

Massimiliano D'Imperio
e Imperatrice Capotorto

Radici di Puglia

IL GUSTO COLORATO DELLA SALUTE

RADICI DI PUGLIA
IL GUSTO COLORATO DELLA SALUTE

Sintesi del progetto di ricerca svolto tra il 2013 e 2014 da A.R.I.A., Associazione per la Ricerca e l'Innovazione Agroalimentare, di Massimiliano D'imperio e Imperatrice Capotorto, per la valorizzazione e la commercializzazione della Carota di Polignano.

Editing e revisione testi: Massimiliano D'Imperio e Imperatrice Capotorto
Fotografia: Massimiliano D'Imperio, Imperatrice Capotorto e Alessia Mennuni
Copertina, progetto grafico e illustrazioni: Alessia Mennuni

Progetto sovvenzionato dalla Regione Puglia, Assessorato Politiche Giovanili e alla Cittadinanza Sociale, nell'ambito del concorso PRINCIPI ATTIVI 2012



0
INDICE

1.0 INTRODUZIONE	4
1.1 Idea progettuale	4
1.2 Principali obiettivi	4
1.3 Considerazioni preliminari	5
2.0 MATERIALI E METODI	6
2.1 Qualità visiva	6
2.2 Analisi della composizione gassosa	6
2.3 Colore	6
2.4 Solidi solubili totali, pH e acidità titolabile	6
2.5 Consistenza	6
2.6 Fenoli totali e attività antiossidante	7
2.7 Analisi microbiologiche	7
2.8 Panel test sensoriale	8
2.9 Estrazione antociani	8
2.10 Estrazione carotenoidi	8
2.11 Quantificazione degli antociani mediante analisi HPLC	9
2.12 Quantificazione dei polifenoli totali	10
2.13 Valutazione della Bioaccessibilità dei principali composti bioattivi	11
2.14 Estrazione dei carotenoidi mediantel'utilizzo di micelle	11
2.15 Quantificazione dei carotenoidi totali	12
2.16 Estrazione e quantificazione del contenuto di iodio inorganico	12
2.17 Retta di calibrazione per la determinazione dello iodio inorganico	12
2.18 Bioaccessibilità iodio carote	12
2.19 Quantificazione dello iodio nei liquidi di digestione	13
2.20 Analisi statistica	13
3.0 RISULTATI	14
3.1 Primo obiettivo	14
3.2 Secondo obiettivo	15
3.3 Contenuto di Antociani	30
3.4 Bioaccessibilità degli antociani	31
3.5 Contenuto di fenoli	32
3.6 Bioaccessibilità fenoli totali	32
3.7 Contenuto di carotenoidi	32
3.8 Bioaccessibilità carotenoidi	33
3.9 Contenuto di iodio	33
3.10 Bioaccessibilità iodio inorganico	33
4.0 PROGETTO GRAFICO	34
4.1 ARIA, Identità e Logo	34
4.2 Immagine Coordinata	36
4.3 Pieghevoli	37
4.4 Radici di Puglia	38
5.0 CONCLUSIONI	40

1.0

INTRODUZIONE

1.1 Idea progettuale

Il progetto ha avuto come obiettivo quello di rivalutare/salvaguardare un prodotto pugliese, la carota giallo-viola di Polignano, già nota per le sue proprietà benefiche, e di trasformarlo e commercializzarlo come prodotto ready to eat. La scommessa è stata quella di realizzare un snack di V gamma a base di carote colorate, che conservasse le proprietà benefiche del prodotto fresco, soddisfacendo le esigenze dei consumatori che richiedono prodotti pronti all'uso, senza rinunciare all'aspetto salutistico. Gli obiettivi prefissati sono stati finalizzati all'ottenimento di un prodotto di V gamma con un elevato grado di appetibilità, ed un alto contenuto di servizio. Inoltre, l'innovativo processo di trasformazione è stato mirato all'allungamento della shelf-life delle carote giallo-viola di Polignano, per consentirne la reperibilità sul mercato anche in periodi diversi da quelli di raccolta.

