



***Attività scientifiche del progetto***

***“Tecnologie e processi per il miglioramento della shelf-life dei prodotti del comparto agroalimentare attraverso l'uso di film edibili innovativi a base di pectine”***

***PECTINE - PON Ricerca e Competitività 2007-2013***



*Marilena Di Natale*

<sup>a</sup> Istituto di Studi sul Mediterraneo, S.S. di Palermo, Via F. Parlatore, 65 90145 Palermo

marilena.dinatale@ismed.cnr.it

Indice .....	2
Premessa .....	3
Obiettivi, attività e tempistica.....	3
Descrizione delle attività scientifiche.....	4
OR1 – Miscele ed applicatore .....	4
WP1.1 – Indagini su pectine da utilizzare e protocolli di preparazione .....	4
WP1.2 – Progetto e realizzazione impianto pilota per lo “Spray Drying” .....	5
WP1.3 – Studio e ricerca per strumento erogatore.....	5
OR2 – Pretrattamento e composti aggiuntivi .....	5
WP2.1 – Pretrattamento dei prodotti ittici.....	5
WP2.2 – Pretrattamento dei prodotti della terra.....	5
WP2.3 – Composti naturali antimicrobici .....	5
WP2.4 – Composti antiossidanti e anti-disidratazione .....	6
OR3 - Film edibili .....	6
WP3.1 – Protocolli integrazione dei composti aggiuntivi ai film edibili .....	6
WP3.2 – Sperimentazione nuovi film edibili .....	6
OR4 – Validazione .....	10
WP4.1 – Validazione dei film edibili su prodotti ortofrutticoli .....	10
WP4.2 – Validazione film edibili su prodotti ittici.....	11
WP4.3 – Validazione strumento erogatore .....	12
Ringraziamenti.....	13
Bibliografia.....	13

### Premessa

Il progetto “Tecnologie e processi per il miglioramento della shelf-life dei prodotti del comparto agroalimentare attraverso l'uso di film edibili innovativi a base di pectine” (PECTINE) - PON Ricerca e Competitività 2007-2013, della durata di 28 mesi e conclusosi nel 2015, ha avuto come soggetti proponenti: Dipartimento scienze bio-agroalimentari A.A.T. del CNR, Agroindustry Advanced Technologies S.p.a, Apofruit Italia Soc. Coop Agricola e il co.Ri.Bi.A. consorzio di Ricerca sur Rischio Biorogico in Agricoltura. Tra i soggetti terzi coinvolti si annoverano Bionat Italia S.r.l., Biosensornat S.r.l., Università degli Studi di Salerno con il Dipartimento di Farmacia e l'Università degli Studi di Padova con il Dipartimento di Biorogia; mentre tra le collaborazioni esterne Agrumi-gel S.r.l.

Il progetto ha avuto come scopo quello di sviluppare e sperimentare soluzioni tecnologicamente innovative, basate su componenti naturali, quali le pectine estratte dagli agrumi o alcune molecole ad attività antimicrobica isolate dagli stessi prodotti su cui verranno applicate, in grado di migliorare sensibilmente la shelf-life dei prodotti ittici ed agricoli, settori dove il problema della conservazione dei prodotti nel periodo che intercorre tra la raccolta e il consumo ha un elevato impatto sui costi.

### Obiettivi, attività e tempistica

Il progetto di ricerca e sviluppo è articolato in 4 obiettivi realizzativi (OR) ciascuno dei quali prevede specifici Work Packages:

OR1 "Miscele ed applicatore" - Creazione di miscele pectiniche innovative e dello strumento applicativo per i film edibili.

- WP1.1 – Indagini su pectine da utilizzare e protocolli di preparazione
- WP1.2 – Progetto e realizzazione impianto pilota per lo “Spray Drying”
- WP1.3 – Studio e ricerca per strumento erogatore
- WP1.4 – Progetto e sviluppo prototipo dimostrativo strumento erogatore

OR2 “Pretrattamento e composti aggiuntivi” - Studio e definizione dei protocolli di pretrattamento dei prodotti agroalimentari e dei composti antimicrobici, antiossidanti e anti disidratazione da aggiungere alle miscele pectiniche.

