



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

**PROGRESSI NELLE STRATEGIE PER
GARANTIRE LA SICUREZZA
MICROBIOLOGICA DEL GHIACCIO
ASSOCIATO AGLI ALIMENTI**

**PROGRESSES IN STRATEGIES TO ENSURE THE
MICROBIOLOGICAL SAFETY OF ICE RELATED TO FOOD**

Studente:
VALENTINA CENSORI

Relatore:
PROF. ANDREA OSIMANI

ANNO ACCADEMICO 2022-2023

A chi non ce l'ha fatta.

ELENCO DELLE TABELLE.....	4
ELENCO DELLE FIGURE	5
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI	6
INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI	7
CAPITOLO 1 PANORAMICA SUL GHIACCIO ASSOCIATO AL CIBO	9
1.1 Applicazione e classificazioni del ghiaccio associato al cibo nell'industria alimentare 9	
1.2 Normative sul ghiaccio associato al cibo	9
1.3 Fonti e vie di contaminazione del ghiaccio da parte di microrganismi.....	11
1.4 Contaminazione microbica nel ghiaccio associato al cibo.....	13
CAPITOLO 2 STRATEGIE PER GARANTIRE LA SICUREZZA MICROBIOLOGICA DEL GHIACCIO ASSOCIATO AL CIBO	17
2.1 Trattamento con l'ozono	17
2.1.1 Panoramica sulla tecnologia dell'ozono e sul ghiaccio ozonizzato.....	17
2.1.2 Effetto antibatterico del trattamento con ozono	18
2.2 Ghiaccio da acqua elettrolizzata (EW).....	19
2.2.1 Panoramica del ghiaccio da acqua elettrolizzata (EW).....	19
2.2.2 Effetto antibatterico del ghiaccio EW	20
2.3 Ghiaccio all'acqua attivata al plasma (PAW).....	21
2.3.1 Panoramica sulla tecnologia del plasma	21
2.3.2 Effetto antibatterico del ghiaccio all'acqua attivata al plasma (PAW)	22
2.4 Aggiunta di composti antimicrobici nel ghiaccio	23
2.4.1 Aggiunta di oli essenziali.....	23
2.4.2 Aggiunta di altri composti antimicrobici	23
2.5 L'irradiazione di ghiaccio con diodi emettitori di luce UVC (UVC-LED).....	24
2.5.1 Panoramica sulla tecnologia UVC-LED.....	24
2.5.2 Meccanismi di irradiazione degli UVC-LED sul ghiaccio	24
CAPITOLO 3 EFFETTO DEL GHIACCIO FUNZIONALIZZATO SULLA QUALITÀ DEGLI ALIMENTI.....	26
CAPITOLO 4 LIMITAZIONI E TENDENZE FUTURE SUL GHIACCIO FUNZIONALIZZATO	33
CONCLUSIONI	35
BIBLIOGRAFIA	36

ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1: Standard normativi del ghiaccio associato al cibo 10

Tabella 2: Livelli di contaminazione microbica del ghiaccio associato agli alimenti. 14

Tabella 3: Applicazioni del ghiaccio funzionalizzato nella conservazione degli alimenti 29

ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1-1: Potenziali fonti e vie di contaminazione del ghiaccio da parte di microrganismi [2, 25, 26].	13
Figura 2-1: La generazione di acqua elettrolizzata acida (AEW) avviene in una cella elettrolitica collegata da una fonte di alimentazione esterna all'anodo e al catodo.	20

ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

FDA	Food and Drug Administration
FSSAI	Food Safety and Standards Authority of India
OMS	Organizzazione Mondiale della Sanità
IPIA	International Packaged Ice Association
EPIA	European Packaged Ice Association
THPC	Conteggio totale delle placche eterotrofe
THC	Conteggio totale di eterotrofi
TAB	Batteri aerobi totali
TVC	Conteggio microbico totale
PV	Valore dei perossidi
TVBN	Totale dell'azoto volatile basico
EW	Acqua elettrolizzata
NEW	Acqua elettrolizzata neutra
AEW	Acqua elettrolizzata acida
SAEW	Acqua elettrolizzata leggermente acida
PAW	Acqua attivata al plasma
STPP	Tripolifosfato di sodio
SL-SD	Lattato di sodio-diacetato di sodio
TW	Acqua di rubinetto
ACC	Contenuto di cloro disponibile
ORP	Potenziale di ossido-riduzione
APC	Conteggio delle piastre aerobiche

INTRODUZIONE E SCOPO DELLA TESI

Come riportato da Wang e collaboratori [1], il ghiaccio viene ampiamente utilizzato nell'industria alimentare come comune refrigerante o ingrediente. Tuttavia, è evidente che, se utilizzato nel contesto alimentare può essere facilmente contaminato da batteri patogeni quali *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. Le fonti di contaminazione sono attribuibili all'utilizzo di acqua non idonea igienicamente, a una manipolazione inadeguata e a condizioni igieniche scadenti delle macchine per la produzione del ghiaccio. Questo ghiaccio contaminato potrebbe fungere da veicolo per la trasmissione di patogeni al cibo e all'uomo, rappresentando un potenziale rischio per la salute pubblica.

La sicurezza alimentare rappresenta una sfida globale di notevole rilevanza. Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), circa 600 milioni di persone in tutto il mondo, pari a quasi una persona su dieci, si ammalano a causa di malattie trasmesse attraverso gli alimenti, tra cui diarrea, insufficienza renale ed epatica, disturbi cerebrali e neurali, artrite reattiva e cancro, con 420.000 decessi riportati nel 2010 [2]. Tali malattie possono derivare dal consumo di alimenti la cui contaminazione può verificarsi in qualsiasi fase della produzione, del trasporto e del consumo. Pertanto, è di fondamentale importanza adottare metodi efficaci per garantire la sicurezza microbiologica degli alimenti, specialmente lungo la catena del freddo.

La catena del freddo riveste un ruolo cruciale nell'industria alimentare poiché mira a prolungare la durata di conservazione e a preservare la freschezza degli alimenti. Il ghiaccio è un refrigerante comune utilizzato per inibire la crescita microbica e prolungare la conservazione degli alimenti. A causa del contatto diretto con gli alimenti, la sicurezza microbiologica del ghiaccio sta ricevendo una crescente attenzione, poiché numerosi studi hanno confermato la presenza di diversi microrganismi contaminanti [3,4]. Il consumo diretto di alimenti a contatto con il ghiaccio contaminato può favorire la trasmissione di microrganismi patogeni agli esseri umani, causando potenziali focolai di malattie gastrointestinali. Pertanto, è essenziale prestare attenzione alle condizioni igieniche del ghiaccio associato al cibo lungo la catena del freddo al fine di garantire la sicurezza alimentare e la salute dei consumatori.

L'obiettivo di questa Tesi è fornire una panoramica della letteratura scientifica attualmente disponibile in merito allo stato igienico del ghiaccio associato al cibo, concentrandosi in particolare sui principali contaminanti microbiologici patogeni, nonché sulle fonti e sulle vie comuni di contaminazione.

Inoltre, vengono presentati in modo sistematico i recenti progressi e le applicazioni di metodi all'avanguardia per la produzione di ghiaccio sicuro, come l'utilizzo di ozono, acqua elettrolizzata, plasma freddo, oli essenziali e l'irradiazione con diodi emettitori di luce ultravioletta.

Vengono successivamente discussi in dettaglio l'efficacia e i limiti di questi metodi di trattamento sulla qualità degli alimenti. Diversi studi sono stati condotti per dimostrare il potenziale del ghiaccio trattato sopra menzionato nel garantire la sicurezza microbiologica e il controllo del deterioramento della qualità durante la conservazione dei prodotti ittici.

Infine, vengono forniti suggerimenti per le future ricerche in questo ambito.

Capitolo 1

PANORAMICA SUL GHIACCIO ASSOCIATO AL CIBO

1.1 Applicazione e classificazioni del ghiaccio associato al cibo nell'industria alimentare

Nelle ultime decadi, la produzione e il consumo di ghiaccio a livello globale sono aumentati notevolmente. Il ghiaccio viene ampiamente utilizzato nell'industria alimentare come refrigerante o ingrediente [5]. Ad esempio, nel settore della carne, viene utilizzato durante la lavorazione per migliorare la solubilità delle proteine e mantenere la carne macinata a bassa temperatura [6]. Inoltre, l'utilizzo del ghiaccio contribuisce a preservare il colore caratteristico della carne e a inibire la crescita dei microrganismi [7]. Per quanto riguarda i prodotti ittici, la frutta e la verdura, il ghiaccio viene comunemente impiegato per abbassare la temperatura durante il trasporto e la conservazione [8]. Di conseguenza, l'attività dei microrganismi, degli enzimi e di altri fattori di deterioramento ne risulta significativamente ridotta [8].

Attualmente, non esiste una classificazione unificata per l'uso del ghiaccio nell'industria alimentare a livello globale. In base alle esigenze e alle modalità di utilizzo, il ghiaccio impiegato nell'industria alimentare può essere suddiviso in ghiaccio utilizzato all'interno di alimenti e quello non utilizzato nelle preparazioni alimentari. Più specificamente, il primo viene aggiunto a bevande e prodotti alcolici e consumato direttamente dai consumatori. Il secondo viene principalmente utilizzato lungo la catena del freddo durante il trasporto e la conservazione. Ciò include sia il ghiaccio a contatto diretto con il cibo, per prolungarne la durata di conservazione, che il ghiaccio a contatto indiretto con il cibo, per ridurre la temperatura ambientale nella catena del freddo.

1.2 Normative sul ghiaccio associato al cibo

Di seguito vengono riassunte le normative esistenti sul ghiaccio associato al cibo in diversi paesi e regioni (Tabella 1). Secondo la Food and Drug Administration [9], il ghiaccio è considerato cibo, indipendentemente dalla sua forma (scaglie, cubetti, pezzi o tritato). Per quanto riguarda le fonti, il ghiaccio può essere prodotto con acqua di rubinetto, acqua di sorgente o acqua purificata [9]. In Europa, il ghiaccio destinato a raffreddare prodotti ittici deve essere prodotto con acqua potabile (Regolamento n. 852/2004 [10] e 853/2004 [11]);

Commissione Europea 2004). Inoltre, deve essere prodotto, manipolato e conservato in condizioni che ne preservino l'integrità igienica.

L'Associazione Europea del Gelato ha emesso una serie di standard sulla qualità microbiologica del ghiaccio commestibile, imponendo limiti per la presenza di *Listeria monocytogenes* (inferiore a 100 UFC/g) e richiedendo l'assenza di *Salmonella enterica* in 25 g di gelato.

In Cina, il Ministero del Commercio della Repubblica Popolare Cinese ha stabilito che il ghiaccio commestibile deve essere prodotto con acqua potabile (SB/T 10017-2008) [12] e non è consentita la presenza di coliformi totali, coliformi termoresistenti ed *E. coli* (GB 5749-2006) [13].

Inoltre, l'Autorità per la Sicurezza Alimentare e gli Standard dell'India (FSSAI) ha sottolineato una netta distinzione tra il ghiaccio commestibile e il ghiaccio non commestibile (File No. 4-21, 2018/Maharashtra/RCD/FSSAI) [14]. È stata emessa un'indicazione dove tutti gli operatori alimentari coinvolti nella produzione e nell'uso di ghiaccio commestibile e non commestibile devono etichettarli con colori diversi per garantirne la corretta distinzione.

In Uganda, nel giugno 2017, è stata pubblicata la notifica G/TBT/N/UGA/693 che stabilisce gli standard per il ghiaccio commestibile e le miscele di ghiaccio, compresi i metodi di campionamento e test per la produzione di ghiaccio commestibile o miscele di ghiaccio in forma liquida o in polvere destinati al consumo umano. Il ghiaccio commestibile e le miscele di ghiaccio devono rispettare i limiti per i contaminanti microbiologici, con particolare attenzione alla assenza di *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes* ed *E. coli* [15]. Secondo l'OMS, il ghiaccio destinato al consumo diretto o a contatto diretto con gli alimenti destinati al consumo deve avere lo stesso livello di qualità e sicurezza dell'acqua potabile.