1.2 Principali obiettivi

Il progetto si è suddiviso in differenti fasi, ciascuna con uno specifico obiettivo:

- Fase preliminare: reperimento dei campioni e messa a punto delle metodiche;
- Valutazione delle caratteristiche visive e chimico-nutrizionali del prodotto intero e tagliato, nelle tre varianti di colore della carota di Polignano (giallo, arancione, viola). In particolare sui campioni in esame sono state effettuate delle prove di frigo-conservazione (4-5°C) e sono stati valutati, a diversi tempi, i seguenti parametri: qualità visiva, analisi del colore, grado di consistenza, zuccheri totali, β -carotene (carota arancione, gialla e viola), luteina (carota gialla), e antociani (carota viola), fenoli totali, sostanza secca, l'attività antiossidante, acqua libera, nitrati e cationi inorganici. Le stesse analisi sono state condotte su ibridi commerciali di carote colorate, utilizzate come controllo.
- Ottenimento di prodotto di V gamma a base di carote giallo-viola di Polignano che avesse caratteristiche organolettiche simili al prodotto fresco, conservandone il valore nutrizionale, con una shelf-life superiore a 40 giorni in condizioni di refrigerazione. A tale scopo sono state effettuate delle prove di confezionamento del prodotto fresco, valutando due diverse modalità di taglio (rondelle o listarelle) e materiali per il packaging (PA/PE e BX/PP). Sono inoltre state effettuate delle prove di trattamento termico, sperimentando diverse combinazioni di tempo e temperatura.

Su ciascun campione, confezionato e trattato termicamente, è stata effettuata:

1. la verifica dei parametri microbiologici conformi alle normative vigenti nell'Unione Europea;
2. l'analisi delle caratteristiche visive e chimico-nutrizionali del prodotto lavorato, per verificare la conservazione delle caratteristiche nutrizio-

nali nelle carote dopo il processo termico;

- Valutazione sensoriale (Panel-test) utilizzato per valutare l'appetibilità del prodotto. Ciascuna di queste prove è stata effettuata a diversi tempi, fino al termine della possibile vita commerciale al fine di valutare la shelf-life del prodotto.
- Valutazione della bioaccessibilità delle principali molecole bioattive presenti sia nel prodotto fresco che in quello di V gamma. Il concetto di bioaccessibilità è utile per attribuire una valenza salutistica al prodotto in quanto indica la percentuale di una molecola attiva, dal punto di vista biologico, che risulta essere effettivamente disponibile dopo un processo digestivo. La valutazione della bioaccessibilità è stata effettuata mediante la quantificazione di carotenoidi e antociani presenti dopo un processo di digestione *in vitro*, simulato in laboratorio, rispetto alla quantità di tali molecole presenti nelle carote prima della digestione.
- Confrontare i risultati ottenuti nei punti precedenti, per le due varietà di carota (carota giallo-viola di Polignano e ibridi commerciali di carote colorate) al fine di selezionare quella che meglio si presta a conservare il valore nutrizionale dopo il processo di trasformazione in prodotto di V gamma.
- Realizzazione di un'etichetta con il logo del prodotto, contenente una tabella con i valori nutrizionali, energetico (kcal e kJ), carboidrati, minerali e molecole antiossidanti, specificando per ciascun composto la RDA (Razione Giornaliera Raccomandata), secondo le modalità previste dalla normativa vigente.

1.3 Considerazioni preliminari

La sperimentazione si è articolata in due step:

1. Reperimento campioni: le prime prove, data la stagionalità delle carote di Polignano, sono state effettuate su campioni di carota commerciale, acquistate presso i market di zona. Con l'arrivo delle carote di Polignano abbiamo concentrato la nostra attenzione sulle carote di nostro interesse.
2. Messa a punto delle metodiche: le metodiche sono state messe a punto grazie alla collaborazione del personale ISPA-CNR di Bari e di Lecce, e del personale dell'Università degli Studi di Foggia, che hanno partecipato in qualità di istituzioni convenzionate; le stesse hanno messo a disposizione i materiali da laboratorio utili per il raggiungimento degli obiettivi prefissati dal progetto. La sperimentazione è stata messa a punto utilizzando ibridi di carote commerciali colorate (Fig. 1); una volta messe a punto le metodiche, tali ibridi non sono stati più utilizzati in quanto risultavano essere molto difficili da reperire e presentavano delle caratteristiche sensoriali non particolarmente gradevoli (poco appetibili). Abbiamo quindi concentrato la nostra attenzione sulle carote di Polignano. Le prove di frigo conservazione hanno messo da subito in evidenza la ridotta stabilità dei composti bioattivi; ci siamo quindi interessati al prodotto fresco (appena raccolto in campo), al fine di ottenere una caratterizzazione che maggiormente si avvicinasse alle condizioni reali.

