e la pressione giocano un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'alimento, riducendo al minimo il danno cellulare. La diminuzione della temperatura a -7°C e quindi l'aumento della pressione causato dalla formazione di ghiaccio nel contenitore, provoca un danno al frutto soprattutto per quanto riguarda le proprietà meccaniche come la rigidità e l'elasticità. (Bilbao-Sainz et al. 2019)

Pertanto, il congelamento isocoro a -4°C rappresenta un'ottima alternativa al congelamento isobaro, estendendo la shelf-life e mantenendo alte le caratteristiche qualitative simili al prodotto fresco, contribuendo così a ridurre lo spreco alimentare.

2.3.5 Pomodoro

Per quanto riguarda i pomodori, sono stati eseguiti quattro tipi di conservazione diversi. Sono state adottate queste soluzioni per quattro settimane, ed è il primo studio a condurre la conservazione per un periodo di tempo così lungo. Per ogni trattamento, sono stati utilizzati 20 pomodori.

Il sistema isocoro è simile ai precedenti, con una camera in cui vengono riposti i pomodori, la quale viene poi riempita con acqua e una percentuale di zucchero pari a 6.5°Brix . La camera viene quindi chiusa ed è immersa in un bagno a -2.5°C . Oltre al metodo a volume costante, gli altri tre metodi includono il refrigeramento a $+10^{\circ}\text{C}$ con l'85% di umidità, il sistema isobaro a -2.5°C e l'IQF (Individual Quick Freezing) seguito da una conservazione a -20°C .

Come negli altri casi, sono state analizzate diverse caratteristiche del prodotto dopo il trattamento, tra cui il cambiamento di massa, il contenuto d'acqua e i $^{\circ}\text{Brix}$. Sono proprietà fondamentali per comprendere lo stato fisiologico dei pomodori. Durante le quattro settimane di conservazione isocora, i pomodori non hanno subito grandi cambiamenti sotto questi punti di vista. I pomodori refrigerati hanno gradualmente perso massa fino all'8.6%.

La perdita massima di peso è stata riscontrata nel congelamento in IQF, con il 16.7%, seguita dal processo isobaro, con una perdita del 16.3%. Il contenuto d'acqua in questi ultimi due metodi è stato ridotto rispettivamente del 79% e del 76%. (Bilbao-Sainz et al. 2021)

Effect of preservation on mass change, water content, and °Brix.

Sample	Time	Mass change (%)	Water content (%)	Brix
Fresh			92.1 ± 0.2 ^a	6.93 ± 0.39 ^a
Isoch. -2.5 °C	1 wk	0.6 ± 1.1 ^a	92.7 ± 1.1 ^a	6.28 ± 0.71 ^a
	2 wk	1.2 ± 0.3 ^a	92.6 ± 0.2 ^a	8.48 ± 1.26 ^a
	3 wk	0.2 ± 0.6 ^a	90.8 ± 0.3 ^a	7.30 ± 0.62 ^a
	4 wk	0.2 ± 1.1 ^a	91.1 ± 0.1 ^a	7.35 ± 0.39 ^a
Cold storage	1 wk	-2.9 ± 0.7 ^b	89.2 ± 0.7 ^a	7.03 ± 0.31 ^a
	2 wk	-4.5 ± 0.8 ^c	87.6 ± 0.8 ^b	7.13 ± 0.26 ^a
	3 wk	-6.6 ± 1.2 ^d	85.5 ± 1.2 ^c	6.33 ± 0.39 ^a
	4 wk	-8.6 ± 0.9 ^d	86.0 ± 2.2 ^{bc}	7.00 ± 0.28 ^a
IQF	1 wk	-5.5 ± 3.8 ^{bed}	86.6 ± 1.8 ^{bc}	7.00 ± 0.70 ^a
	2 wk	-12.1 ± 3.1 ^d	81.7 ± 2.8 ^{cd}	7.45 ± 0.48 ^a
	3 wk	-15.7 ± 5.2 ^d	76.5 ± 5.2 ^d	7.75 ± 0.38 ^a
	4 wk	-16.7 ± 3.3 ^d	79.4 ± 4.1 ^{cd}	7.55 ± 0.37 ^a
Isob. -2.5 °C	1 wk	-6.5 ± 1.8 ^{cd}	85.6 ± 1.8 ^{bc}	7.57 ± 1.16 ^a
	2 wk	-6.6 ± 1.6 ^{cd}	85.5 ± 1.6 ^{bc}	7.80 ± 0.79 ^a
	3 wk	-11.9 ± 2.3 ^d	80.2 ± 2.3 ^d	6.40 ± 0.72 ^a
	4 wk	-16.3 ± 1.1 ^d	75.8 ± 1.1 ^d	5.97 ± 0.76 ^a