Tabella 1: Standard normativi del ghiaccio associato al cibo

Tipo di ghiaccio	Paese o organizzazione	Requisiti normativi	Fonte
Ghiaccio a contatto con gli alimenti	Commissione Europea	Il ghiaccio che viene a contatto con gli alimenti o che potrebbe contaminare gli alimenti deve essere prodotto con acqua potabile o, quando utilizzato per raffreddare prodotti ittici interi, con acqua pulita. Deve essere prodotto, manipolato e conservato in condizioni che lo proteggano dalla contaminazione.	[10],[11]
Ghiaccio commestibile e non commestibile	Stati Uniti, Food and Drug Administration (FDA)	Il ghiaccio può essere raschiato, a cubetti, a pepite o triturato. Può essere fatto con acqua di rubinetto, acqua di sorgente o acqua purificata.	[9]

Ghiaccio commestibile	Cina, Standardization Administration of China	Il ghiaccio commestibile deve essere fatto con acqua potabile e non devono essere rilevati coliformi totali, coliformi termoresistenti ed <i>E. coli</i> .	[12],[13]
Ghiaccio commestibile e ghiaccio non commestibile	India, Food Safety and Standards Authority of India (FSSAI)	Tutti gli operatori alimentari impegnati nella produzione e nell'uso di ghiaccio commestibile e non commestibile devono utilizzare colori diversi per garantire una chiara distinzione.	[14]
Ghiaccio commestibile	Uganda	Il ghiaccio commestibile e le miscele di ghiaccio devono conformarsi ai limiti per i contaminanti microbiologici. <i>Salmonella</i> , <i>L. monocytogenes</i> ed <i>E. coli</i> non devono essere presenti né nel ghiaccio commestibile né nelle miscele di ghiaccio.	[15]
Ghiaccio confezionato	International Packaged Ice Association (IPIA)	Il conteggio totale delle placche eterotrofe (THPC) a 37 °C del ghiaccio confezionato non deve essere superiore a 500 UFC/mL, mentre i coliformi fecali totali non devono essere rilevati.	[16]
Ghiaccio confezionato	European Packaged Ice Association (EPIA)	Deve essere prevista una tecnica affinché le mani non tocchino mai direttamente il ghiaccio. Devono essere forniti guanti igienici e cambiati secondo necessità. L'area di stoccaggio del ghiaccio deve essere priva di condizioni che potrebbero causare contaminazione.	[17]
Ghiaccio commestibile	Kenya, Standards Projects Committee	L'acqua utilizzata per produrre il ghiaccio commestibile deve essere di qualità potabile; <i>Salmonella</i> spp. e <i>S. aureus</i> non devono essere rilevati e il conteggio totale delle colonie deve essere inferiore a 50.000 UFC/g.	[18]
Ghiaccio commestibile	Associazione europea del gelato	<i>L. monocytogenes</i> < 100 UFC/g, <i>Salmonella</i> deve essere assente in 25 g di gelato.	[19]

1.3 Fonti e vie di contaminazione del ghiaccio da parte di microrganismi

La contaminazione microbica del ghiaccio è un grave problema da molto tempo. Sono stati registrati diversi focolai di malattie alimentari correlati al consumo di ghiaccio contaminato [20-22].

Il ghiaccio può essere contaminato da diverse fonti, tra cui l'acqua di approvvigionamento [25], le macchine di produzione contaminate [3] e pratiche igieniche scorrette degli operatori [26] (Fig. 1).

Ad esempio, nel febbraio 1992, il Dipartimento di Sanità dello Stato delle Hawaii ha riportato di un'epidemia di gastroenterite acuta non batterica che ha colpito più di 900 persone, attribuita al consumo di ghiaccio contaminato dal virus Norwalk [23].

Negli Stati Uniti, nel 2011, l'Ufficio di Sanità Pubblica e il Centro per il Controllo e la Prevenzione delle Malattie (CDC) ha segnalato un focolaio di batteriemia da *Francisella novicida* associato al consumo di ghiaccio contaminato in Louisiana [24].

Nel 1987 più di 5.000 persone si sono ammalate a causa del consumo di ghiaccio prodotto con acqua contaminata [16]. Uno studio condotto da Tuyet Hanh e Hanh [27] nella provincia di Binh Phuoc, in Vietnam, ha valutato la qualità microbiologica del ghiaccio commestibile e le fonti di contaminazione in diverse strutture. È emerso che solo un terzo delle strutture soddisfaceva i requisiti igienici, mentre oltre il 50% dei campioni di ghiaccio era contaminato, con il 49,4% dei campioni positivi per *E. coli* e il 12,7% contenenti coliformi [27]. La contaminazione microbica del ghiaccio dipende principalmente dalle condizioni igieniche durante la produzione, che può avvenire in famiglie, ristoranti, bistrot e strutture industriali [7]. È stato anche riscontrato che le macchine per il ghiaccio possono essere facilmente contaminate dalle mani degli operatori o da reflussi di liquami a causa della mancanza di dispositivi di pulizia adeguati.

Chavasit et al. [25] hanno valutato la qualità microbiologica del ghiaccio proveniente da 11 impianti per la produzione in Thailandia, e i risultati hanno indicato la presenza di coliformi nei campioni e nelle macchine per la produzione di ghiaccio. Oltre ai serbatoi del ghiaccio, i coliformi erano presenti anche sulle mani degli operatori che maneggiavano il ghiaccio [25].

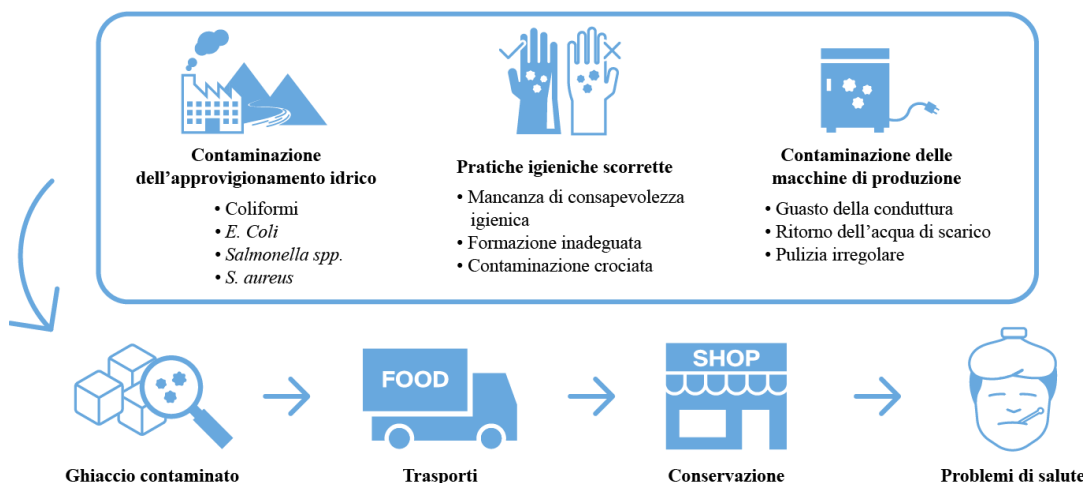


Figura 1-1: Potenziali fonti e vie di contaminazione del ghiaccio da parte di microrganismi [3, 26, 27]. Modificata da Wang e coll. [1].

1.4 Contaminazione microbica nel ghiaccio associato al cibo.

Sono stati condotti numerosi studi sia nei paesi sviluppati che nelle regioni in via di sviluppo per valutare la presenza di contaminazione microbica nel ghiaccio utilizzato per scopi alimentari [4,27-30] (Tabella 2).

I principali microrganismi riscontrati nel ghiaccio includono *Salmonella* spp., *E. coli*, *Pseudomonas* spp., *S. aureus* ed Enterobacteriaceae [2,5,27,32]. Ad esempio, uno studio condotto da Nichols et al. [33] nel Regno Unito ha analizzato 4.346 campioni di ghiaccio provenienti da punti vendita e locali di ristorazione, rilevando che il 9% dei campioni utilizzati per raffreddare le bevande conteneva coliformi, l'1% conteneva *E. coli* e l'1% dei campioni di ghiaccio presentava un livello di contaminazione da enterococchi superiore a 10^2 UFC/100 mL. Inoltre, l'11% dei campioni di ghiaccio aveva una conta di colonie aerobiche superiore a 10^3 UFC/mL. È interessante notare che, rispetto al ghiaccio utilizzato per il raffreddamento delle bevande, il ghiaccio destinato all'uso alimentare ha dimostrato condizioni igieniche più scarse.

Gerokomou et al. [28] hanno analizzato la contaminazione microbica in 100 campioni di ghiaccio prelevati da 10 diverse strutture di vendita al dettaglio nella regione dell'Epiro, in Grecia, dove il ghiaccio veniva utilizzato per la conservazione dei prodotti ittici. In questo caso, è emerso che il 15% dei campioni conteneva *E. coli* e il 4% conteneva *Salmonella*, con un conteggio che variava da 10^2 a 10^3 UFC/mL.

Un altro studio condotto da Teixeira et al. [34] a Lisbona ha valutato lo stato microbico del ghiaccio utilizzato per la conservazione del pesce in 18 mercati. I risultati hanno indicato che,

ad eccezione di *Salmonella*, i livelli di contaminazione microbica nella fase di contatto con il prodotto erano significativamente più alti rispetto alla fase di produzione e conservazione del ghiaccio. In particolare, sono stati riscontrati livelli elevati di coliformi totali (548 MPN/100 mL), *E. coli* (1 MPN/100 mL), enterococchi (29 MPN/100 mL) e *S. aureus* (271 UFC/100 mL).

Questi studi evidenziano la necessità di adottare tecniche e misure efficaci per prevenire la contaminazione microbica nel ghiaccio destinato all'uso alimentare. La corretta igiene e la gestione adeguata delle fonti di contaminazione, come l'acqua di approvvigionamento e le apparecchiature di produzione del ghiaccio, sono fondamentali per garantire la sicurezza e la qualità del ghiaccio utilizzato nel settore alimentare.

Tabella 2: Livelli di contaminazione microbica del ghiaccio associato agli alimenti.

Classificazione del ghiaccio	Siti di campionamento	Microrganismi, loro tossine, metaboliti	Livello di contaminazione microbica	Fonte
Ghiaccio non commestibile (ghiaccio commerciale e ghiaccio utilizzato per refrigerare pesce e frutti di mare)	Fabbrica di ghiaccio, mercato del pesce, banco del pesce ad Araraquara, San Paolo, Brasile	Criteri di igiene di processo: -Coliformi totali; -Coliformi fecali; - <i>E. coli</i>	Coliformi totali: 6,9-1,2×10 ³ MPN/100 mL; Coliformi fecali: < 2-5,3×10 ² MPN/100 mL <i>E. coli</i> : < 2-2,2×10 ² MPN/100 mL	[35]
Ghiaccio commestibile e non commestibile (ghiaccio utilizzato per raffreddare bevande e alimenti)	Grecia	Criteri di igiene di processo: -Conteggio totale di eterotrofi (THC); -Coliformi totali; -Coliformi fecali	È stata conteggiata almeno una colonia di coliformi fecali nel 91,67% dei campioni (55/60), di cui 3 (5%) con conteggi > 100 UFC/100 g; tutti sono risultati positivi per gli Enterococchi, con 6 (10%) che mostravano conteggi >100 UFC/100 g.	[36]
Ghiaccio a contatto con il cibo (cubetti di ghiaccio campionati presso negozi di alimentari)	Kubang Kerian, Kelantan, Malesia	Criteri di igiene di processo: -Coliformi fecali	Da 1 UFC/100 mL a > 50 UFC/100 mL di coliformi fecali.	[4]