## Attività scientifiche del progetto PECTINE

- WP2.1 – Pretrattamento dei prodotti ittici
- WP2.2 – Pretrattamento dei prodotti della terra
- WP2.3 – Composti naturali antimicrobici
- WP2.4 – Composti antiossidanti e anti-disidratazione

OR3 "Film edibili" - Integrazione sotto forma di film edibili delle miscele pectiniche con i composti aggiuntivi, sperimentazione, valutazione shelflife e test di tossicità.

- WP3.1 – Protocolli integrazione dei composti aggiuntivi ai film edibili
- WP 3.2 – Sperimentazione nuovi film edibili
- WP3.3 – Sistemi e tecnologie per la valutazione della shelf-life

OR4 "Validazione" - Validazione dei film edibili e dello strumento su prodotti ittici e prodotti ortofrutticoli.

WP4.1 – Validazione dei film edibili su prodotti ortofrutticoli

WP4.2 – Validazione film edibili su prodotti ittici

WP4.3 – Validazione strumento erogatore

	Bimestri													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
OR1 - Miscele ed applicatore														
OR2 - Pretrattamento e composti aggiuntivi														
OR3 - Film edibili														
OR4 - Validazione														

Tabella 1 – Gantt di progetto

### Descrizione delle attività scientifiche

#### OR1 – Miscele ed applicatore

La realizzazione di questo WP ha permesso di ottenere dopo molteplici prove sperimentali un film edibile trasparente ed omogeneo da utilizzare sui diversi prodotti (della terra e del mare) nell'ambito delle differenti attività previste nel presente progetto, mediante la realizzazione di uno strumento erogatore.

#### WP1.1 – Indagini su pectine da utilizzare e protocolli di preparazione

Le attività inerenti la definizione dei protocolli di produzione di pectine con caratteristiche

chimico/fisiche differenti e la descrizione delle specifiche delle formulazioni sono state descritte da D'Agostino et al. (2015).

### **WP1.2 – Progetto e realizzazione impianto pilota per lo “Spray Drying”**

E' stata completata la fase di progettazione dell'impianto pilota per lo “Spray Drying” ed è stato realizzato il prototipo per l'estrazione/micronizzazione con CO<sub>2</sub> supercritica per la produzione di microparticelle di dimensioni controllate.

### **WP1.3 – Studio e ricerca per strumento erogatore**

E' stata completata la progettazione e la realizzazione del prototipo erogatore dimostrativo del film pectinico per la produzione di microparticelle di dimensioni controllate, da utilizzare sui prodotti della filiera agroalimentare, basato sul principio dell'immersione dei prodotti nella miscela pectinica contenuta all'interno di una vasca, al fine di avere un film omogeneo su tutta la superficie del prodotto trattato.

### **OR2 – Pretrattamento e composti aggiuntivi**

La realizzazione di questo WP ha permesso di identificare e mettere a punto la miglior combinazione pectina-componenti aggiuntivi ad azione antimicrobica. Lo studio della miglior miscela costi/benefici da usare come film edibile, ha permesso di identificare un film funzionale ed efficiente che è stato utilizzato nei successivi WP in aggiunta ai pretrattamenti descritti precedentemente.

### **WP2.1 – Pretrattamento dei prodotti ittici**

Le attività inerenti lo sviluppo di protocolli di pretrattamento dei prodotti ittici sono state definite, sviluppate e pubblicate da Masullo et al. (2015 a).

### **WP2.2 – Pretrattamento dei prodotti della terra**

Le attività inerenti lo sviluppo di protocolli di pretrattamento dei prodotti della terra da integrare al successivo trattamento con la miscela edibile a base di pectine, sono state definite, sviluppate così come per i prodotti ittici.