IQF = Individual Quick Freezing.

For each column, values followed by the same letter (a–d) are not statistically different at $p < 0.05$.

Tabella 2.4. Effetto del congelamento su differenza di massa, contenuto d'acqua e °Brix dei pomodori scongelato. (Bilbao-Sainz et al. 2021, 4)

Sono stati osservati anche l'aspetto esterno dell'alimento e il colore, parametri molto importanti per la scelta dei consumatori. Il prodotto fresco è stato preso come riferimento, i pomodori dopo il periodo di conservazione sono stati studiati in base al trattamento subito. Esteticamente, i pomodori trattati con il sistema isocoro sono identici al prodotto fresco, mentre la sezione risulta con una maggiore quantità d'acqua libera dovuta alla pressione elevata a cui sono stati sottoposti. Negli altri casi, si può notare una forte disidratazione esterna; i casi meno appetibili sono l'IQF e il congelamento isobaro. Il colore è stato studiato in base a tre parametri: L* per la luminosità, a* per il rossore e b* per la quantità di giallo presente nell'alimento. L'IQF e l'isobaro hanno subito un incremento del

valore b^* , dovuto all'ossidazione del beta-carotene, mentre isocoro e refrigerato hanno subito effetti minori su tutte le variabili.



Figura 2.15. Fotografia di pomodori freschi e di pomodori conservati dopo quattro settimane

(Bilbao-Sainz et al. 2021, 5)

La conservazione isocora ha portato a un miglioramento della stabilità della qualità dei pomodori rispetto alle tecniche di conservazione convenzionali, come la conservazione a freddo e il congelamento rapido individuale (IQF). I pomodori conservati a 2,5°C in un sistema isocoro hanno mostrato le caratteristiche più desiderabili in termini di peso, forma, colore e proprietà tessutali. Il congelamento isocoro mantiene la qualità nutrizionale dei pomodori in quanto l'assenza di formazione di cristalli di ghiaccio e le basse pressioni di processo durante il congelamento riducono i danni alle cellule nei tessuti dei pomodori. (Bilbao-Sainz et al. 2021)

2.4 Effetti sui microrganismi

Gli studi condotti hanno evidenziato l'efficacia del congelamento isocorico, che combina alte pressioni e basse temperature, nel contrastare microrganismi patogeni alimentari come *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella typhimurium*. Questo approccio si è dimostrato superiore alle tecniche di congelamento tradizionali (isobariche) nel ridurre la presenza di *E. coli*.

In particolare, si è osservato che il congelamento isocorico provoca danni significativi alle cellule di *E. coli*, con una percentuale elevata di batteri danneggiati e una riduzione delle cellule vitali. Questo dimostra la capacità del

congelamento isocorico di ridurre notevolmente i livelli di *E. coli* in confronto ai metodi di congelamento tradizionali.

Ulteriori analisi tramite microscopia a forza atomica (AFM) hanno rivelato che il congelamento isocorico, caratterizzato da una variazione di pressione e temperatura, comporta cambiamenti nell'integrità fisica delle cellule batteriche, tra cui alterazioni nelle dimensioni cellulari, danni alla membrana, espulsione di materiale intracellulare e formazione di protrusioni simili a vesciche nelle cellule di *E. coli*.