Le analisi chimico-nutrizionali sono state suddivise in due fasi:

- Analisi preliminari volte a valutare lo stato di maturazione e l'eventuale idoneità alla vendita e al consumo delle carote (qualità visiva, analisi del colore, grado di consistenza, sostanza secca, acqua libera, nitrati e cationi). Tali analisi sono state effettuate all'unico scopo di individuare/selezionare campioni omogenei su cui effettuare la sperimentazione.
- Analisi chimico nutrizionali approfondite, volte alla valorizzazione delle carote di Polignano (contenuto di carotenoidi, antociani, polifenoli, attività antiossidante, zuccheri totali).

2.0 MATERIALI E METODI

2.1 Qualità visiva

La qualità visiva (VQ) è stata valutata in maniera soggettiva con una scala da 5 a 1, dove 5=eccellente, 4=buono, 3=discreto (limite di commerciabilità), 2=scadente (commestibile ma non commercializzabile), 1=non edibile.

2.2 Analisi della composizione gassosa

Le concentrazioni di O₂ e CO₂ all'interno delle confezioni sono state monitorate mediante un analizzatore di gas ad infrarossi O₂/CO₂. In particolare la misura è avvenuta utilizzando un ago inserito, attraverso un setto, nella confezione in cui si voleva misurare la composizione gassosa la quale veniva espressa in percentuale di O₂ e di CO₂.

2.3 Colore

Il colore è stato misurato con un colorimetro da banco (Konica minolta) impostato sul metodo riflettanza, calcolando i parametri colorimetrici CIE L*, a* e b*. I valori riportati per ciascun parametro sono la media di 30 misure per ciascun campione.

2.4 Solidi solubili totali, pH e acidità titolabile

Per la misura dei solidi solubili totali, del pH e dell'acidità titolabile, circa 50 g di carote sono state frullate e l'omogenato è stato filtrato per ottenere del succo. Poche gocce di questo succo sono state usate per misurare i solidi solubili totali utilizzando un refrattometro da banco; i valori sono stati espressi come °Brix. La restante parte di succo è stato usato per misurare il pH, con un comune pHmetro, mentre l'acidità titolabile è stata misurata mediante titolazione acido-base.

2.5 Consistenza

La consistenza è stata determinata su 12 fette di carota per ciascun campione (4 fette per ciascun colore) utilizzando una Instron Universal Testing Machine equipaggiata con un puntale da 0,5 mm e una cella di carico di 500 N, che si muoveva alla velocità di 120 mm/min (**Fig.1 e 2**). La misura della consistenza è stata espressa come carico massimo in newton (N).

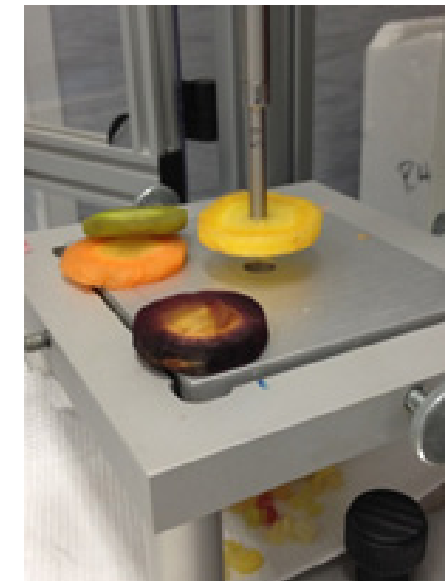
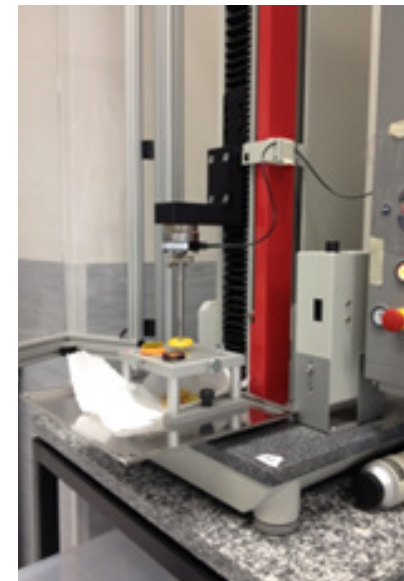