### **WP2.3 – Composti naturali antimicrobici**

Le attività di ricerca per l'individuazione di nuovi composti naturali antimicrobici, isolati da alcune specie vegetali hanno evidenziato la presenza di peptidi che sono stati sintetizzati e

testati per la loro attività biologica (Bonura et al., 2015 a, b; Masullo et al., 2015 b, c).

### **WP2.4 – Composti antiossidanti e anti-disidratazione**

Le attività inerenti l'identificazione di composti antiossidanti ed anti-disidratazione da aggiungere al film edibile a base pectinica, sono state completate, sviluppate e pubblicate (Masullo et al., 2015a).

### **OR3 - Film edibili**

Nell'ottica di valutare l'effetto del film edibile sull'allungamento della shelf life dei prodotti ittici è continuata la standardizzazione/validazione dei diversi protocolli e della miscela a base pectinica identificata. In particolare, su tonno e spada non trattati, pre-trattati e trattati con il film, sono stati valutati due indici di alterazione del prodotto ittico, ovvero 1) la composizione lipidica, in termini di rapporto tra acidi grassi monoinsaturi / acidi grassi saturi (MUFA/SFA) ed acidi grassi polinsaturi / acidi grassi saturi (PUFA/SFA); 2) valutazione di un composto volatile responsabile del tipico odore sgradevole di pesce, la trimetilammina.

Infine è continuata la validazione sperimentalmente delle nuove miscele filmogene peptidiche selezionate per valutare la shelf-life, effettuando analisi di tipo fisico/chimiche, fisiologiche e sensoriali per la valutazione degli effetti della miscela filmogena a base di pectine su prodotti ortofrutticoli.

### **WP3.1 – Protocolli integrazione dei composti aggiuntivi ai film edibili**

Nel presente WP sono continuati i test di vari composti aggiuntivi al film a base di pectina, per stabilire i meccanismi e la miscibilità delle stesse pectine. Sulla base delle prove già condotte sono stati messi a punto ulteriori aggiustamenti sui protocolli di trattamento testati sui prodotti agricoli.

### **WP3.2 – Sperimentazione nuovi film edibili**

Nell'ottica di valutare l'effetto del film edibile sull'allungamento della shelf life dei prodotti ittici si sono messi a punto degli esperimenti attraverso i quali si è valutata l'attività

proteolitica su porzioni da 5 g di tessuto provenienti dallo stesso trancio di pesce (tonno e pesce spada), distinti in campioni controllo, campioni pretrattati e campioni immersi nel gel edibile e conservati a 4 °C per 10 giorni (Masullo et al., 2015 d).

La scelta di operare in tali condizioni sperimentali è stata fatta in relazione a quanto riportato in letteratura, ovvero simulare inadeguate condizioni di conservazione del pesce fresco o congelato in ghiaccio, al fine di accelerare l'eventuale proteolisi a carico delle proteine e quindi ridurre la shelf life.

I campioni di tonno pinna gialla e pesce spada congelati una volta pervenuti in laboratorio sono stati mantenuti alla temperatura di - 20 °C per poi essere scongelati al momento del processamento.

Volendo sintetizzare, per i campioni pretrattati si intendono quei campioni che sono stati immersi in una soluzione antiossidante costituita da acido ascorbico 0,5 %, citrato di sodio 50 mM, NaCl 2%, pH 6. Mentre per campioni immersi nel film edibile si intendono quei campioni che oltre al pretrattamento con la soluzione antiossidante sono stati immersi nella soluzione edibile a base di pectina e chitobalk.

Le tre tipologie di campione ovvero: Controllo (C), Trattato (T) e immerso nel Film (F) sono stati mantenuti a 4 °C per 10 giorni e recuperati rispettivamente a 0, 2, 4, 6, 8, 10 giorni per poi essere processati.

Pianificazione degli esperimenti (prodotti ittici)

Nell'ottica di valutare l'effetto del film edibile sull'allungamento della shelf life dei prodotti ittici si è proceduto a pianificare un esperimento attraverso il quale era valutata l'attività proteolitica su porzioni da 5 g di tessuto provenienti dallo stesso trancio di pesce (tonno e pesce spada), distinti in campioni controllo, campioni pretrattati e campioni immersi nel gel edibile e conservati a 4 °C per 10 g.