Inoltre, alcuni ceppi di *E. coli* sono stati sottoposti al congelamento isocorico a diverse temperature per periodi variabili. I risultati hanno mostrato che l'impatto è significativo sulla vitalità di *E. coli*, con una riduzione più marcata delle popolazioni microbiche rispetto al congelamento tradizionale a pressione costante.

In sintesi, il congelamento isocorico si è rivelato altamente efficace nel distruggere microrganismi patogeni, offrendo potenziali vantaggi nella conservazione alimentare e nella sicurezza alimentare grazie alla sua capacità di preservare la qualità degli alimenti e ridurre la presenza di agenti patogeni. (Kumari, Chauhan, e Tyagi 2022)

CAPITOLO 3 - IMPATTO AMBIENTALE

Per impatto ambientale si intende “l’alterazione da un punto di vista qualitativo e quantitativo dell’ambiente, considerato come insieme delle risorse naturali e delle attività umane a esse collegate, conseguente a realizzazioni (installazioni industriali, tracciati ferroviari o autostradali, reti di distribuzione dell’energia ecc.) di rilevante entità”. («impatto ambientale nell’Enciclopedia Treccani» s.d.)

L’energia che viene consumata per eseguire queste attività ha un impatto fondamentale. Tra le tecnologie che sfruttano energia in ambito alimentare troviamo sicuramente il congelamento. Si stima che entro il 2027 il mercato globale degli alimenti surgelati passi da 291.8 miliardi del 2019 a 404.8 miliardi di dollari. Si è calcolato che indicativamente il consumo di energia elettrica per gli alimenti congelati nel mondo si aggiri intorno al 4% del consumo globale. Tutt’oggi il metodo più utilizzato è il congelamento isobaro, se si dovesse pensare di passare al congelamento isocoro il risparmio energetico annuale sarebbe di circa 6.49 miliardi di kWh e ridurrebbe anche le emissioni di CO₂ di 4.59 miliardi di kg. Per calcolare l’energia necessaria per il congelamento iniziale, si somma il calore latente richiesto per congelare il cibo alla sua temperatura di congelamento, T_f , al calore sensibile richiesto per raffreddare la massa dalla temperatura iniziale, ad esempio $T_0 = 20^\circ\text{C}$, alla temperatura di conservazione desiderata. (Zhao et al. 2021)

È importante notare che si presume che il compressore funzioni ininterrottamente durante questa fase e che la temperatura di conservazione, rimanga costante. Il caso isocorico differisce per due aspetti chiave: in primo luogo, solo una parte del sistema si congelerà, con lo stato di equilibrio che presenta un equilibrio fra liquido pressurizzato e ghiaccio a due fasi; in secondo luogo, a causa della suddetta pressurizzazione (che avviene a causa dell’espansione del ghiaccio sotto confinamento fisico ed è una funzione diretta della temperatura), il punto di congelamento del sistema diminuirà continuamente man mano che il processo di congelamento avanza.

Il super-raffreddamento isocorico è un processo mediante il quale il sistema viene raffreddato solo leggermente al di sotto della sua temperatura di congelamento e mantenuto in uno stato liquido metastabile super-raffreddato. L'applicazione del super-raffreddamento nella conservazione degli alimenti è stata oggetto di ricerca per diversi anni, ma ha fatto pochi progressi a causa dell'instabilità dei sistemi super-raffreddati sotto condizioni isobariche, in cui piccole perturbazioni possono causare il congelamento completo del sistema. Le condizioni isocoriche sono state recentemente scoperte come un modo significativo per stabilizzare le condizioni di super-raffreddamento, aprendo potenzialmente la strada a un uso più diffuso in ambienti industriali. (Zhao et al. 2021)

Il principale meccanismo che porta a questi risparmi energetici è la non completa conversione del sistema isocorico in ghiaccio. Questo comporta una notevole riduzione dell'energia necessaria per portare la massa ad uno stato stazionario a temperature inferiori al punto di congelamento, grazie a una significativa diminuzione del consumo di calore latente. È importante notare che il calore latente specifico del ghiaccio è circa due ordini di grandezza superiore rispetto alla capacità termica specifica sensibile dell'acqua. Nel processo di congelamento isocorico, la riduzione relativa dell'energia è il risultato sia della minore richiesta di calore latente sia del fatto che il calore latente specifico associato alla formazione del ghiaccio diminuisce a temperature più basse.