Fig.1 Instron Universal Testing Machine

Fig.2 Dettaglio fette di carote

2.6 Fenoli totali e attività antiossidante

Per la determinazione dei fenoli totali e la misura dell'attività antiossidante, 5 g di carote sono state omogenate, utilizzando un Ultraturax, in una soluzione MeOH:H₂O (80:20) per 1 minuto e successivamente centrifugate a 6440 g per 5 min a 5 °C. Il surnatante è stato utilizzato per le determinazioni. Per i fenoli totali, a 100 µL di estratto, opportunamente diluito, sono stati aggiunti 1,58 mL di H₂O, 100 µL del reattivo Folin-Ciocalteu e 300 µL di una soluzione di Carbonato di Sodio (200 g L⁻¹). L'assorbanza è stata letta dopo 2h alla lunghezza d'onda di 765 nm. Il contenuto di fenoli totali è stato calcolato sulla base di una curva di calibrazione di acido gallico ed è stato espresso come mg di acido gallico su 100 g di peso fresco. Per la misura dell'attività antiossidante a 50 µL di estratto, opportunamente diluito, sono stati aggiunti 950 µL di DPPH (2,2-Difenil-1-picrilidrazil) che hanno determinato l'inizio della reazione. L'assorbanza è stata letta dopo 30 min di incubazione al buio alla lunghezza d'onda di 515 nm. L'attività antiossidante è stata calcolata sulla base di una curva di calibrazione del Trolox ed è stata espressa come mg di Trolox equivalenti per 100 g di peso fresco.

2.7 Analisi microbiologiche

Ciascun campione di carote è stato sottoposto ad analisi microbiologica per la conta dei batteri totali mesofili e dei lieviti e funghi. Per le analisi 10 g di carote sono stati omogenati con 90 ml di soluzione salina sterile in stomacher (BagMixer, Interscience, St Nom, France) per 5 minuti. Diluizioni seriali decimali di tale omogenato sono state preparate in soluzione salina sterile e piastrate su PCA (Plate Count Agar, Biolife, Italia) per la conta batterica totale mesofila e su PDA (Potato Dextrose Agar, Biolife, Italia) aggiunto di 100 mg/L di streptomina per la conta di lieviti e funghi, incubando le piastre rispettivamente a 30°C per 24h e a 25°C per 4 giorni. I risultati delle conte sono stati calcolati come medie delle popolazioni microbiche espresse in log CFU/g ± deviazione standard.

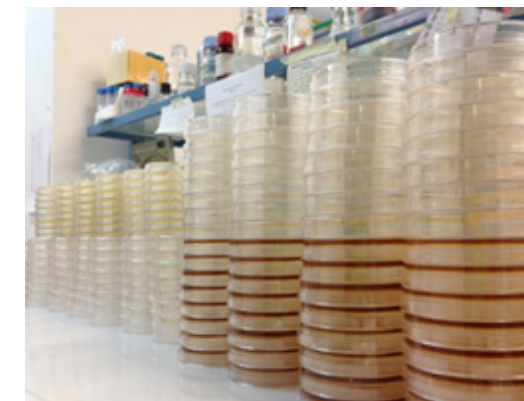


Fig.3 Campioni per la conta batterica

2.8 Panel test sensoriale

Per l’analisi sensoriale ad un gruppo di 10 persone (5 di sesso maschile e 5 di sesso femminile) è stato chiesto di assaggiare le carote e di attribuire dei punteggi. In particolare agli assaggiatori è stato chiesto di dare dei punteggi da 5 a 1 (dove 5 = eccellente, 4 = buono, 3 = discreto, 2 = scadente, 1 = non edibile) su 4 diversi attributi qualitativi: la qualità visiva, l’odore, la consistenza ed il sapore, oltre che un giudizio complessivo sul prodotto.