Pre-trattamento

Considerato che refrigerazione e sottovuoto rappresentano due delle principali tecniche di conservazione dei prodotti ittici, a scopo sperimentale nelle attività del WP 2.1, come ulteriore metodologia di conservazione del pesce era stato testato il trattamento con acido ascorbico. I risultati ottenuti non mostravano alcuna differenza quantitativa nel contenuto in acidi grassi totali rilevati nei campioni controllo e nei trattati (con la soluzione antiossidante). Diversamente, l'analisi del profilo qualitativo mostrava una riduzione, in funzione del tempo di conservazione (nell'arco di sei giorni), a carico degli acidi grassi

insaturi rispetto ai saturi nei campioni controllo; nei campioni trattati con l'acido ascorbico, viceversa, i rapporti dei tre indici di alterazione della qualità del prodotto (UFA/SFA, MUFA/SFA e PUFA/SFA) si mantenevano costanti.

Per tale motivo si è proceduto ad effettuare un pretrattamento sui campioni di tonno e pesce spada tramite immersione per 3 minuti in una soluzione di acido ascorbico 0,5%, citrato di sodio 50 mM, NaCl 2%, pH 6 (come riportato nel SAL II).

Applicazione del film edibile tramite immersione

Come stabilito nel WP 3.1, la miscela edibile selezionata e di seguito elencata è stata applicata tramite immersione sui campioni di tonno e pesce spada precedentemente pretrattati.

Miscela (quantità per produrre 100g di gel edibile):

EDTA 0,2 g

Glicerolo 4 g

Pectine 0,6 g

H<sub>2</sub>O fino a 100 g

Chitobalck 0,5%

In una prima fase si è proceduto a sciogliere l'EDTA in acqua, a seguito le pectine sono state umettate con il glicerolo. Una volta umettate, è stata aggiunta acqua poco alla volta.

Parallelamente il chitobalck è stato sciolto in acqua e poi aggiunto alla pectina, quindi portato a volume con acqua.

Recovery dei campioni dopo conservazione a 4 °C

Le tre tipologie di campione ovvero: Controllo (C), Trattato (T) e immerso nel Film (F) sono stati mantenuti a 4 °C per 10 giorni e recuperati rispettivamente a 0, 2, 4, 6, 8, 10 giorni per poi essere processati.

Processamento e analisi della componente proteica (esp.1)

Il tessuto di ciascuna specie e in tutte le condizioni selezionate, una volta recuperato è stato sospeso in 12,5 ml di tampone (20 mM TRIS pH 7,5) ed omogenato in regime di temperatura controllato (in ghiaccio).

In seguito, ciascun campione è stato centrifugato a 10000 g per 15 min a 4 °C e separata la frazione solubile (componente proteica) da quella insolubile. Un secondo ciclo di centrifugazione nelle medesime condizioni si è reso necessario al fine di eliminare eventuali residui non solubili presenti nella frazione proteica precedentemente ottenuta. Le frazioni



raccolte quindi sono state conservate a -80 °C per le successive analisi.

Processamento, analisi microbiologica e valutazione della carica microbica totale sui campioni di tonno

Dal punto microbiologico si è valutato l'effetto del pretrattamento e del film edibile sulla componente microbica, al fine di verificare se quest'ultimo potesse rallentare la crescita di microrganismi potenzialmente tossici. I saggi condotti hanno evidenziato, come i campioni di tonno trattati col film edibile mantengano pressoché inalterata la Carica Microbica Totale (102 ufc/g) fino a 6 giorni, diversamente dai campioni controllo e pretrattati, nei quali questa aumenta di un ordine di grandezza già a partire dal secondo giorno di conservazione.

Processamento e analisi della componente non proteica sui campioni di tonno: valutazione del contenuto in acidi grassi saturi e insaturi (Monastero et al., 2016).