Ghiaccio commestibile e non commestibile (ghiaccio utilizzato per raffreddare bevande e pesce)	Ogbomoso Metropolis, Sud-ovest, Nigeria	Criteri di sicurezza alimentare: - <i>Pediococcus cerevisiae</i> ; - <i>Bacillus subtilis</i> ; - <i>Streptococcus pyogenes</i> ; - <i>Bacillus firmus</i> . - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; - <i>Streptococcus equi</i> ; - <i>S. epidermidis</i> ; - <i>Micrococcus luteus</i>	Carico microbico di 1.88×10^4 – 3.10×10^4 UFC/mL per il ghiaccio commestibile e di 2.19×10^4 – 3.20×10^4 UFC/mL per il ghiaccio non commestibile.	[3]
Ghiaccio non commestibile (campioni di ghiaccio confezionato in loco e ghiaccio prodotto industrialmente)	California del Sud, USA	1) Criteri di sicurezza alimentare: -Stafilococchi; - <i>Salmonella</i> ; 2) Criteri di igiene del processo: -Coliformi; - <i>E. coli</i>	Il 19% dei 120 campioni di ghiaccio confezionato in loco supera il limite microbico di 500 UFC/mL; il conteggio più elevato di stafilococchi è stato di 528 UFC/100 mL; gli stafilococchi sono stati trovati nel 34% del ghiaccio confezionato in loco ma non nei campioni di ghiaccio prodotto industrialmente; nessuno dei 156 campioni è risultato positivo per <i>Salmonella</i> .	[37]
Ghiaccio commestibile (utilizzato per raffreddare bevande e alimenti pronti da consumare in esposizione)	Regno Unito	Criteri di igiene del processo: -Coliformi; - <i>E. coli</i> ; -Enterococchi; -Conteggio totale di colonie aerobiche (APC)	Il 9% del ghiaccio era contaminato da coliformi; l'1% era positivo per <i>E. coli</i> ; l'1% conteneva Enterococchi in una quantità superiore a 10^2 UFC/100 mL; l'11% del ghiaccio presentava un conteggio totale di colonie aerobiche superiore a 10^3 UFC/100 mL.	[33]
Ghiaccio non commestibile	Fabbriche, ristoranti, negozi e venditori ambulanti a Jakarta, Indonesia	Criteri di sicurezza alimentare: - <i>Vibrio cholerae</i>	I livelli di <i>V. cholerae</i> sia nel ghiaccio che nelle bevande variavano da < 0,3 MPN/mL a > 110 MPN/mL	[32]

Ghiaccio commestibile	Sedi produttive di ghiaccio nella provincia di Binh Phuoc, Vietnam	Criteri di igiene del processo: - Coliformi totali; - <i>E. coli</i>	Il 49,4% (39/79) dei campioni era contaminato da <i>E. coli</i> e il 12,7% (10/79) era positivo per i coliformi.	[27]
Ghiaccio commestibile e non commestibile	Strutture domestiche, ristoranti e industriali in Italia	Criteri di igiene del processo: -Microrganismi mesofili totali	I microrganismi mesofili totali variavano da $(1,01 \times 10^2 \pm 2,60 \times 10^2)$ UFC/100 mL a $(9,55 \times 10^3 \pm 1,42 \times 10^3)$ UFC/100 mL, $3,12 \times 10^2 - 6,31 \times 10^3$ e $1,30 \times 10^2 - 3,99 \times 10^3$ UFC/100 mL per il ghiaccio proveniente da freezer domestici, contenitori di stoccaggio e pacchetti di vendita.	[38]
Ghiaccio non commestibile (ghiaccio in fabbrica)	Provincia di Chanthaburi in Thailandia	Criteri di sicurezza alimentare: - <i>Shigella</i> ; - <i>Salmonella</i>	Non disponibile	[39]
Ghiaccio commestibile	Ristoranti, bar e mercati del pesce situati in diverse regioni di Istanbul, Turchia	Criteri di igiene del processo: - <i>E. coli</i> ; -Enterococchi; -Coliformi	Sono state rilevate <i>E. coli</i> in 7 campioni di ghiaccio (6,7%) e in 23 campioni di ghiacciaia (21,9%), Enterococchi in 13 campioni di ghiaccio (12,4%), coliformi in 71 ghiacciaie (67,5%) e in 54 campioni di ghiaccio (51,4%).	[31]
Ghiaccio commestibile	Negozi di alimentari e ristoranti a Seoul, Corea del Sud	Criteri di igiene del processo: -Batteri aerobi totali (TAB)	I TAB variavano da 1,83 (lg (UFC/g)) a 2,31 (lg (UFC/g)).	[30]

Capitolo 2

STRATEGIE PER GARANTIRE LA SICUREZZA MICROBIOLOGICA DEL GHIACCIO ASSOCIATO AL CIBO

Il ghiaccio associato al cibo è facilmente contaminato da microrganismi, come discusso nella sezione 1.3. Le indagini precedentemente menzionate hanno anche evidenziato che il ghiaccio contaminato, che è stato associato a numerosi focolai di malattie trasmesse attraverso gli alimenti, potrebbe essere il veicolo per la trasmissione di microrganismi al cibo e all'uomo. Pertanto, è indispensabile garantirne la sicurezza microbiologica nell'industria alimentare. Fino ad ora, sono stati riportati diversi metodi [40] per produrre ghiaccio sicuro.

2.1 Trattamento con l'ozono

2.1.1 *Panoramica sulla tecnologia dell'ozono e sul ghiaccio ozonizzato.*

Il trattamento con ozono è diventato un metodo avanzato per garantire la sicurezza microbiologica del ghiaccio associato agli alimenti [41]. L'ozono ha un ampio spettro di azione contro virus, batteri, biofilm e funghi [42,43].

La tecnologia dell'ozono è emersa negli ultimi decenni grazie alle sue proprietà specifiche e alla sua rapida capacità di decomposizione, rendendola un metodo avanzato per diverse applicazioni, tra cui l'agricoltura e l'industria alimentare [44]. L'uso dell'ozono nel trattamento degli alimenti ha ricevuto approvazioni legali in molti paesi, tra cui Nord America, Giappone, Nuova Zelanda e Australia [44]. La FDA ha ufficialmente approvato l'ozono come sostanza generalmente riconosciuta come sicura (GRAS) e come agente antimicrobico per il trattamento, la conservazione e la lavorazione di alimenti gassosi e acquosi [45].

In generale, il trattamento dell'acqua con ozono viene realizzato utilizzando aria o ossigeno (O_2) come gas di alimentazione attraverso diverse tecnologie, come gli ultravioletti, la scarica effetto corona e il processo elettrochimico, oppure utilizzando un generatore di bolle per ottenere acqua ozonata a micro/nano bolle [54]. Sotto l'effetto di radiazioni ad alta energia, le molecole di ossigeno si decompongono in atomi di ossigeno (O), i quali si combinano successivamente con altre molecole di ossigeno per formare l'ozono [41]. Questi processi sono descritti nelle seguenti equazioni (Equazioni 1 e 2).

1. $O_2 + e^{-1} \rightarrow 2O$
2. $O_2 + O \rightarrow O_3$

2.1.2 Effetto antibatterico del trattamento con ozono

Oggi, nell'ambito della conservazione e del trasporto degli alimenti, l'ozono viene impiegato per la disinfezione, in combinazione con imballaggi, conservazione a freddo, atmosfera modificata e altri metodi, al fine di migliorare l'effetto di conservazione [46]. Diversi studi [46,47] hanno dimostrato con successo l'applicazione dell'ozono per garantire la sicurezza microbiologica del ghiaccio (Tabella 3).

Un esempio è lo studio condotto da Campos et al. [48], che ha evidenziato come il ghiaccio ozonizzato porti a una significativa diminuzione del conteggio dei microrganismi presenti nelle sardine (*Sardina pilchardus*), inclusi i batteri aerobi mesofili, i batteri psicrotrofi, gli anaerobi e i coliformi, rispetto alle sardine conservate solo nel ghiaccio.

In un altro studio di Campos et al. [49], è stato analizzato l'effetto del ghiaccio ozonizzato sulle alterazioni microbiche del rombo allevato (*Psetta maxima*), e i risultati hanno indicato che il ghiaccio trattato con ozono può ridurre in modo significativo il conteggio dei batteri aerobi totali e dei batteri psicrotrofi durante la conservazione.

Allo stesso modo, è stato condotto uno studio che utilizzava il ghiaccio, sia in combinazione con l'ozono che da solo, sull'ombrina indopacifica (*Pennahia macrocephalus*), confrontandolo con il tradizionale ghiaccio in scaglie. Anche in questo caso, i risultati hanno dimostrato che il ghiaccio ozonizzato offriva una migliore conservazione della qualità, fino a 18 giorni, mentre il corrispondente lotto trattato con il ghiaccio in scaglie superava il limite di conta microbica totale (CMT), rispettivamente, dopo 9 e 15 giorni [44].

In uno studio simile, Agustini et al. [50] hanno esaminato l'effetto del ghiaccio ozonizzato sulla freschezza della tilapia rossa (*Oreochromis niloticus*) e dello sgombro (*Scomberomorus rastrelliger*). I risultati hanno mostrato che il ghiaccio ozonizzato ha avuto un effetto inibitorio sul valore dei perossidi (PV), sull'azoto volatile basico totale (TVBN) e sulla conta microbica totale (CMT).

Nonostante ciò, l'uso del ghiaccio ozonizzato presenta alcune limitazioni [51-53]. Poiché l'ozono si converte rapidamente in ossigeno quando si dissolve nell'acqua ed è difficile mantenerne l'efficacia in un ambiente acquoso [53].

L'ozono può rimanere intrappolato in microbolle, che tendono a fondersi e disperdersi nella fase liquida [53]. Per superare questo problema, potrebbe essere utile utilizzare microbolle di dimensioni più piccole (alcune decine di micron) poiché rimangono sospese nell'acqua per un

periodo più lungo rispetto a quelle di dimensioni maggiori, e aggiungere un tensioattivo per ridurre la fusione delle bolle e la loro velocità di risalita [53].

Inoltre, la reazione tra l'ozono e altri composti organici presenti negli alimenti non è ancora ben definita [54]. È stato riportato che l'esposizione prolungata al ghiaccio funzionalizzato ozonizzato può causare scolorimento, ossidazione superficiale e odore indesiderato [54].

In alternativa, è stato considerato l'utilizzo del ghiaccio secco in combinazione con l'ozono per preservare gli alimenti freschi.

Fratamico et al. [55] hanno introdotto l'ozono nei pellet di ghiaccio secco, chiamati Aligal Blue Ice (ABI). L'ABI sfrutta i vantaggi dell'effetto antimicrobico dell'ozono e dell'alto potere di raffreddamento del ghiaccio secco per garantire una migliore conservazione degli alimenti freschi durante il trasporto e la conservazione [55].

Tuttavia, sia il ghiaccio secco utilizzato da solo che in combinazione con l'ozono potrebbe influire negativamente sulla qualità degli alimenti [56]. L'uso del ghiaccio secco richiede competenze professionali, il che potrebbe limitarne l'utilizzo.

2.2 Ghiaccio da acqua elettrolizzata (EW)

2.2.1 Panoramica del ghiaccio da acqua elettrolizzata (Electrolyzed Water - EW)

EW si riferisce all'acqua acida o alcalina con capacità di ossidazione, ottenuta mediante elettrolisi di acqua contenente l'elettrolita in una specifica cella elettrolitica [56]. Negli ultimi decenni, l'EW ha ottenuto un'ampia accettazione come un nuovo sanificante ad ampio spettro [57,58]. Oggi, il ghiaccio all'EW è considerato come una nuova ed efficace tecnologia sviluppata nell'industria alimentare per preservare la qualità degli alimenti grazie al suo effetto antibatterico [58].

L'EW viene generata mediante l'elettrolisi di una soluzione acquosa di cloruro di sodio con uno strumento specifico. In questo strumento, anodo e catodo sono separati da una membrana per formare due compartimenti (Fig. 2-1). L'ipoclorito (HOCl) è considerato il componente principale che contribuisce all'effetto antibatterico dell'EW [59,60].