2.9 Estrazione antociani

L’estrazione degli antociani è stata effettuata utilizzando il protocollo di Kammerer et al., 2004. Quattro/cinque carote fresche (raccolte dal campo qualche ora prima dell’analisi) sono state sezionate e successivamente tritate; al materiale così ottenuto (100 gr) sono stati aggiunti acido ascorbico (5% w/w) e acqua (25% w/w) al fine di ottenere un omogenizzato (ottenuto mediante l’utilizzo di un Grindomix). Successivamente da un’aliquota di 25 gr è stata effettuata l’estrazione, condotta al buio e in assenza di O₂, mediante agitazione con 100 mL di metanolo e HCl/0.1% (v/v) per 2 ore. Al termine delle due ore il campione è stato centrifugato a 4000 rpm, il surnatante è stato prelevato, il pellet è stato ripreso nuovamente in metanolo (per incrementare l’estrazione); tale procedimento è stato effettuato 4/5 volte su ogni campione di carota analizzata e, al termine del procedimento, i surnatanti sono stati uniti.

2.10 Estrazione carotenoidi

L’estrazione dei carotenoidi è stata effettuata utilizzando il protocollo di Ferruzzi et al., 1998. Quattro/cinque carote fresche (**Fig.4 A**) (raccolte dal campo qualche ora prima dell’analisi) sono state sezionate e successivamente tritate; al materiale così ottenuto (100 gr) sono stati aggiunti 5 mL di H₂O (0,22 µm) + CaCO₃ pH 7 e sono stati successivamente omogenizzati in un grindomix. Dieci grammi dell’omogenizzato sono stati utilizzati per l’estrazione. Il processo di estrazione si suddivide in due fasi, una prima metanolica (25 mL), fondamentale per estrarre la luteina, e una seconda fase in cui vengono ripetute delle estrazioni seriali utilizzando come solvente acetone ed esano, fondamentale per carotenoidi, in rapporto 1:1 (questa fase viene ripetuta 4/5 volte). Al termine di ogni fase è stato prelevato e filtrato il surnatante, infine i surnatanti sono uniti in un’unica fase in cui la fase acquosa è stata separata dalla fase organica mediante l’utilizzo di un imbuto separatore. Gli estratti così ottenuti sono stati filtrati con filtri 0,22 µm e successivamente sottoposti ad un’analisi qualitativa HPLC.



Fig.4 A Carote fresche tagliate

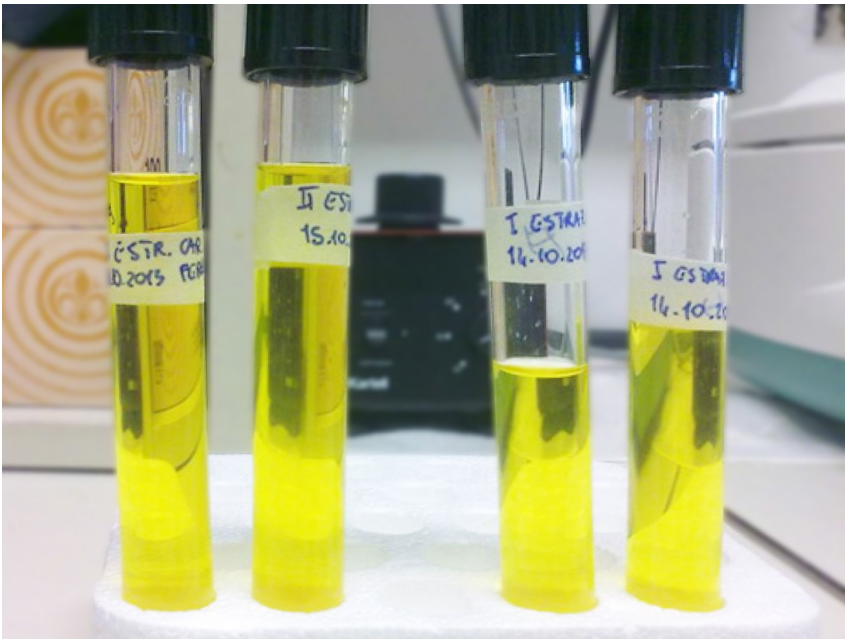


Fig.4 A Estratto di carotenoidi ottenuto mediante il metodo di Ferruzzi et al., 1998.