L'analisi sulla qualità degli acidi grassi, nei campioni precedentemente descritti, è stata condotta mediante estrazione con il metodo di Bligh e Dyer (1959) e successiva esterificazione con potassa alcolica. Le tre tipologie di campione analizzate sono state: Controllo (C), Pre-trattato (P) e immerso nel Film (F), mantenuti a 4 °C per 8 giorni e recuperati rispettivamente a 0, 2, 4, 6, 8 giorni per poi essere processati.

I risultati ottenuti hanno consentito di valutare la composizione percentuale degli acidi grassi estratti dalla matrice (campioni di controllo, pretrattati e trattati). Per valutare l'andamento nel tempo della qualità della composizione lipidica sono stati usati due indici di alterazione del prodotto, ovvero: acidi grassi monoinsaturi / acidi grassi saturi (MUFA/SFA) ed acidi grassi polinsaturi / acidi grassi saturi (PUFA/SFA).

Processamento e Determinazione di trimetilamina sui campioni di tonno.

La trimetilamina o TMA è un'ammina terziaria volatile responsabile del tipico odore sgradevole di pesce, derivante dalla riduzione del TMA ossido (TMAO) da parte dell'attività batterica ed in parte anche dagli enzimi intrinseci del pesce. La formazione di TMA è favorita in condizione di anaerobiosi e non è rallentata dalla bassa temperatura di conservazione del prodotto.

Con il passare del tempo, dopo la cattura del pesce, si verifica un aumento del contenuto di TMA, mentre la quantità di TMA ossido tende gradualmente a diminuire fino ad arrivare a valori pari a zero.

La valutazione di tale parametro nei campioni tonno controllo, pretrattato e immerso nel

film ci ha consentito di valutare quando in termini temporale la TMA aumenta a tal punto da indicare la riduzione della shelf life del prodotto.

Processamento e analisi della componente proteica (esp. 2)

Precipitazione in TCA ed analisi delle proteine solubili campioni di spada

Elenco campioni:

Pesce spada non trattato con recovery al tempo: 0, 2, 4, 6, 8, 10 giorni (4 °C)

Pesce spada pre-trattato con recovery al tempo: 0, 2, 4, 6, 8, 10 giorni (4 °C)

Pesce spada pre-trattato e immerso nel film con recovery al tempo: 0, 2, 4, 6, 8, 10 giorni (4 °C).

Processamento, analisi microbiologica e valutazione della carica microbica totale sui campioni di spada

Come fatto per i campioni tonno, anche per i campioni di pesce spada, si è valutato l'effetto del pretrattamento e del film edibile sulla componente microbica, al fine di verificare se quest'ultimo potesse rallentare la crescita di microrganismi potenzialmente tossici. I saggi, hanno evidenziato come per tutte e tre le tipologie di campione di pesce spada non emergano differenze a carico dell'aumento della carica microbica totale in termini di ufc/g nell'arco temporale analizzato.

Processamento e analisi della componente non proteica sui campioni di spada: valutazione del contenuto in acidi grassi saturi e insaturi

Come già precedentemente discusso sui campioni di tonno, lo stesso protocollo di estrazione degli acidi grassi è stato applicato alle tre tipologie di campione di pesce spada, ovvero spada controllo (C), spada pretrattato (P) e spada immerso nel film (F).

Processamento e Determinazione di trimetilamina sui campioni di spada.

Come fatto per le tre tipologie di campioni di tonno anche per il pesce spada è stata condotta l'analisi sull'andamento della trimetilamina. Anche in tale set di esperimenti i risultati indicano come i valori di TMA tendano ad aumentare dopo 4 giorni di conservazione a 4 °C.

### OR4 – Validazione

#### WP4.1 – Validazione dei film edibili su prodotti ortofrutticoli

L'attività è stata avviata con l'identificazione delle specie e delle cultivar da sottoporre a testing; la determinazione delle specifiche tecniche del campione da sottoporre a

sperimentazione; i parametri chimico-fisici legati al luogo di conservazione; la matrice di sperimentazione ed i protocolli di sperimentazione.