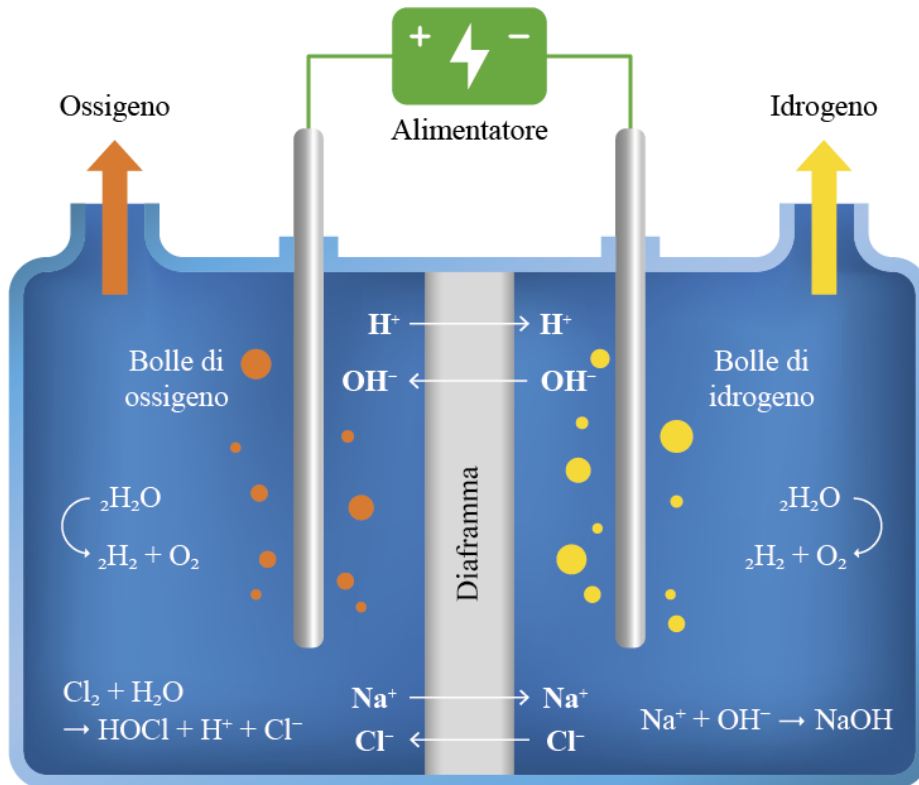


Figura 2-1: La generazione di acqua elettrolizzata acida (AEW) avviene in una cella elettrolitica collegata da una fonte di alimentazione esterna all'anodo e al catodo. Modificata da Wang e coll. [1].

2.2.2 Effetto antibatterico del ghiaccio EW

Diverse ricerche [60-63] hanno già dimostrato che il ghiaccio EW ha un forte effetto battericida contro numerosi patogeni alimentari, tra cui *Vibrio parahaemolyticus*, *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella enterica* Enteritidis, *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* su alimenti freschi (Tabella 3). L'utilizzo del ghiaccio EW è stato ampiamente implementato nel settore dei prodotti acquatici all'interno della catena del freddo.

Ad esempio, nello studio condotto da Phuvasate e Su [64], il ghiaccio EW con un contenuto di cloro disponibile di 100×10^{-6} è stato impiegato per la conservazione del tonno, evidenziando una riduzione di *Enterobacter aerogenes* e *Morganella morganii* sulla pelle del tonno di rispettivamente 2,4 e 3,5 log UFC/cm². È stato anche dimostrato che il ghiaccio di acqua elettrolizzata lievemente acida (SAEW) e il ghiaccio EW neutro (NEW) sono efficaci nella riduzione del conteggio batterico totale, nonché di *E. coli* K12, *Listeria innocua* e *Pseudomonas putida* [63-65].

Kim et al. [66] hanno osservato che il ghiaccio EW inibisce significativamente la crescita di batteri aerobici e batteri psicrofili nel pesce, e in confronto a quello prodotto con l'acqua di rubinetto, il ghiaccio EW è in grado di prolungare la shelf life del pesce salato di 4-5 giorni.

Zhang et al. [67] hanno dimostrato che il ghiaccio di acqua elettrolizzata acida (AEW) inibisce in modo significativo la crescita di batteri alterativi, come i generi *Psychrobacter*, *Shewanella* e *Flavobacterium*, durante la conservazione dei gamberi.

Inoltre, Wang et al. [59] hanno evidenziato che il ghiaccio AEW risulta più efficace nell'inibire la formazione di TVBN, ridurre l'attività della polifenolossidasi (PPO) e inattivare i batteri mesofili totali presenti sui gamberi crudi rispetto al ghiaccio prodotto con acqua di rubinetto, soprattutto in condizioni di oscurità. Tuttavia, ulteriori ricerche sono necessarie per fornire spiegazioni più approfondite sul meccanismo d'azione antimicrobica del ghiaccio AEW.

In uno studio è stata investigata l'efficacia del ghiaccio prodotto con due diversi sanificanti per la conservazione del pesce e dei prodotti ittici. Il ghiaccio è stato ottenuto mediante l'elettrolisi di una soluzione di cloruro di sodio NEW e tramite un sanificante a base di acido organico o contenente acido citrico e sodio dodecilbenzensolfonato. I risultati hanno mostrato una riduzione significativa dei microrganismi patogeni nei campioni di pesce conservati nel ghiaccio NEW rispetto al ghiaccio prodotto con il sanificante a base di acido organico e il ghiaccio prodotto con acqua di rubinetto. In particolare, si è osservata una significativa riduzione di *E. coli* e *P. putida* sui filetti di pesce conservati nel ghiaccio NEW.

L'effetto batteriostatico dei sanificanti organici è influenzato dalla temperatura e risulta più efficace a temperature più elevate, comprese tra 35-40 °C, poiché a tali temperature la membrana batterica, composta da fosfolipidi, risulta più fluida e quindi più facilmente degradabile [61].

2.3 Ghiaccio da acqua attivata al plasma (PAW)

2.3.1 Panoramica sulla tecnologia del plasma

La tecnologia del plasma è stata riconosciuta come una promettente alternativa ai metodi convenzionali di sanificazione [69]. Originariamente utilizzata per sterilizzare materiali sensibili, si è estesa a una delle nuove tecnologie eco-friendly impiegate in diverse industrie, soprattutto nell'industria alimentare.

A differenza dei solidi, dei liquidi e dei gas, il plasma rappresenta il quarto stato della materia ed è composto da ioni, elettroni e particelle neutre [70]. Il plasma può essere suddiviso in plasma termico (equilibrio) e plasma non termico o plasma freddo (non equilibrio), a

seconda del tipo di energia fornita e della quantità di energia trasferita al plasma [72,73]. Quando riscaldato ad alte temperature o per altre ragioni, gli elettroni esterni si liberano dal legame con il nucleo e diventano elettroni liberi, un fenomeno chiamato ionizzazione [71]. Quando entra in contatto con l'acqua, il plasma gassoso induce ulteriori reazioni all'interfaccia gas-liquido, dando luogo alla formazione di specie a breve durata (come OH) e specie stabili a lunga durata (come H₂O₂, NO₂⁻, NO₃⁻) nel liquido, nota come PAW (acqua attivata al plasma) [68].

2.3.2 Effetto antibatterico del ghiaccio da acqua attivata al plasma (PAW)

Negli ultimi anni, sono stati condotti diversi studi sulla possibilità di utilizzare l'acqua attivata al plasma (PAW) per la decontaminazione degli alimenti [74,75]. Si è dimostrato che le specie reattive possono essere conservate in modo più efficace trasformando l'acqua al plasma in forma di ghiaccio [7]. Il ghiaccio ottenuto dall'acqua attivata al plasma è stato impiegato con successo per conservare i gamberi freschi e prolungarne la durata di conservazione [7,76] (Tabella 3).

In questo studio, il ghiaccio PAW è stato in grado di prolungare la shelf-life dei gamberi di 4-8 giorni [76]. Secondo i dati riportati, la conta batterica totale (CBT) sui gamberi conservati nel ghiaccio PAW è aumentata lentamente da 3,9 log UFC/g a 4,4 log UFC/g nei primi 6 giorni e ha raggiunto 6,5 log UFC/g il nono giorno, mentre la CBT sui campioni di gamberi conservati nel ghiaccio di acqua di rubinetto è aumentata significativamente da 3,9 log UFC/g a 8,6 log UFC/g durante i 9 giorni di conservazione [76]. Inoltre, durante la conservazione dei gamberi nel ghiaccio PAW, la produzione di azoto basico volatile totale (TVBN) è diminuita al di sotto di 20 mg/100 g, un valore significativamente inferiore rispetto ai campioni conservati nel ghiaccio di acqua di rubinetto (TW) (P < 0,05).

In Grecia, è attualmente in corso un progetto di ricerca chiamato 'NOVISH' (<http://novish.itap.com.gr/>) che ha dimostrato l'efficacia dell'utilizzo del ghiaccio PAW per prolungare la shelf-life dei pesci dentice e dei filetti di dentice durante il trasporto e la conservazione.

Finora, le ricerche sull'applicazione del ghiaccio PAW nell'industria alimentare sono state limitate [77,79]. Inoltre, è emersa una carenza di studi sul cambiamento nel tempo delle sostanze antimicrobiche negli alimenti trattati con il ghiaccio PAW. Il controllo accurato degli agenti reattivi presenti nel ghiaccio PAW riveste grande importanza, ed è quindi necessario migliorare le attrezzature e valutare ulteriormente la sicurezza dell'utilizzo del ghiaccio PAW.

2.4 Aggiunta di composti antimicrobici nel ghiaccio

Anche l'aggiunta di composti antimicrobici (ad esempio, oli essenziali, acidi organici) nel ghiaccio è una strategia comune per migliorare la sicurezza microbiologica del ghiaccio.

2.4.1 *Aggiunta di oli essenziali*

Gli oli essenziali sono sostanze naturali solubili nei grassi, caratterizzate da fragranze volatili e intense, e trovano ampio impiego nell'industria alimentare, farmaceutica, cosmetica, delle spezie, dei pesticidi e altre ancora. Gli oli essenziali di origine vegetale sono noti per le loro proprietà conservanti e per la loro significativa attività antimicrobica, che riveste un'importanza fondamentale nel contrastare il crescente numero di batteri resistenti ai farmaci e infezioni fungine collegate ai prodotti alimentari [80,81].

Gli ingredienti attivi antibatterici presenti negli oli essenziali vegetali includono terpenoidi, composti aromatici, composti alifatici, composti azotati e solforati, e altri ancora, che esercitano un buon effetto inibitorio su batteri, lieviti e muffe. In generale, i meccanismi battericidi/batteriostatici degli oli essenziali vegetali possono essere suddivisi nei seguenti punti: (1) compromissione della funzionalità della parete cellulare e della membrana; (2) destabilizzazione dello strato lipidico; (3) inibizione della sintesi delle proteine e del DNA; (4) interferenza con il metabolismo energetico e (5) ossidazione cellulare.

Alcuni studi [80-83] hanno riportato l'aggiunta di oli essenziali nel ghiaccio al fine di migliorare l'effetto antibatterico sui prodotti alimentari (Tabella 3). L'utilizzo di ghiaccio contenente estratti vegetali può ridurre significativamente il conteggio di mesofili aerobi e batteri psicrotrofi ($P < 0,05$) nel muscolo di acciuga con pelle, rispetto al tradizionale sistema di congelamento [83]. Rispetto alla conservazione tradizionale con ghiaccio, la trota arcobaleno conservata nel ghiaccio con l'aggiunta di oli essenziali ha mostrato una shelf-life che può arrivare fino a 16 giorni, rispetto ai 12 giorni della conservazione con ghiaccio tradizionale [84].

In modo simile, Özyurt et al. [85] hanno riportato che il ghiaccio contenente estratto di rosmarino ha prolungato la shelf-life delle sardine (*Sardinella aurita*) di 3 giorni rispetto al campione di controllo, e ha determinato una diminuzione della quantità di ammine biogene, in particolare istamina e putrescina.

2.4.2 *Aggiunta di altri composti antimicrobici*

In alcuni studi, oltre agli oli essenziali, sono stati proposti anche altri composti antimicrobici da aggiungere al ghiaccio. In uno studio precedente [56], il ghiaccio è stato

ottenuto da una miscela di tripolifosfato di sodio (STPP) e lattato di sodio-diacetato di sodio (SL-SD) in diverse proporzioni, e questo è stato impiegato per eliminare i microrganismi patogeni dalla carne di pollo cruda. I risultati hanno mostrato che il contenuto di *Salmonella* Typhimurium nella carne di pollo trattata con il ghiaccio contenente il 5% di STPP e il 2,5% di SL-SD era significativamente inferiore rispetto al gruppo di controllo ($P < 0,05$) dopo 48 ore di conservazione.