Come già menzionato in precedenza, pomodori, spinaci, pollo, ciliegie e tilapia conservati in un sistema isocorico a temperature comprese tra $-2,5\text{ °C}$ e -7 °C presentano una qualità notevolmente superiore rispetto a prodotti alimentari simili preservati mediante metodi di congelamento convenzionali a pressione costante. L'assenza di cristalli di ghiaccio nel congelamento isocorico e nella conservazione a basse temperature elimina la necessità di congelamenti a basse temperature per produrre piccoli cristalli di ghiaccio, migliorando così la qualità del prodotto alimentare.

L'uso del congelamento isocorico a $-2,5\text{ °C}$ può far risparmiare $355,44\text{ kJ}$ per kg di cibo rispetto al congelamento isobarico convenzionale a -18 °C , mentre a -5 °C può far risparmiare $290,26\text{ kJ}$ per kg di cibo rispetto alla stessa procedura. (Zhao et al. 2021)

CAPITOLO 4 - TRL

Il congelamento isocoro può essere utilizzato in diverse applicazioni, tra cui la criogenia, la conservazione degli alimenti e la produzione di materiali avanzati. Tuttavia, è importante notare che il congelamento isocoro può essere un processo più complesso da realizzare rispetto ad altri metodi di congelamento, poiché richiede un controllo molto preciso della temperatura, del volume e soprattutto raggiunge pressioni molto elevate.

Per valutare il livello di maturità tecnologica (TRL, Technology Readiness Level) del congelamento isocoro, possiamo considerare i seguenti punti:

Ricerca di base (TRL 1-3): La tecnologia del congelamento isocoro ha avuto origine da studi scientifici di base. In questa fase, la ricerca si concentra sulla comprensione dei principi fondamentali del processo e sulla dimostrazione di concetti teorici in laboratorio.

Sviluppo tecnologico (TRL 4-6): In questa fase, la tecnologia è stata sviluppata su piccola scala in laboratorio e potrebbero essere stati effettuati esperimenti per valutare la fattibilità pratica del congelamento isocoro. Sono stati identificati i principali vincoli e sfide tecnologiche.

Prototipazione (TRL 7): In questa fase, è stato sviluppato un prototipo funzionante del processo di congelamento isocoro. Sono state affrontate alcune delle sfide di ingegneria, e le prestazioni del processo sono state valutate in condizioni realistiche.

Test e validazione (TRL 8-9): Il processo di congelamento isocoro è stato testato in condizioni reali o in scala pilota, e i risultati sono stati documentati. C'è una comprensione chiara dei vantaggi e delle limitazioni del processo.

Commercializzazione (TRL 9-10): Se il congelamento isocoro fosse stato commercializzato con successo, avrebbe raggiunto il massimo livello di maturità tecnologica (TRL 9-10). Questo significa che la tecnologia è stata adottata su larga scala e può essere utilizzata in applicazioni commerciali o industriali.

La valutazione specifica del TRL per il congelamento isocoro dipende dalla situazione e dalla maturità attuale della tecnologia. Tuttavia, è importante notare che il congelamento isocoro potrebbe ancora essere in fase di ricerca e sviluppo, poiché è un campo relativamente specializzato con sfide tecnologiche specifiche da superare. Sul TRL relativo al congelamento isocoro si è svolto recentemente un acceso dibattito scientifico.