2.11 Quantificazione degli antociani mediante analisi HPLC

La quantificazione degli antociani è stata effettuata mediante comparazione con degli standard di antociani presenti sul mercato come riportato in tabella 1.

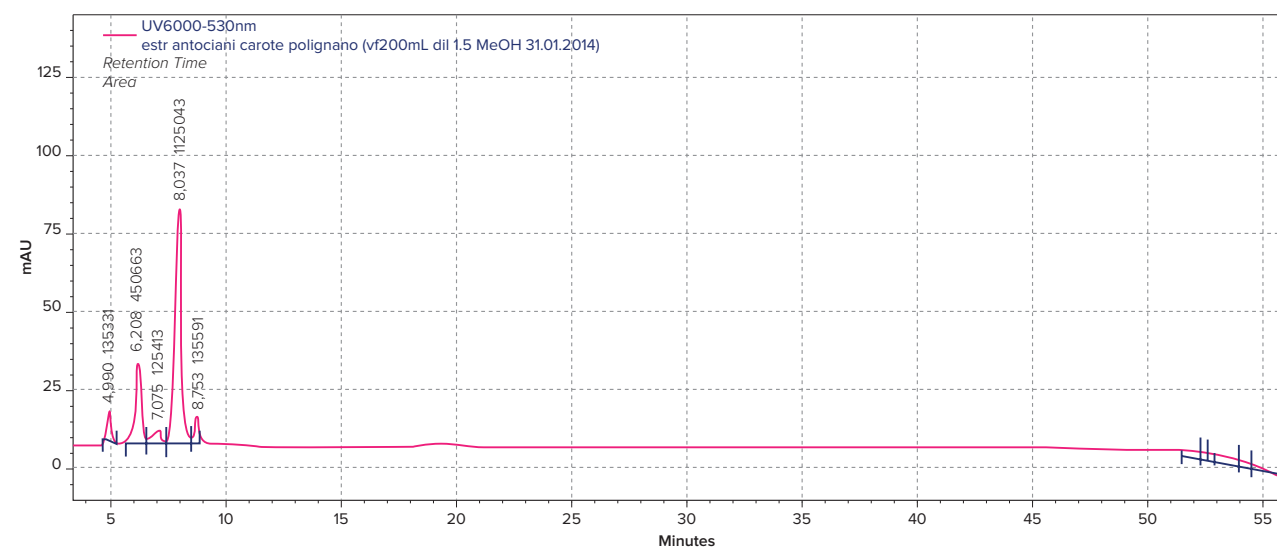
Composto	TR
Cianidina 3 glucoside	7,1
Cianidina 3 rutinoside	7,9
Cianidina 3 galactoside	6,3
Cianidina 3 -O- sambubioside	6,9
Pelargonidina 3 glucoside	9,0
Peonidina 3 glucoside	10,1

Tab.1 Standard di antociani utilizzati per l’analisi qualitativa degli antociani.