### WP4.2 – Validazione film edibili su prodotti ittici

L'obiettivo specifico del work package è stato l'identificazione delle specie marine da utilizzare come specie di alto pregio organolettico ed economico che reagissero nel modo migliore all'utilizzo di film edibili a base di pectine. Tali specie sono quelle con la migliore performance nella shelf-life e saranno le prime, tra quelle marine, ad essere testate nel mercato di largo consumo.

Le sottoattività hanno riguardato:

- l'identificazione delle specie di invertebrati marini da testare;
- l'identificazione delle specie di vertebrati marini da testare;
- la cattura delle specie identificate;
- il test sull'utilizzo di diverse pectine e performance sui vari prodotti ittici e su invertebrati scelti.

Scelta invertebrato e pianificazione dell'esperimento

Relativamente alla selezione di invertebrati marini di grande interesse commerciale da utilizzare come test per la valutazione della performance del film prodotto è stata selezionata la seppia (*Sepia officinalis*). Essa è fra i cefalopodi, la specie maggiormente catturata nel Mediterraneo tanto che recentemente è stato possibile notare un trend in negativo delle catture a sottolineare come in determinate aree del bacino si stia raggiungendo la produzione massima sostenibile. La seppia è venduta fresca o surgelata ed è considerata di alto valore commerciale specialmente in Giappone, Corea, Italia e Spagna.

Approvvigionamento dei campioni

I campioni freschi di seppia sono stati acquistati e processati contestualmente alla messa in opera dell'esperimento.

Pre-trattamento

Il pretrattamento è stato effettuato su porzioni da 5 g di tessuto proveniente da campioni di seppia freschi, tramite immersione per 3 minuti in una soluzione di acido ascorbico 0,5%, citrato di sodio 50mM, NaCl 2%, pH 6.

Applicazione del film edibile tramite immersione

La miscela edibile a base di pectina e chitobalck è stata applicata (tramite immersione) sui campioni di seppia precedentemente pretrattati.

Recovery dei campioni dopo conservazione a 4 °C

Le tre tipologie di campione ovvero, Controllo (C), Trattato (T) e immerso nel Film (F) sono stati mantenuti a 4 °C per 10 giorni e recuperati rispettivamente a 0, 2, 4, 6, 8, 10 giorni per poi essere processati.

Processamento e Analisi della componente proteica

Il tessuto in tutte le condizioni selezionate, una volta recuperato è stato sospeso in 12,5 ml di tampone (20 mM TRIS pH 7,5) ed omogenato in regime di temperatura controllato (in ghiaccio).

In seguito, ciascun campione è stato centrifugato a 10000 g per 15 min a 4 °C e separata la frazione solubile (componente proteica) da quella insolubile. Un secondo ciclo di centrifugazione nelle medesime condizioni si è reso necessario al fine di eliminare eventuali residui non solubili presenti nella frazione proteica precedentemente ottenuta. Le frazioni raccolte quindi sono state conservate a -80 °C per le successive analisi.

Processamento ed analisi microbiologica e valutazione della carica microbica totale sui campioni di seppia

Dal punto microbiologico si è valutato l'effetto del pretrattamento e del film edibile sulla componente microbica, al fine di verificare se quest'ultimo potesse rallentare la crescita di microrganismi potenzialmente alteranti e/o patogeni.

Processamento e analisi della componente non proteica sui campioni di seppia: valutazione del contenuto in acidi grassi saturi e insaturi

Come per i campioni di tonno e spada, anche sui campioni di seppia sono stati elaborati i due indici di alterazione del prodotto in termini di rapporti MUFA/SFA e PUFA/SFA.

Processamento e determinazione di trimetilamina sui campioni di seppia.

La valutazione di tale parametro nei campioni seppia controllo, pretrattato e immerso nel film ha permesso di valutare quando in termini temporale la TMA aumenti a tal punto da indicare la riduzione della shelflife del prodotto.