Inoltre, la carne di pollo trattata con ghiaccio funzionalizzato presentava vantaggi in termini di rendimento, riduzione della perdita di peso durante la cottura e una shelf-life prolungata di 1-2 giorni, senza alcuna variazione di colore. È stato riportato che il ghiaccio contenente acido peracetico inibisce la crescita di microrganismi alterativi e patogeni ed è stato utilizzato per la conservazione di prodotti commerciali a base di pollame [56]. Tuttavia, l'utilizzo di acido peracetico potrebbe compromettere la qualità del cibo [86].

2.5 L'irradiazione di ghiaccio con diodi emettitori di luce UVC (UVC-LED)

2.5.1 Panoramica sulla tecnologia UVC-LED

L'ultravioletto (UV) è stato ampiamente utilizzato come tecnologia di decontaminazione efficace nell'industria alimentare [87]. Già negli anni '60 sono stati condotti studi sulla sterilizzazione del ghiaccio mediante l'irradiazione UV [88]. I risultati hanno dimostrato che l'irradiazione UV penetrava nel ghiaccio con una profondità di almeno 19 cm e uccideva i batteri presenti. Tuttavia, la penetrazione degli UV dipendeva principalmente dalla qualità ottica del ghiaccio. L'efficacia dell'irradiazione UV era correlata all'intensità, al tempo di esposizione, alla posizione delle lampade e ai modelli di movimento dell'aria [40].

Secondo Dai et al. [89], la radiazione UVC nell'intervallo di 200-280 nm può causare la formazione di dimeri nell'acido nucleico, portando alla morte delle cellule microbiche.

2.5.2 Meccanismi di irradiazione degli UVC-LED sul ghiaccio

La principale fonte di radiazione UV è la lampada al mercurio, che ha una breve durata e contiene metalli pesanti dannosi. I diodi emettitori di luce UVC (UVC-LED) sono emersi come alternativa grazie ai vantaggi legati al basso consumo energetico, lunga durata e assenza di mercurio [90,91].

Negli ultimi anni, gli UVC-LED sono stati utilizzati per inattivare patogeni batterici presenti nel ghiaccio [7] e i risultati hanno indicato che l'inattivazione di *E. coli* nel ghiaccio richiede una dose UV più elevata (160 mJ/cm^2) rispetto all'acqua distillata ($1-4 \text{ mJ/cm}^2$). Inoltre, è stato dimostrato che *E. coli* O157: H7, *S. Typhimurium* e *L. monocytogenes*, con

livelli di 10^6 e 10^7 UFC/mL nel ghiaccio, possono essere efficacemente rimossi tramite irradiazione con gli UVC-LED [40].

Tuttavia, l'effetto di decontaminazione dell'irradiazione UVC/UVC-LED sul ghiaccio è influenzato da diversi fattori. L'opacità causata dalle bolle d'aria nel ghiaccio può comportare una inattivazione incompleta dei batteri patogeni tramite gli UVC-LED [7]. Inoltre, Fan e Geveke [92] hanno dimostrato che le sostanze organiche disciolte e i soluti possono causare un effetto di attenuazione dell'irradiazione UV, aspetto che deve essere preso in considerazione quando viene applicata agli alimenti.

Capitolo 3

EFFETTO DEL GHIACCIO FUNZIONALIZZATO SULLA QUALITÀ DEGLI ALIMENTI

Il ghiaccio funzionalizzato offre potenzialità interessanti per garantire la sicurezza microbiologica dei prodotti alimentari freschi. Tuttavia, alcuni studi hanno evidenziato compromessi sulla qualità del cibo derivanti dall'uso di questo tipo di ghiaccio.

Ad esempio, uno studio condotto da Kataria et al. [56] ha valutato gli effetti dei cambiamenti indotti da STPP e SL-SD sui parametri di qualità come colore, perdita di peso durante la cottura e consistenza della carne. Si è osservato che la perdita di peso durante la cottura della carne fresca era del 29,15%, ma aumentava dopo 48 ore di conservazione con ghiaccio SL-SD al 2,5% o con ghiaccio ottenuto da acqua potabile normale. Tuttavia, questo valore è diminuito nel caso del ghiaccio trattato con STPP al 5% (26,53%), suggerendo un impatto positivo sulla qualità della carne di pollame cruda durante la conservazione. Inoltre, il trattamento con ghiaccio funzionalizzato STPP al 5% prolungava la durata di conservazione della carne fresca (coscia) di 1-2 giorni. Pertanto, questi risultati dimostrano che il suo uso può avere un effetto positivo sulla qualità della carne e sulla sua durata di conservazione.

In un altro studio [50], è stato applicato un sistema combinato di ghiaccio all'ozono e ghiaccio *slurry* per la conservazione dei pesci. I ricercatori hanno condotto una valutazione sensoriale in cui un gruppo di panelisti ha valutato l'aspetto, il gusto, l'odore e la consistenza dei campioni. I risultati hanno mostrato che non c'erano differenze significative nell'interazione tra l'ozono e il ghiaccio *slurry* e che la combinazione di questi era in grado di mantenere la freschezza e migliorare la qualità del prodotto [50]. Ad esempio, il rombo allevato (*Psetta maxima*) conservato con ghiaccio binario ozonizzato ha mantenuto un livello sensoriale accettabile fino a 28 giorni di conservazione.

Bensid et al. [82] hanno dimostrato che l'utilizzo di ghiaccio contenente estratti di timo, origano o chiodi di garofano può migliorare la qualità sensoriale e prolungare la durata di conservazione delle acciughe eviscerate e decapitate. L'analisi sensoriale ha coinvolto nove parametri di qualità, fra i quali l'aspetto della superficie e della pelle, la consistenza, l'odore e il colore della carne. I risultati [82] hanno indicato che i campioni trattati con estratti di timo,

origano o chiodi di garofano sono stati ampiamente preferiti dai panelisti per il loro sapore desiderabile.

Xuan et al. [93] hanno esplorato l'effetto del ghiaccio SAEW sul calamaro crudo e hanno constatato che il deterioramento del calamaro durante la conservazione poteva essere controllato e che la conservazione dei calamari poteva essere influenzata dal loro posizionamento negli strati di ghiaccio. La qualità sensoriale dei calamari trattati con ghiaccio acido elettrolizzato è stata valutata in termini di odore, colore ed elasticità utilizzando un'analisi descrittiva su una scala da 1 a 10, con un diverso peso percentuale per determinare la qualità sensoriale. I calamari trattati con ghiaccio SAEW hanno mantenuto una qualità sensoriale relativamente migliore per i primi 5 giorni, mentre i campioni posizionati sul ghiaccio SAEW o ghiaccio normale hanno ottenuto punteggi significativamente più bassi rispetto a quelli posizionati negli strati di ghiaccio ($P < 0,05$).

Inoltre, diversi studi hanno esaminato l'effetto di tecniche come l'utilizzo di ghiaccio all'ozono, radiazione UVC o ghiaccio secco sulla qualità degli alimenti.

Per quanto riguarda l'effetto del ghiaccio PAW sulla qualità degli alimenti, nel lavoro di Liao et al. [76] sono stati determinati i cambiamenti di consistenza, di colore e delle proteine nei gamberi durante la conservazione con ghiaccio PAW. I risultati delle osservazioni hanno dimostrato che questo è in grado di prevenire efficacemente il processo di melanosi nei gamberi senza causare cambiamenti avversi nelle proteine.

Jemni et al. [95] hanno studiato l'effetto degli effetti singoli e combinati di radiazione UVC, ozono e EW sulla qualità complessiva del dattero. I risultati hanno mostrato che dopo 30 giorni di conservazione, il colore è stato il parametro più influenzato, principalmente a causa dell'imbrunimento. Tuttavia, quando la radiazione UVC è stata combinata con ozono o EW, il colore del dattero è risultato migliore, specialmente rispetto ai campioni non trattati. Inoltre, è stata osservata una diminuzione della durezza, del gusto, dell'odore, dell'aspetto visivo e del punteggio di qualità complessiva durante la conservazione, ma non sono state riscontrate differenze significative tra i due trattamenti. Tuttavia, ci sono anche eccezioni al cambiamento della qualità degli alimenti dopo essere stati trattati con queste nuove tecniche. Anche se il ghiaccio secco ha molti vantaggi come menzionato, è stato riscontrato un effetto minimo sul miglioramento della qualità della carne.

In generale, mentre alcune tecniche per la realizzazione del ghiaccio funzionalizzato possono influenzare negativamente la qualità degli alimenti, altre tecniche come l'uso di estratti naturali o la combinazione di ghiaccio con altre tecnologie possono migliorare la qualità sensoriale e prolungare la shelf life dei prodotti alimentari. È importante valutare

attentamente gli effetti delle diverse tecniche usate per la produzione di ghiaccio funzionalizzato sulla qualità degli alimenti in modo specifico e considerare le potenziali implicazioni sulla sicurezza e sulle preferenze dei consumatori.

Tabella 3: Applicazioni del ghiaccio funzionalizzato nella conservazione degli alimenti

Alimenti	Ghiacci funzionalizzati	Parametri	Microrganismi	Cambiamenti microbiologici	Risultati qualitativi	Fonte
Non disponibile	Ghiaccio trattato con ozono	Ozono gassoso intrappolato a 0,45 L/min	Non disponibile	Non disponibile	Migliore effetto di sterilizzazione e deodorizzazione.	[51]
Rombo allevato (<i>Psetta maxima</i>)	Ghiaccio trattato con ozono	Concentrazione di ozono a un potenziale di ossidoriduzione di 700 mV, il ghiaccio binario è stato preparato con un rapporto del 40% di ghiaccio e 60% di acqua e una salinità del 3,3%.	Aerobi totali e batteri psicotrofi	Riduzione di 0,21, 1,79 e 1,79 (lg (UFC/cm ²)) dopo 14, 21 e 28 giorni di conservazione	Prolungamento della shelf-life di 7 giorni.	[49]
Sardine (<i>Sardina pilchardus</i>)	Ghiaccio binario e in scaglie trattato con ozono	Potenziale di ossidoriduzione di 660 mV (0,17 mg/L), il ghiaccio è stato preparato con un rapporto del 40% di ghiaccio e 60% di acqua e una salinità del 3,3%.	Mesofili aerobi, batteri psicotrofi, anaerobi, coliformi, microrganismi lipolitici e proteolitici	3,16 (lg (UFC/g)) per i mesofili e 2,17 UFC/g per i microrganismi lipolitici.	Migliori punteggi sensoriali, conservazione più lunga di 4 (ghiaccio in sospensione) e 11 (ghiaccio in scaglie).	[48]
Ombrina (<i>Collichthys niveatus</i>)	Ghiaccio binario trattato con ozono	Concentrazione di ozono di 0,2 mg/L, il ghiaccio binario è stato preparato con un rapporto del 40% di ghiaccio e 60% di acqua	Conteggio microbico totale (TVC)	Inferiore di 1,38 (lg (UFC/g)) rispetto al ghiaccio in scaglie.	Migliore prestazione sensoriale per consistenza ed aspetto.	[96]

Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) e sgombro a corpo corto (<i>Scomberomorus rastrelliger</i>)	Ghiaccio binario trattato con ozono	Concentrazione di ozono di 0 e $3,5 \times 10^{-6}$	Conteggio microbico totale (TVC)	Ridotto di 0,792 e 1,119 (lg (UFC/g)) rispettivamente per lo sgombro a corpo corto e la tilapia dopo 16 giorni di conservazione.	Migliore prestazione sensoriale per consistenza e odore.	[50]
Pesce intero e filetto	Ghiaccio neutro EW, PRO-SAN (una formulazione di acido organico)	NEW contenente $150 \times$ 10^{-6} di cloro e un pH di $6,8 \pm 0,2$	<i>E. coli</i> K12, <i>L.</i> <i>innocua</i> e <i>Pseudomonas</i> <i>putida</i>	Riduzione di 2 (lg UFC) per il pesce intero e > 3 (lg UFC) per il filetto.	Non disponibile	[63]
Pesce	Ghiaccio leggermente AEW	Cloro disponibile $45 \times$ 10^{-6} , pH 5.07	Conteggio totale delle colonie batteriche, <i>Pseudomonas</i> spp. e batteri produttori di H ₂ S	Conteggio totale delle colonie inferiore, ma non significativo	Conservazione più lunga di 2 giorni rispetto al ghiaccio tradizionale (TW).	[65]
Tonno	Ghiaccio EW	100×10^{-6} di cloro	Batteri produttori di istamina	<i>E. aerogenes</i> e <i>M. morgani</i> sulla pelle del tonno ridotti rispettivamente di 2.4 e 3.5 (lg (UFC/cm ²)).	Non disponibile	[64]
Gambero (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	Ghiaccio AEW	26×10^{-6} di cloro e un pH di 2.46 ± 0.14	Conteggio totale dei batteri	Il conteggio totale dei batteri è diminuito di 1.5 (lg (UFC/g)) dopo 24 ore di conservazione.	Non disponibile	[59]
Gambero	Ghiaccio SAEW e AEW	pH 5.92; potenziale di ossidoriduzione (ORP) di 810 mV; contenuto di cloro disponibile (ACC) di 20 mg/L	Conteggio totale dei batteri aerobi e conto dei batteri psicrofili	Ridotto di 1.29 (lg (UFC/g)) con trattamento AEW, 1.36 (lg (UFC/g)) con trattamento SAEW e 1.47 (lg (UFC/g)) con trattamento SAEW e acido ascorbico rispettivamente dopo 6 giorni di trattamento	AEW insieme all'acido ascorbico può prolungare la durata di conservazione di 3 giorni.	[97]

Calamari	Ghiaccio SAEW	Contenuto di cloro disponibile (ACC) di (25 ± 5) mg/L; pH di (6.48 ± 0.02); Potenziale di ossido-riduzione (ORP) di (882 ± 2) mV	Conta batterica totale	Ridotta di (1.46 ± 0.10) (lg (UFC/g))	Ritardo nell'insorgenza dell'ammorbidimento e dell'imbrunimento	[93]
Gambero (<i>Litopenaeus vannamei</i>)	Ghiaccio AEW	ACC (26 ± 6) mg/L; pH (2.46 ± 0.12); ORP (1124 ± 3) mV	Conta batterica totale (TVC)	Ridotta di 0.34 (lg (UFC/g)) Rispetto al trattamento con ghiaccio TW nel primo giorno di trattamento, ma senza significatività statistica.	Migliori punteggi sensoriali.	[98]
Sardina del Pacifico (<i>Cololabissaira</i>)	Ghiaccio EW	ACC 47 mg/L; pH 5; ORP 866 mV	Batteri aerobici e psicrotrofi	Ridotti di 1.0-1.5 (lg (UFC/g)) rispetto al ghiaccio TW	Conservazione più lunga di 4-5 giorni rispetto al ghiaccio TW.	[99]
Scampi (<i>Metapenaeus ensis</i>)	ghiaccio PAW freddo	Potenziale di ossido-riduzione (ORP) di (485 ± 2) mV, pH di (3.04 ± 0.14) e conducibilità elettrica di (427.0 ± 3.0) µs/cm	Conta batterica totale (TVC)	Hanno mostrato un aumento di 0.5 e 2.6 (lg (CFU/g)) nel conteggio totale dei batteri dopo 6 e 10 giorni di conservazione	La conservazione è stata prolungata di 4-8 giorni.	[76]
Orata intera	Il ghiaccio contiene oli essenziali (EOs) nano-incapsulati in β-ciclodestrine (β-CD)	1 g di miscela di olio essenziale di carvacrol, bergamotto e pompelmo e 7,6 g di β-ciclodestrine	Enterobacteriaceae, <i>Pseudomonas</i> , conteggi iniziali di batteri aerobi mesofili (MAB)	Livello di riduzione dei conteggi di Enterobacteriaceae, <i>Pseudomonas</i> e MAB: 0,6, 1, 0,7 (lg (UFC/g)) dopo 17 giorni di conservazione	Prolunga la durata di conservazione fino a 4 giorni.	[83]

Acciuga (<i>Engraulis encrasicolus</i>)	Ghiaccio contenente oli essenziali	Estratti di timo (0,04%), origano (0,03%) e chiodi di garofano (0,02%)	Conta di batteri mesofili e psicofili	I batteri mesofili conservati nel ghiaccio tradizionale e nel ghiaccio preparato con estratto di origano hanno superato i 7 (lg (UFC/g)) il giorno 6 di conservazione. L'acciuga conservata nel ghiaccio preparato con timo e chiodi di garofano ha raggiunto i 7 (lg (UFC/g)) dopo 9 giorni di conservazione.	La conservazione è più lunga di 3 giorni rispetto alla conservazione nel ghiaccio tradizionale.	[82]
Non disponibile	Trattamento con diodo emettitore di luce UVC (UVC-LED)	Modulo UVC-LED con lunghezza d'onda di 270-280 nm, la corrente elettrica e la tensione erano di 120 mA e 9-10 V	<i>E. coli</i> non patogeni, <i>E. coli</i> O157:H7, <i>Salmonella enterica</i> Typhimurium, <i>L. monocytogenes</i>	L' <i>E. coli</i> è diminuito di 4,45 UFC/mL a 15,2 mJ/cm ² , il conteggio dei microrganismi vitali è diminuito da 6 (lg (UFC/mL)) - 7 (lg (UFC/mL)) a 160 mJ/cm ²	Non disponibile	[40]
Carne cruda di coscia di pollo	Congelamento di soluzioni acquose di tripolifosfato di sodio (STPP), lattato di sodio-diacetato di sodio (SL-SD)	STPP (2,5% e 5%) e SL-SD (1% e 2,5%, V/V)	Conteggi di piastre aerobiche (APC), <i>Salmonella</i> Typhimurium	I trattamenti con STPP al 5% e SL-SD al 2,5% singolarmente portano a una significativa riduzione batterica	Miglioramento del colore, riduzione della perdita di cottura e prolungamento della durata di conservazione di 1-2 giorni.	[56]

* Non disponibile nelle fonti consultate

Capitolo 4

LIMITAZIONI E TENDENZE FUTURE SUL GHIACCIO FUNZIONALIZZATO

Con l'aumento delle sfide legate alla sicurezza alimentare e all'igiene, il ghiaccio funzionalizzato assume un'importanza potenziale nell'industria alimentare in quanto può essere facilmente ottenuto e utilizzato su larga scala.

Tuttavia, la ricerca e l'applicazione del ghiaccio funzionalizzato nell'industria alimentare sono ancora agli inizi e richiedono uno sviluppo rapido in termini di estensione delle ricerche. Ad esempio, la produzione di ghiaccio con acqua elettrolizzata (*EW ice*) e ghiaccio con acqua attivata al plasma (*PAW ice*) è solo allo stadio iniziale e la produzione su larga scala non è ancora stata realizzata. Pertanto, la ricerca futura dovrebbe concentrarsi su questo aspetto al fine di raggiungere un metodo di produzione simile al tradizionale ghiaccio a triplice essiccazione, il che sarebbe di grande importanza per la produzione e l'applicazione del ghiaccio funzionalizzato. Allo stesso tempo, è necessario sviluppare ulteriori tipi di ghiaccio funzionalizzato con un grande potenziale per future applicazioni.

Inoltre, la maggior parte delle ricerche sul ghiaccio funzionalizzato è limitata attualmente a alcuni prodotti ittici e agricoli; quindi, è necessario espandere e potenziare il campo di ricerca ad altri tipi di alimenti, il che favorirà la successiva promozione del ghiaccio funzionalizzato nell'applicazione pratica. L'uso del ghiaccio funzionalizzato può essere esteso alla conservazione e al trasporto di alimenti deperibili, che richiedono una grande quantità di ghiaccio, sfruttando le sue caratteristiche come mezzo di raffreddamento e agente antibatterico. In futuro, dovrebbe essere considerato anche il metodo di conservazione del ghiaccio funzionalizzato, poiché è di grande importanza per la sua applicazione pratica. Ad esempio, il ghiaccio con acqua elettrolizzata non è facile da conservare in quanto la disponibilità delle molecole ad effetto antibatterico ivi contenute è influenzata dal tempo, dalla luce, dall'aria e dal contatto con altri materiali. Pertanto, è necessario approfondire lo studio dei metodi di conservazione del ghiaccio funzionalizzato al fine di garantirne la massima efficacia e sicurezza alimentare.

Nonostante le normative applicabili, l'acqua funzionalizzata viene spesso utilizzata in concentrazioni molto elevate prima della refrigerazione del ghiaccio. In realtà, in presenza di

sostanze organiche, soprattutto in caso di alta concentrazione di componenti microbiologicamente attivi, l'effetto antibatterico del ghiaccio funzionalizzato può risultare ridotto.

Pertanto, sebbene la combinazione di ghiaccio funzionalizzato e tecnologia degli ostacoli possa massimizzare l'effetto di sanificazione e conservazione del ghiaccio funzionalizzato, è necessario incoraggiare l'adozione di linee guida regolamentate durante il suo utilizzo. Inoltre, è necessario condurre una serie di valutazioni quantitative dei rischi microbiologici al fine di colmare le lacune e fornire dati di supporto per lo studio del ghiaccio associato agli alimenti, al fine di garantire la sicurezza alimentare.

CONCLUSIONI

Il ghiaccio sta assumendo un ruolo sempre più importante nell'industria alimentare, soprattutto nella catena del freddo, per la conservazione degli alimenti freschi. Tuttavia, la presenza di contaminanti microbiologici nel ghiaccio associato agli alimenti rappresenta un potenziale rischio per la sicurezza alimentare e la salute pubblica. Pertanto, è fondamentale condurre approfondite indagini sulla sicurezza del ghiaccio utilizzato nel settore alimentare. Nel presente elaborato sono stati trattati i temi che riguardano lo stato igienico del ghiaccio associato agli alimenti e i principali microrganismi presenti in esso. Sono state anche presentate in dettaglio alcune metodologie emergenti per migliorare l'effetto conservante del ghiaccio, come la decontaminazione diretta del ghiaccio (ad esempio, mediante plasma freddo o raggi UVC) o l'aggiunta di composti microbiocidi (ad esempio, oli essenziali) al ghiaccio stesso. Tuttavia, alcuni studi hanno evidenziato un potenziale impatto sulla qualità degli alimenti causato dall'uso di ghiaccio funzionalizzato, il che potrebbe limitarne lo sviluppo. Inoltre, manca ancora una ricerca sulla valutazione del rischio microbiologico del ghiaccio utilizzato nell'industria alimentare, in particolare per quanto riguarda la contaminazione crociata tra il ghiaccio e gli alimenti. Pertanto, è necessario concentrarsi su valutazioni sistematiche relative alla sicurezza del ghiaccio, sia da un punto di vista microbiologico che qualitativo.

BIBLIOGRAFIA

1. Ning Wang, Yeru Wang, Li Bai, Xinyu Liao, Donghong Liu, Tian Ding, Advances in strategies to assure the microbial safety of food-associated ice, *Journal of Future Foods*, Volume 3, Issue 2, 2023, Pages 115-126, ISSN 2772-5669, <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.12.003>.
2. WHO, Food safety, <https://www.who.int/NEWS-ROOM/FACT-SHEETS/DETAIL/FOOD-SAFETY> Accessed 21 Aug 2022.
3. A. Lateef, J.K. Oloke, E.B.G. Kana, et al., The microbiological quality of ice used to cool drinks and foods in ogbomoso metropolis, Southwest, Nigeria, *J. Food Saf.* 8 (2006) 39-43.
4. N.J. NoorIzani, A.R. Zulaikha, M.R. Mohamad Noor, et al., Contamination of faecal coliforms in ice cubes sampled from food outlets in Kubang Kerian, Kelantan, *Trop. Biomed.* 29 (2012) 71-76.
5. G. Caggiano, V. Marcotrigiano, P. Trerotoli, et al., Food hygiene surveillance in Italy: is food ice a public health risk, *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17 (2020) 1-10. <https://doi.org/10.3390/ijerph17072408>.
6. S.J. James, C. James, Chilling and freezing of foods, *Food Processing: Principles and Applications* 2 (2014) 79-105.
7. G. Katsaros, S. Koseki, T. Ding, et al., Application of innovative technologies to produce activated safe ice, *Curr. Opin. Food Sci* 40 (2021) 198-203. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.04.014>.
8. D. Mokrani, M. Oumouna, A. Cuesta, Fish farming conditions affect to European sea bass (*Dicentrarchus labrax L.*) quality and shelf life during storage in ice, *Aquaculture* 490 (2018) 120-124. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.02.032>.
9. FDA, FDA regulates the safety of packaged ice, <https://www.fda.gov/food/buy-store-serve-safe-food/fda-regulates-safety-packaged-ice> Accessed 23 May 2022.
10. EUR-Lex, The hygiene of foodstuffs, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/uri=CELEX:32004R0852&qid=1627456348894&from=EN> Accessed 23 May 2022.