Fikiin e collaboratori attraverso una lettera all'editore hanno mosso delle perplessità riguardo la tecnologia. Come prima critica hanno cercato di far luce sull'effettivo consumo del processo, affermando che lo scenario rappresentato non ha alcuna somiglianza con il reale congelamento classico a pressione atmosferica, che non richiede né contenitori ingombranti, né una soluzione di cristallizzazione che circonda il prodotto alimentare, dato che normalmente è presente un contatto diretto o ravvicinato tra il prodotto e il mezzo refrigerante. (Fikiin et al. 2023)

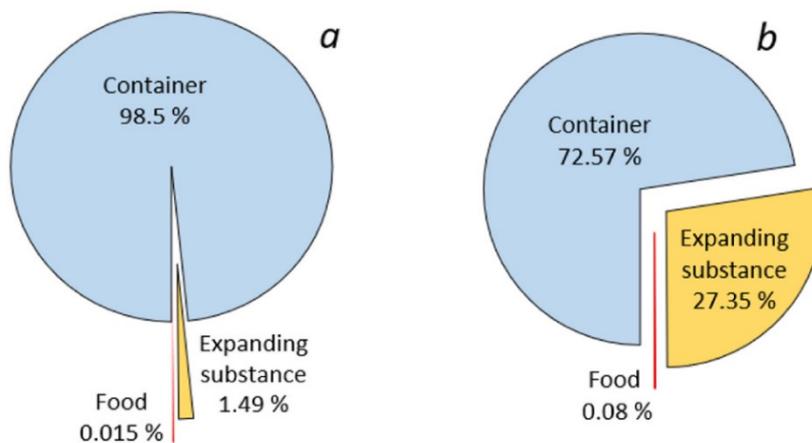


Figura 4.1 Rapporto di massa dei componenti di un sistema di prova per il "congelamento isocoro" (a), e percentuali di energia fredda consumata per refrigerarli da 22 a 5 °C (b). (Fikiin et al. 2023, 1)

In risposta il gruppo di Powell-Palm e Rubinsky afferma che l'analisi degli autori non affronta la premessa fondamentale di questo lavoro, cioè la differenza nelle scale di energia tra il raffreddamento e il congelamento e i risparmi energetici dovuti all'assenza del calore latente di congelamento di temperature molto al di sotto degli 0 °C. Inoltre, nella loro analisi del raffreddamento, come mostrato nella

Figura 4.1, viene scelto un sistema fisico di laboratorio che non riflette un sistema che potrebbe essere usato nell'industria. (Powell-Palm e Rubinsky 2023)

Inoltre, viene fatto presente che le camere utilizzate negli esperimenti di laboratorio, non rappresentano una configurazione applicabili nell'industria. I sistemi sono stati progettati per dimostrare la fattibilità scientifica della conservazione isocorica e non hanno pretese di rilevanza e ottimizzazione industriale. (Powell-Palm e Rubinsky 2023)

Fikiin prosegue con la discussione sugli effetti di trasferimento di calore. Secondo l'autore non si riesce a spiegare come uno scenario di conduzione del calore in una lastra infinita monodimensionale possa produrre risultati teorici in buon accordo con le misurazioni per un oggetto 3D reale che viene "congelato isocoricamente". Inoltre, aggiunge che la stabilità del congelamento isocoro sia dovuta alla massa termica del contenitore e dal cambiamento di fase della soluzione che circonda l'alimento. (Fikiin et al. 2023)

La risposta del gruppo di Powell-Palm e Rubinsky è stata abbastanza vaga sui motivi per cui non è stata approfondita, giustificando il loro operato per semplicità concettuale e per mancanza di dati termofisici affidabili per le soluzioni di interesse alla basse temperature e alle alte pressioni presenti in un sistema isocoro. (Powell-Palm e Rubinsky 2023)

Riassumendo i parametri operativi su cui applicare l'idea originale del congelamento isocorico, ovvero la conservazione di prodotti alimentari solidi o liquidi ad alto contenuto di acqua, sono stati notevolmente chiariti. È stato identificato il range di temperatura da -2°C a -5°C e l'intervallo di pressione dipendente dalla composizione da 10 a 30 MPa come ottimali per una serie di alimenti. Inoltre, La combinazione di basse temperature e alte pressioni ha dimostrato di ridurre la crescita di batteri mesofili, lieviti e muffe durante la conservazione, suggerendo un potenziale ruolo sia come processo indipendente di sicurezza alimentare che come processo di conservazione a sicurezza migliorata. (Powell-Palm e Rubinsky 2023)