### WP4.3 – Validazione strumento erogatore

Il presente WP ha avuto come obiettivo la realizzazione e validazione di un dispositivo per l'applicazione di miscele di pectine su frutta ed ortaggi. L'attività esecutiva e realizzativa è

stata indirizzata in particolare verso lo sviluppo di un sistema da utilizzare per rivestire la frutta, prendendo la fragola come frutto di riferimento per le prove sperimentali.

## Ringraziamenti

PON Ricerca e Competitività 2007-2013

## Bibliografia

Bonura A., Longo A., Longo V., Vlah S., Mercati F., Masullo T., Nicosia A., Tagliavia M., Salamone M., Cuttitta A., Carimi F., Colombo P., (2016) a. Applicazione di un protocollo di screening differenziale nel sistema *Vitis vinifera* per l'identificazione di peptidi con attività antimicrobica. Technical Report. CNR SOLAR, code 7821TR2016

Bonura A., Longo A., Longo V., Vlah S., Masullo T., Nicosia A., Tagliavia M., Salamone M., Cuttitta A., Colombo P. (2016) b. Valutazione di effetti citotossici ed emolitici di peptidi ad attività antimicrobica su cellule umane mononucleate del sangue periferico (PBMC) e sulla linea cellulare di adenocarcinoma prostatico PC3. Technical Report. CNR SOLAR code 7824TR2016.

D'Agostino F., Masullo T., Bennici C., Salamone M., Tagliavia M., Nicosia A., Carimi F., Abbate L., Motisi A., La Bella F., Fontana E., Carra A., Mercati F., Mazzola S., Cuttitta A. 2015 - Protocolli di produzione di miscele di pectine. Technical Report, CNRSOLAR code: 6527TR2015

Masullo, T., Bennici, C., Salamone, M., Tagliavia, M., D'Agostino, F., Nicosia, A., Cuttitta, A., Monastero, C., Di Natale, M., Ranalli, M., Mirabello, D., Stincone, P., Abbate, L., Motisi, A., La Bella, F., Fontana, E., Carra, A., Mercati, F., Stampone, G., Di Pierro, M., Ciancimino, C., Di Noto, A.M., Oliveri, G., Alio, V., Carimi, F., Mazzola, S. 2015 a - Protocolli di pretrattamento sul prodotto agroalimentare fresco o minimamente processato e individuazione del processo ottimale. Technical Report, CNRSOLAR code 6533TR2015

Masullo, T., Bennici, C., Salamone, M., Tagliavia, M., Nicosia, A., Falco, F., Colombo, P., Bonura, A., Cuttitta, A., Mazzola, S. 2015 b- Applicazione di un protocollo di immunostimolazione su individui di *Pracambarus clarkii* mirato alla produzione di peptidi con attività biologica – 2015. Technical Report, CNRSOLAR code 6533TR2015

Masullo, T., Bennici, C., Salamone, M., Tagliavia, M., Nicosia, A., Falco, F., Colombo, P., Bonura, A., Cuttitta, A., Mazzola, S. 2015 c- Esperimento pilota mirato all'analisi dell'effetto della stimolazione immunitaria su *A. viridis*, finalizzato alla produzione di composti biologicamente attivi. Technical Report, CNRSOLAR code 6535TR2015

Masullo Tiziana, Bennici Carmelo, Salamone Monica, Tagliavia Marcello, Nicosia Aldo, Mazzola Salvatore, Cuttitta Angela – 2015 d- Analisi dei profili nutrizionali e valutazione degli indicatori di performance inerenti la shelf life di prodotti ittici. Technical Report, CNRSOLAR code 6617TR2015

Monastero C., Masullo T., Bennici C.D., D'Agostino F., Salamone M., Tagliavia M., Nicosia A., Biondo G., Armeri G.M., Maneiro I., Musco M., Maugeri G., Carelli M.L., Patti C., Longo V., Longo A., Vlah S., Bonura A., Colombo P., Mazzola S., Cuttitta A. (2016) Sperimentazione e validazione di nuove tecnologie per il miglioramento della shelflife dei prodotti ittici attraverso l'uso di un film edibile a base pectinica. Technical Report. CNRSOLAR code 7825TR2016