11. EUR-Lex, Specific hygiene rules for on the hygiene of foodstuffs
<https://eurlex.europa.eu/legalcontent/EN/TXT/PDF/uri=CELEX:32004R0853&qid=1627456348894&from=EN> Accessed 23 May 2022.
12. Ministry of Commerce, PRC, SB/T 10017-2008, Frozen drinks and edible ice,
<http://down.foodmate.net/standard/sort/6/18015.html> Accessed 23 May 2022.
13. National Health Commission of the PRC, GB 5749-2006, Sanitary standards for drinking water, <http://down.foodmate.net/standard/sort/3/10968.html>. Accessed 23 May 2022.
14. FN, All non-edible ice to be in blue colour, https://www.fssai.gov.in/upload/media/5b44860900057FSSAI_News_Ice_Pioneer_07_05_2018.pdf. Accessed 23 May 2022.
15. WTO, G/TBT/N/UGA/693 notification, https://docs.wto.org/dol2fe/Pages/FE_Search/FE_S_S009-DP.aspx?Language=E&CatalogueIdList=227504,236994,237086,237037,237116,237059,237113,237114,231461,232974&CurrentCatalogueIdIndex=7&FullTextHash=371857150, accessed on 2022/08/11.
16. IPIA, Packaged ice, <https://packagedice.com/>. Accessed 23 May 2022.
17. EPIA, Packaged ice quality control standards the PIQCS manual, <http://www.europeice.com/wp-content/uploads/2016/10/HACCP-Manual-English.pdf>. Accessed 23 May 2022.
18. IPIA, Edible ice, http://www.ghiaccioalimentare.it/wp-content/uploads/2015/05/ken394_t.pdf. Accessed 23 May 2022.
19. EICA, Code for edible ices, https://www.euroglaces.eu/sites/euroglaces/files/media/documents/code_for_edible_ices_version_2013.pdf. Accessed 23 May 2022.
20. R.O. Cannon, J. R. Poliner, R. B. Hirschhorn, et al., A multistate outbreak of Norwalk virus gastroenteritis associated with consumption of commercial ice, *J. Infect. Diseases* 164 (1991) 860-863. <https://doi.org/10.1093/infdis/164.5.860>.
21. A.D. Anderson, Multistate outbreak of norwalk-like virus gastroenteritis associated with a common caterer, *American J. Epidem.* 154 (2001) 1013- 1019. <https://doi.org/10.1093/aje/154.11.1013>.
22. D. Boccia, A.E. Tozzi, B.Cotter, et al., Waterborne outbreak of norwalk-like virus gastroenteritis at a tourist resort, Italy, *Emerging Infectious Diseases* 8 (2002) 563-568. <https://doi.org/10.3201/eid0806.010371>.
23. A.S. Khan, C.L. Moe, R.I. Glass, et al., Norwalk virus-associated gastroenteritis traced to ice consumption aboard a cruise ship in Hawaii: comparison and application of

- molecular method-based assays, *J. Clin. Microb.* 32 (1994) 318-322. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12200>.
24. M.E. Brett, L.B. Respicio-Kingry, S. Yendell, et al., Outbreak of *Francisella novicida* bacteremia among inmates at a Louisiana correctional facility, *Clin. Infect. Diseases* 59 (2014) 826-833. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu430>.
 25. V. Chavasit, K. Sirilaksanamanon, P. Phithaksantayothin, Measures for controlling safety of crushed ice and tube ice in developing country, *Food Control* 22 (2011) 118-123. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.05.016>.
 26. S.U. Parshionikar, S. Willian-True, G.S. Fout, et al., Waterborne outbreak of gastroenteritis associated with a norovirus, *Applied and Environmental Microbiology* 69 (2003) 5263-5268. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5263-5268.2003>.
 27. T.T. Tuyet Hanh, M.H. Hanh, Hygienic practices and structural conditions of the food processing premises were the main drivers of microbiological quality of edible ice products in Binh Phuoc Province, Vietnam 2019, *Environmental Health Insights* 14 (2020) 1177/1178630220929722. <https://doi.org/10.1177/1178630220929722>.
 28. V. Gerokomou, C. Voidarou, A. Vatopoulos, et al., Physical, chemical and microbiological quality of ice used to cool drinks and foods in Greece and its public health implications, *Anaerobe* 17 (2011) 351-353. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.06.005>.
 29. T. Nakayama, N.C. Ha, P.Q. Le, et al., Consumption of edible ice contaminated with *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, and *Stenotrophomonas* is a risk factor for fecal colonization with extended-spectrum β -lactamase producing *E. coli* in Vietnam, *J. Water Health* 15 (2017) 813-822. <https://doi.org/10.2166/wh.2017.054>.
 30. H. Jang, H. Lee, Monitoring of microorganism contamination of ice for foods in the store and hygienic management methods, *J. Food Hygien. Safety* 30 (2015) 309-314. <https://doi.org/10.13103/jfhs.2015.30.4.309>.
 31. H. Hampikyan, E.B. Bingol, O. Cetin, et al., Microbiological quality of ice and ice machines used in food establishments, *J. Water Health* 15 (2017) 410-417. <https://doi.org/10.2166/wh.2017.159>.
 32. D. Waturangi, N. Pradita, J. Linarta, et al., Prevalence and molecular characterization of *Vibrio cholerae* from ice and beverages sold in Jakarta, Indonesia, using most probable number and multiplex PCR, *J. Food Protect.* 75 (2012) 651-659. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-11-504>.

33. G. Nichols, I. Gillespie, J. de Louvois, The microbiological quality of ice used to cool drinks and ready-to-eat food from retail and catering premises in the United Kingdom, *J. Food Protect.* 63 (2000) 78-82. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-63.1.78>.
34. P. Teixeira, J. Brandão, S. Silva, et al., Microbiological and chemical quality of ice used to preserve fish in Lisbon marketplaces, *J. Food Safety* 39 (2019) 1-6. <https://doi.org/10.1111/jfs.12641>.
35. J.P. Falcão, A.M.G. Dias, E.F. Correa, et al., Microbiological quality of ice used to refrigerate foods, *Food Microb.* 19 (2002) 269-276. <https://doi.org/10.1006/fmic.2002.0490>.
36. V. Economou, P. Gousia, D. Kemenetzi, et al., Microbial quality and histamine producing microflora analysis of the ice used for fish preservation, *J. Food Safety* 37 (2016) e12285. <https://doi.org/10.1111/jfs.12285>.
37. K. Lee, L.S. Ab Samad, P.M. Lwin, et al., On the rocks: microbiological quality and microbial diversity of packaged ice in southern california, *J. Food Protect.* 80 (2017) 1041-1049. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp16-295>.
38. L. Settanni, R. Gaglio, C. Stucchi, et al., Presence of pathogenic bacteria in ice cubes and evaluation of their survival in different systems, *Annal. Microb.* 67 (2017) 827-835. <https://doi.org/10.1007/s13213-017-1311-1>.
39. M. Tsuno, M. Thungchai, D. Bhanthumkosol, et al., Bacteriological survey of water and ice for general uses in Thailand, *Food Microb.* 1 (1984) 123- 128. [https://doi.org/10.1016/0740-0020\(84\)90022-4](https://doi.org/10.1016/0740-0020(84)90022-4).
40. S. Murashita, S. Kawamura, S. Koseki, Inactivation of *nonpathogenic E. coli*, *E. coli O157:H7*, *Salmonella enterica* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* in ice using a uvc light-emitting diode, *J. Food Protect.* 80 (2017) 1198-1203. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-17-036>.
41. A. Sridhar, M. Ponnuchamy, P. Kumar, et al., Food preservation techniques and nanotechnology for increased shelf life of fruits, vegetables, beverages and spices: a review, *Environ. Chem. Letters* 19 (2020) 1715-1735. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-01126-2>.
42. K.M. Crowe, D. Skonberg, A. Bushway, et al., Application of ozone sprays as a strategy to improve the microbial safety and quality of salmon fillets, *Food Control* 25 (2012) 464-468. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.021>.
43. K. Yoshimura, T. Akiyama, Y. Hirofujii, et al., Development and performance evaluation of an ozone-contained ice making machine employing pressurized air tight

- containers, Transactions of the Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers 24 (2012) 35-42.
44. C. O'Donnell, B.K. Tiwari, P.J. Cullen, et al., Ozone in food processing, John Wiley & Sons, 2012.
 45. R.G. Rice, D.M. Graham, U.S. FDA regulatory approval of ozone as an antimicrobial agent-what is allowed and what needs to be understood, Ozone News 29 (2001) 22-31.
 46. H. Lago, J. Pena, S.P. Aubourg, Effect of slaughtering conditions on lipid damage of chilled farmed turbot (*Psetta maxima*) muscle, Grasas y Aceites 61 (2020) 312-320. <https://doi.org/10.3989/gya.123009>.
 47. C.O.R. Okpala, G. Bono, L. Cannizzaro, et al., Changes in lipid oxidation and related flesh qualities of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during iced storage: effects on the use of increasing ozone exposures, European Journal of Lipid Science and Technology 118 (2016) 1942-1951. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201500347>.
 48. C.A. Campos, Ó. Rodríguez, V. Losada, et al., Effects of storage in ozonised slurry ice on the sensory and microbial quality of sardine (*Sardina pilchardus*), Intern. J. Food Microb. 103 (2005) 121-130. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.11.039>.
 49. C.A. Campos, V. Losada, Ó. Rodríguez, et al., Evaluation of an ozoneslurry ice combined refrigeration system for the storage of farmed turbot (*Psetta maxima*), Food Chem. 97 (2006) 223-230. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.040>.
 50. T. W. Agustini, M. Nur, E. Kusdiyantini, Application of ozone-slurry ice combined system for maintaining the freshness of red tilapia and shortbodied mackerel during cold storage, Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia 20 (2017) 424-431. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18363>.
 51. K. Matsumoto, K. Sameshima, Y. Teraoka, et al., Formation of ozone ice by freezing water containing ozone micro-bubbles (investigation into the influence of surfactant on characteristics of ice containing oxygen microbubbles), Intern. J. Refrig. 36 (2013) 842-851. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2012.10.030>.
 52. K. Matsumoto, K. Furuya, S. Zhang, et al., Investigation on concentration characteristics of ozone micro-bubbles fixed in ice and ozone gas released from ice, Intern. J. Refrig. 53 (2015) 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2015.01.002>.

53. K. Matsumoto, S. Zhang, K. Sekine, et al., Investigation on influence of dimensions of ice containing ozone micro-bubbles on characteristics of ozone concentration, *Intern. J. Refriger.* 66 (2016) 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.ijrefrig.2016.02.017>.
54. G. Manousaridis, A. Nerantzaki, E.K. Paleologos, et al., Effect of ozone on microbial, chemical and sensory attributes of shucked mussels, *Food Microb.* 22 (2005) 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.06.003>.
55. P. Fratamico, V. Juneja, B.A. Annous, et al., Application of ozonated dry ice (ALIGAL™ Blue Ice) for packaging and transport in the food industry, *J. Food Sci.* 77 (2012) M285-M291. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02682.x>.
56. J. Kataria, L.J. Garner, E.A. Monu, et al.. Morey, Investigating the effects of functional ice (FICE) on Salmonella-food safety, microbial spoilage and quality of raw poultry thigh meat during refrigerated storage, *PLoS One* 15 (2020) e0234781. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234781>.
57. Y. Huang, Y. Hung, S. Hsu, et al., Application of electrolyzed water in the food industry, *Food Control* 19 (2008) 329-345. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2007.08.012>.
58. M. Katayose, K. Yoshida, N. Achiwa, et al., Safety of electrolyzed seawater for use in aquaculture, *Aquaculture* 264 (2007) 119-129. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.08.050>.
59. J. Wang, T. Lin, J. Li, et al., Effect of acidic electrolyzed water ice on quality of shrimp in dark condition, *Food Control* 35 (2013) 207-212. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.07.005>.
60. M. Wang, J. Wang, X. Sun, et al., Preliminary mechanism of acidic electrolyzed water ice on improving the quality and safety of shrimp, *Food Chemistry* 176 (2015) 333-341. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.089>.
61. W. Cao, Z.W. Zhu, Z.X. Shi, et al., Efficiency of slightly acidic electrolyzed water for inactivation of Salmonella enteritidis and its contaminated shell eggs, *Intern. J. Food Microb.* 130 (2009) 88-93. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.021>.
62. M.A. Deza, M. Araujo, M.J. Garrido, Erratum: efficacy of neutral electrolyzed water to inactivate *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* on plastic and wooden kitchen cutting boards, *J. Food Protect.* 70 (2007) 102. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-70.1.102>.