La frazione estratta è stata analizzata mediante HPLC al fine di caratterizzarla, stabilire la concentrazione dei principali antociani e la successiva bioaccessibilità. L’HPLC (High Performance/Pression Liquid Chromatography) è una cromatografia liquida condotta ad alta pressione, che permette di separare i composti presenti, ottenendo dei picchi ad elevata risoluzione. Questo tipo di sistema cromatografico è utilizzato principalmente per determinazioni analitiche e consente di identificare i componenti eluiti sulla base del loro tempo di ritenzione (TR) e degli spettri di assorbimento, permettendo anche di risalire alle loro concentrazioni, confrontando le aree dei picchi con quelle di una curva di taratura precedentemente costruita utilizzando degli standard. È stato impiegato il cromatografo Thermo Scientific HPLC spectra System equipaggiato con una pompa in gradiente P2000, un degassatore a membrana, un rivelatore UV/VIS a serie di diodi (Diode array) UV6000LP, l’autocampionatore AS3000 e il software ThermoQuest. Per la separazione dei diversi picchi è stata utilizzata una colonna analitica C18 a fase inversa Phenomenex (Torrance, California, USA) Luna C18 (5 µm) di dimensioni 4,6 x 250 mm. I campioni sono stati iniettati nella colonna mediante una valvola d’iniezione da 25 µL. È stata impiegata una colonna termostata per ottenere una riproducibilità dei TR, importante per l’identificazione dei picchi. Il rivelatore usato è stato un diode array detector (DAD), ovvero un detector UV-visibile che, oltre a leggere l’assorbanza a determinate lunghezze d’onda pre-impostate, permette di rilevare in tempo reale tutto lo spettro di assorbimento delle sostanze in uscita dalla colonna, consentendo una

migliore identificazione delle stesse. La colonna è formata da una matrice in silice, costituita da particelle di 5 µm, con adesa la fase stazionaria rappresentata dalla resina organica C18. La fase mobile (FM), invece, cambia la sua composizione nel corso della cromatografia, passando da una composizione di natura maggiormente polare (85% di H₂O e 15% di MeOH) ad una composizione completamente organica (100% MeOH) al termine della corsa. Per questo, l'eluizione effettuata, è definita eluizione in gradiente e permette, rispetto all'eluizione isocratica, una migliore separazione dei picchi. Questo tipo di cromatografia è anche detta cromatografia in fase inversa, in quanto le sostanze vengono eluite in maniera inversa alla polarità: prima le sostanze maggiormente polari e poi le meno polari. Gli standard di antociani sono stati iniettati a diverse concentrazioni, al fine di costruire delle curve di taratura, dove sono riportate in ascisse le concentrazioni e in ordinate le aree dei picchi. La correlazione è di tipo lineare e la pendenza della curva ottenuta rappresenta il fattore di conversione Area/concentrazione per la quantificazione della sostanza in questione. Dopo avere quindi identificato la sostanza di interesse, mediante un'analisi dello spettro a 530 nm, sulla base del TR e dello spettro di assorbimento, si può risalire alla sua concentrazione dividendo l'area del picco per il fattore di conversione. Per l'elaborazione dei dati e per l'analisi degli spettri è stato utilizzato il software ChromQuest 4.1, versione 4.1, della ditta Thermo Electron.

Fig.5 Profilo cromatografico 530 nm di un mix di standard di antociani



2.12 Quantificazione dei polifenoli totali

La quantificazione dei polifenoli totali è stata effettuata mediante una determinazione spettrofotometrica utilizzando il metodo folin ciocalteu; gli estratti metanolici, ottenuti come descritto in precedenza, sono stati filtrati con filtri 0.45 µm e successivamente sono stati aggiunti, in serie, un'aliquota di H₂O, 500 µL di reattivo di Folin, Na₂CO₃ (20%); ad ogni aggiunta le provette sono state passate al vortex per 30"; al termine le provette sono state incubate per 20 minuti a 40°C, successivamente raffreddate in ghiaccio per 1 minuto per riportarle a temperatura ambiente. La determinazione è stata effettuata mediante letture in cuvetta a 730 nm, la quantificazione è stata effettuata mediante un'interpolazione con la retta di taratura precedentemente costruita (Abs+0.03415/0.07483), i valori ottenuti sono espressi in mg/mL di acido clorogenico. Per i digeriti di carota, ottenuti mediante processo di digestione *in vitro*, è stato applicato lo stesso protocollo utilizzando dei filtri 0.22 µm: questo

passaggio risultava essere fondamentale per abbattere la componente proteica/enzimatica derivante dalla digestione, responsabile di fenomeni di interferenza durante le letture spettrofotometriche.

2.13 Valutazione della Bioaccessibilità dei principali composti bioattivi

La valutazione della bioaccessibilità definita come la quantità di un nutriente rilasciato, nel tratto gastro-intestinale, durante processo di digestione *in vitro*, è stata effettuata utilizzando il protocollo di Ferruzzi et al., 2001, tale metodo simula, in maniera semplificata, la digestione nel tratto gastrointestinale umano, applicando alcune condizioni chimiche (pH, temperatura e composizione dei sali biliari), biologiche (enzimi gastrici e pancreatici) e tempi di permanenza tipiche del tratto gastrico e duodenale.