CAPITOLO 5 - CONCLUSIONI

In conclusione, questa tesi ha esplorato in dettaglio il concetto di congelamento isocorico come un'innovativa tecnica di conservazione alimentare e gli studi ad oggi disponibili che utilizzano questa tecnica. L'elaborato analizza il funzionamento di questa tecnologia, evidenziando i suoi vantaggi significativi rispetto ai metodi di congelamento tradizionali a pressione costante. I risultati delle ricerche dimostrano chiaramente che il congelamento isocorico offre un notevole miglioramento nella qualità dei prodotti alimentari conservati, grazie all'eliminazione della formazione di cristalli di ghiaccio e alla conseguente conservazione delle caratteristiche sensoriali e nutritive dei cibi.

Alcuni studi evidenziano che il congelamento isocorico può comportare notevoli risparmi energetici, riducendo la quantità di energia richiesta per la conservazione dei cibi. Questa riduzione dell'impatto ambientale è particolarmente rilevante in un'epoca in cui la sostenibilità ambientale è una priorità globale.

Tuttavia, è importante notare che il congelamento isocorico non è privo di sfide e richiede ulteriori ricerche e sviluppi per diventare una tecnologia più ampiamente accessibile ed efficiente. Inoltre, sono necessarie valutazioni più approfondite per determinare la sua applicabilità a una vasta gamma di prodotti alimentari e situazioni industriali.

In definitiva, il congelamento isocorico rappresenta una promettente frontiera nella conservazione alimentare che merita ulteriori esplorazioni e sviluppi. Le sue potenzialità nel migliorare la qualità dei prodotti alimentari e nel ridurre l'impatto ambientale offrono spunti significativi per il futuro dell'industria alimentare.

Bibliografia

- Alexandre, Elisabete M.C., Teresa R.S. Brandão, e Cristina L.M. Silva. 2013. «Frozen Food and Technology». In *Advances in Food Science and Technology*, a cura di Visakh P. M., Sabu Thomas, Laura B. Iturriaga, e Pablo Daniel Ribotta, 1^a ed., 123–50. Wiley.
<https://doi.org/10.1002/9781118659083.ch4>.
- Archer, Douglas L. 2004. «Freezing: An Underutilized Food Safety Technology?» *International Journal of Food Microbiology* 90 (2): 127–38. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00215-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00215-0).
- Bilbao-Sainz, Cristina, Amanda G. J. Sinrod, Lan Dao, Gary Takeoka, Tina Williams, Delilah Wood, David F. Bridges, et al. 2020. «Preservation of Spinach by Isochoric (Constant Volume) Freezing». *International Journal of Food Science & Technology* 55 (5): 2141–51. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14463>.
- Bilbao-Sainz, Cristina, Amanda J. G. Sinrod, Tina Williams, Delilah Wood, Bor-Sen Chiou, David F. Bridges, Vivian C. H. Wu, Chenang Lyu, Boris Rubinsky, e Tara McHugh. 2020. «Preservation of Tilapia (*Oreochromis Aureus*) Fillet by Isochoric (Constant Volume) Freezing». *Journal of Aquatic Food Product Technology* 29 (7): 629–40.
<https://doi.org/10.1080/10498850.2020.1785602>.
- Bilbao-Sainz, Cristina, Amanda J.G. Sinrod, Lan Dao, Gary Takeoka, Tina Williams, Delilah Wood, Bor-Sen Chiou, et al. 2021. «Preservation of Grape Tomato by Isochoric Freezing». *Food Research International* 143 (maggio): 110228.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110228>.
- Bilbao-Sainz, Cristina, Amanda Sinrod, Matthew J. Powell-Palm, Lan Dao, Gary Takeoka, Tina Williams, Delilah Wood, et al. 2019. «Preservation of Sweet Cherry by Isochoric (Constant Volume) Freezing». *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 52 (marzo): 108–15. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.10.016>.
- Fikiin, Kostadin, e Stepan Akterian. 2022. «A Lauded Refrigeration Technique and Resource-Efficiency of Frozen Food Industry». *Trends in Food Science & Technology* 128 (ottobre): 185–87. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.05.008>.
- Fikiin, Kostadin, Stepan Akterian, Alain Le Bail, James Carson, e Trygve M. Eikevik. 2023. «‘Isochoric Freezing’: Ambitions and Reality». *Journal of Food Engineering* 349 (luglio): 111460. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111460>.
- Friso, Dario. 2018. «Ingegneria dell’industria agroalimentare. Teoria, applicazione e dimensionamento delle macchine e impianti per le operazioni unitarie». In *Ingegneria dell’industria agroalimentare. Teoria, applicazione e dimensionamento delle macchine e impianti per le operazioni unitarie*, 2018^a ed., 2:181–207. Padova.