63. L. Feliciano, J. Lee, J.A. Lopes, et al., Efficacy of sanitized ice in reducing bacterial load on fish fillet and in the water collected from the melted ice, *J. Food Sci.* 75 (2010) 231-238. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01583.x>.
64. S. Phuvasate, Y. Su, Effects of electrolyzed oxidizing water and ice treatments on reducing histamine-producing bacteria on fish skin and food contact surface, *Food Control* 21 (2010) 286-291. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.06.007>.
65. S. Jung, B.S. Ko, H.J. Jang, et al., Effects of slightly acidic electrolyzed water ice and grapefruit seed extract ice on shelf life of brown sole (*Pleuronectes herzensteini*), *Food Sci. Biotech.* 27 (2018) 261-267. <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0198-8>.
66. S. Kim, D. Kim, D. Kang, Using UVC light-emitting diodes at wavelengths of 266 to 279 nanometers to inactivate foodborne pathogens and pasteurize sliced cheese, *Applied and Environmental Microbiology* 82 (2016) 11-17. <https://doi.org/10.1128/aem.02092-15>.
67. B. Zhang, L.K. Ma, S.G. Deng, et al., Shelf-life of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as affected by weakly acidic electrolyzed water iceglazing and modified atmosphere packaging, *Food Control* 51 (2015) 114-121. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.016>.
68. T. Royintarat, E. Choi, D. Boonyawan, et al., Chemical-free and synergistic interaction of ultrasound combined with plasma-activated water (PAW) to enhance microbial inactivation in chicken meat and skin, *Scientific Reports* 10 (2020) 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58199-w>.
69. R. Thirumdas, C. Sarangapani, U. Annapure, Cold plasma: a novel nonthermal technology for food processing, *Food Biophysics* 10 (2014) 1-11. <https://doi.org/10.1007/s11483-014-9382-z>.
70. R. Thirumdas, A. Kothakota, U. Annapure, et al., Plasma activated water (PAW): chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture, *Trends in Food Science & Technology* 77 (2018) 21-31. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.007>.
71. S. Sajib, M. Bilah, S. Mahmud, et al., Plasma activated water: the next generation eco-friendly stimulant for enhancing plant seed germination, vigor and increased enzyme activity, a study on black gram (*Vigna mungo L.*), *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 40 (2019) 119-143.

72. V. Scholtz, J. Pazlarova, H. Souskova, et al., Nonthermal plasma-a tool for decontamination and disinfection, *Biotechnology Advances* 33 (2015) 1108- 1119. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.01.002>.
73. A.I. Muhammad, X. Liao, P.J. Cullen, et al., Effects of nonthermal plasma technology on functional food components, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 17 (2018) 1379-1394. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12379>.
74. J. Guo, K. Huang, X. Wang, et al., Inactivation of yeast on grapes by plasmaactivated water and its effects on quality attributes, *J. Food Protect.* 80 (2017) 225-230. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-16-116>.
75. C. Sarangapani, D. Ryan Keogh, J. Dunne, et al., Characterisation of cold plasma treated beef and dairy lipids using spectroscopic and chromatographic methods, *Food Chem.* 235 (2017) 324-333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.016>.
76. X. Liao, Y. Su, D. Liu, et al., Application of atmospheric cold plasmaactivated water (PAW) ice for preservation of shrimps (*Metapenaeus ensis*), *Food Control* 94 (2018) 307-314. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.026>.
77. S. Herianto, C.Y. Hou, C.M. Lin, et al., Nonthermal plasma-activated water: a comprehensive review of this new tool for enhanced food safety and quality, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 20 (2021) 583-626. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12667>.
78. Y. Tian, R. Ma, Q. Zhang, et al., Assessment of the physicochemical properties and biological effects of water activated by non-thermal plasma above and beneath the water surface, *Plasma Processes and Polymers* 12 (2015) 439-449. <https://doi.org/10.1002/ppap.201400082>.
79. Q. Xiang, C. Kang, L. Niu, et al., Antibacterial activity and a membrane damage mechanism of plasma-activated water against *Pseudomonas deceptionensis* CM2, *LWT-Food Science and Technology* 96 (2018) 395- 401. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.05.059>.
80. S. Tavakoli, M. Naseri, E. Abedi, et al., Shelf-life enhancement of whole rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) treated with Reshgak ice coverage, *Food Sci. Nutrit.* 6 (2018) 953-961. <https://doi.org/10.1002/fsn3.636>.
81. A.E. López-Cánovas, I. Cabas, M. Ros-Chumillas, et al., Nanoencapsulated clove essential oil applied in low dose decreases stress in farmed gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) during slaughter by hypothermia in ice slurry, *Aquaculture* 504 (2019) 437-445. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.02.003>.

82. A. Bensid, Y. Ucar, B. Bendeddouche, et al., Effect of the icing with thyme, oregano and clove extracts on quality parameters of gutted and beheaded anchovy (*Engraulis encrasicolus*) during chilled storage, *Food Chem.* 145 (2014) 681-686. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.106>.
83. L. Navarro-Segura, M. Ros-Chumillas, A. López-Cánovas, et al., Nanoencapsulated essential oils embedded in ice improve the quality and shelf life of fresh whole seabream stored on ice, *Heliyon* 5 (2019) e01804. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01804>.
84. S. Pezeshk, M. Rezaei, H. Hosseini, et al., Impact of pH-shift processing combined with ultrasonication on structural and functional properties of proteins isolated from rainbow trout by-products, *Food Hydrocol.* 118 (2021) 106768. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02242.x>.
85. G. Özyurt, E. Kuley, E. Balikçi, et al., Effect of the icing with rosemary extract on the oxidative stability and biogenic amine formation in sardine (*Sardinella aurita*) during chilled storage, *Food Biopro. Techn.* 5 (2011) 2777-2786. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-011-0586-7>.
86. N. Pechacek, M. Osorio, J. Caudill, et al., Evaluation of the toxicity data for peracetic acid in deriving occupational exposure limits: a minireview, *Toxicology Letters* 233 (2015) 45-57. <https://doi:10.1016/j.toxlet.2014.12.014>.
87. M. Oliveira, B. Tiwari, G. Duffy, Emerging technologies for aerial decontamination of food storage environments to eliminate microbial crosscontamination, *Foods* 9 (2020) 1779. <https://doi.org/10.3390/foods9121779>.
88. R. Morgan, UV 'green' light disinfection, Dairy Industries International, United Kingdom, 1989.
89. T. Dai, M. Vrahas, C. Murray, et al., Ultraviolet C irradiation: an alternative antimicrobial approach to localized infections? *Expert Review of AntiInfective Therapy* 10 (2012) 185-195. <https://doi.org/10.1586/eri.11.166>.
90. L. Nyhan, M. Przyjalowski, L. Lewis, et al., Investigating the use of ultraviolet light emitting diodes (UV-LEDs) for the inactivation of bacteria in powdered food ingredients, *Foods* 10 (2021) 797. <https://doi.org/10.3390/foods10040797>.
91. S. McDermott, J. Walsh, R. Howard, A comparison of the emission characteristics of UV-LEDs and fluorescent lamps for polymerisation applications, *Optics & Laser Technology* 40 (2008) 487-493. <https://doi.org/10.1016/j.optlastec.2007.07.013>.

92. X. Fan, D. Geveke, Furan formation in sugar solution and apple cider upon ultraviolet treatment, *J. Agri. Food Chem.* 55 (2007) 7816-7821. <https://doi.org/10.1021/jf071366z>.
93. X.T. Xuan, Y.F. Fan, J.G. Ling, et al., Preservation of squid by slightly acidic electrolyzed water ice, *Food Control* 73 (2017) 1483-1489. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.11.013>.
94. P. Vaz-Pires, P. Seixas, M. Mota, et al., Sensory, microbiological, physical and chemical properties of cuttlefish (*Sepia officinalis*) and broadtail shortfin squid (*Illex coindetii*) stored in ice, *LWT-Food Science and Technology* 41 (2008) 1655-1664. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.10.003>.
95. M. Jemni, P. A. Gómez, M. Souza, et al., Combined effect of UV-C, ozone and electrolyzed water for keeping overall quality of date palm, *LWT Food Science and Technology* 59 (2014) 649-655. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.016>.
96. J. Chen, J. Huang, S. Deng, et al., Combining ozone and slurry ice to maximize shelf-life and quality of bighead croaker (*Collichthys niveatus*), *Journal of Food Science and Technology* 53 (2016) 3651-3660. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2331-8>.
97. W. Yan, Y. Zhang, R. Yang, et al., Combined effect of slightly acidic electrolyzed water and ascorbic acid to improve quality of whole chilled freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), *Food Control* 108 (2020) 106820. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106820>.
98. T. Lin, J.J. Wang, J.B. Li, et al., Use of acidic electrolyzed water ice for preserving the quality of shrimp, *J. Agri. Food Chem.* 61 (2013) 8695-8702.
99. W.T. Kim, Y.S. Lim, I.S. Shin, et al., Use of electrolyzed water ice for preserving freshness of pacific saury (*Cololabis saira*), *J. Food Protect.* 69 (2006) 2199-2204. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-69.9.2199>.

RINGRAZIAMENTI

Vorrei ringraziare il mio relatore, il professore Andrea Osimani per avermi seguito nella stesura di questa tesi, per la sua disponibilità e prontezza, per i validi consigli e la costanza con la quale mi ha sostenuto.

Se questi anni di università sono stati un viaggio, desidero esprimere la mia profonda gratitudine a tutti coloro che hanno condiviso con me questo percorso.

In primo luogo, vorrei ringraziare la mia famiglia. I miei nonni sono stati il faro e la Stella Polare, la loro luce ha costantemente illuminato il mio cammino. Ai miei genitori e a mio fratello, va il mio riconoscimento per essere stati il porto sicuro, il luogo in cui potevo sempre trovare la forza di continuare. Un grazie speciale va anche ai miei zii e cugini, che sono stati la bussola durante questo viaggio. Grazie per non avermi mai fatto mollare e per avermi sempre teso la mano quando ne avevo bisogno.

Un ringraziamento sentito è rivolto ai miei amici, C., K., L., M., N., P., T., il mio equipaggio, i miei compagni di avventure. Sia a coloro che sono stati con me fin dall'inizio che a chi è salito a bordo negli ultimi anni, ogni momento trascorso con voi è stato di conforto. Anche nelle tempeste più furibonde, siamo rimasti uniti e siamo usciti vittoriosi. La celebrazione di oggi è possibile grazie al vostro sostegno costante. Vi sarò sempre grata, e so di poter contare su di voi in qualsiasi situazione.

Un ringraziamento particolare va a Alberto, il mio salvagente. Nonostante le difficoltà, sei riuscito a tenermi a galla e a darmi conforto. Grazie per essere stato/a al mio fianco in questi mesi e per aver concluso questo viaggio insieme a me. Ogni momento con te è prezioso.

Questo è stato un viaggio lungo e talvolta impegnativo. Ora, mi auguro di trovare una rotta che mi conduca alla felicità e al successo. Anche se il percorso potrebbe non essere sempre tranquillo, sono fiduciosa di trovarmi nella direzione giusta, pronta/o ad affrontare ogni avversità, circondata dall'amore che ho intorno a me.