- Geidobler, R., e G. Winter. 2013. «Controlled Ice Nucleation in the Field of Freeze-Drying: Fundamentals and Technology Review». *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 85 (2): 214–22. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2013.04.014>.
- Jha, Piyush Kumar, Alain Le-Bail, e Soojin Jun. 2022. «Recent Advances in Freezing Processes: An Overview». In *Food Engineering Innovations Across the Food Supply Chain*, 187–206. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821292-9.00024-8>.
- Kumari, Aparna, Anil Kumar Chauhan, e Prachi Tyagi. 2022. «Isochoric Freezing: An Innovative and Emerging Technology for Retention of Food Quality Characteristics». *Journal of Food Processing and Preservation* 46 (8). <https://doi.org/10.1111/jfpp.16704>.
- Muthukumarappan, Kasiviswanathan, C. Marella, e V. Sunkesula. 2019. «Food Freezing Technology». In *Handbook of Farm, Dairy and Food Machinery Engineering*, 389–415. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814803-7.00015-4>.
- Powell-Palm, Matthew J., e Boris Rubinsky. 2019. «A Shift from the Isobaric to the Isochoric Thermodynamic State Can Reduce Energy Consumption and Augment Temperature Stability in Frozen Food Storage». *Journal of Food Engineering* 251 (giugno): 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.02.001>.
- Powell-Palm e Boris Rubinsky. 2023. «Response to “‘Isochoric Freezing’: Ambitions and Reality”». *Journal of Food Engineering* 349 (luglio): 111461. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111461>.
- Reid, David S. 1997. «Overview of Physical/Chemical Aspects of Freezing». In *Quality in Frozen Foods*, a cura di Marilyn C. Erickson e Yen-Con Hung, 10–28. Boston, MA: Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5975-7_2.
- Rinwi, Tsekwi Gracious, Da-Wen Sun, Ji Ma, e Qi-Jun Wang. 2023. «Effects of Isochoric Freezing on Freezing Process and Quality Attributes of Chicken Breast Meat». *Food Chemistry* 405 (marzo): 134732. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134732>.
- Rubinsky, Boris, Pedro Alejandro Perez, e Morgan E. Carlson. 2005. «The Thermodynamic Principles of Isochoric Cryopreservation». *Cryobiology* 50 (2): 121–38. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2004.12.002>.
- Tassou, S.A., J.S. Lewis, Y.T. Ge, A. Hadawey, e I. Chaer. 2010. «A Review of Emerging Technologies for Food Refrigeration Applications». *Applied Thermal Engineering* 30 (4): 263–76. <https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2009.09.001>.
- Zhao, Yuanheng, Matthew J. Powell-Palm, Junjie Wang, Cristina Bilbao-Sainz, Tara McHugh, e Boris Rubinsky. 2021. «Analysis of Global Energy Savings in the Frozen Food Industry Made Possible by Transitioning from Conventional Isobaric Freezing to Isochoric Freezing». *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 151 (novembre): 111621. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111621>.

Sitografia

«impatto ambientale nell'Enciclopedia Treccani». s.d. Consultato 10 settembre 2023.
<https://www.treccani.it/enciclopedia/impatto-ambientale>.