Le carote, suddivise per colori, sono state sottoposte ad un processo di digestione *in vitro*, secondo il metodo di Ferruzzi et al., (2001). Tale metodo prevede la preparazione di soluzioni digestive costituite dai principali enzimi che intervengono nel processo fisiologico della digestione come riportato successivamente.

Succo gastrico (pepsina 40 mg/mL; pH 2.5), succo duodenale (pancreatina e lipasi rispettivamente 4 mg/mL e 2 mg/mL; pH 5.3) e bile (24 mg/mL; pH 6.5). A 100 gr di carote tritate sono stati aggiunti 5 gr di olio di coratina (5%), passaggio fondamentale per incrementare l'estrazione dei carotenoidi; il campione da sottoporre a digestione (3 gr) è stato omogeneizzato in 4,5 mL di una soluzione di NaCl 0,9%. Per la digestione gastrica il valore di pH del campione, in seguito all'aggiunta della pepsina, è stato regolato a $2,5 \pm 0,1$ utilizzando NaOH 1M o HCl 1M. Il campione è stato poi incubato al buio per 1 ora a 37°C sul sistema di agitazione a ruota al fine di simulare la peristalsi intestinale. Al termine della fase gastrica è stato aggiunto 1 mL di NaHCO₃ 100 mM ed è stato controllato il pH, eventualmente correggendolo a valori di $5,3 \pm 0,1$. La fase intestinale è cominciata con l'aggiunta, nel campione, di 1,35 mL di soluzione di pancreatina/lipasi e 1,35 mL di soluzione di bile. Il pH è stato aggiustato a valori di $6,5 \pm 0,1$ con NaHCO₃ 100 mM, il campione è stato portato a volume finale di 15 mL con una soluzione di NaCl 0,9% in acqua ed infine incubato al buio per 2 ore a 37°C sul sistema di agitazione a ruota. Ciascuna tesi è stata eseguita in triplicato. Al termine del processo di digestione, il digerito di carota è stato sottoposto a una centrifugazione a 4000 xg per 10 minuti per separare la componente solida.

Dei 15 mL di digerito ottenuti dopo la centrifugazione, 1 mL è stato prelevato come crude extract mentre i restanti 14 mL sono stati centrifugati a 10,000 xg per 1 ora per la formazione delle micelle (passaggio necessario per la determinazione dei carotenoidi) utilizzando il protocollo di Ferruzzi et al.,(2001).

2.14 Estrazione dei carotenoidi mediante l'utilizzo di micelle

L'estrazione dei carotenoidi dai liquidi di digestione, ottenuti mediante processo di digestione *in vitro*, è stata effettuata mediante l'utilizzo del protocollo di Ferruzzi et al., 2001. Il metodo prevede l'utilizzo di due differenti solventi, acetone e etere di petrolio: all'acetone sono stati aggiunti 50 mg di Butilidrossitoluene (BHT); poi sono stati aggiunti 2 mL di acetone + BHT e, successivamente, 2 mL di etere di petrolio; ad ogni aggiunta di solvente, il campione è stato passato al vortex per 1 minuto; successivamente l'estratto è stato centrifugato a 2000 xg 2' a temperatura ambiente ed è stata prelevata la fase superiore contenente i carotenoidi. Il processo di estrazione è stato ripetuto 3 volte fino alla completa decolorazione del campione. I campioni così ottenuti sono stati filtrati con filtri 0.22 µm e portati a secco mediante flusso di azoto.

2.15 Quantificazione dei carotenoidi totali

La quantificazione dei carotenoidi è stata effettuata utilizzando il metodo di Machmudah e Goto, 2013; tale metodica consente di determinare il contenuto di carotenoidi totali mediante l'utilizzo di letture di assorbanza (grandezza direttamente proporzionale alla concentrazione della soluzione nella cuvetta), utilizzando la legge di Lambert-Beer dove $Abs = A = \epsilon \cdot c \cdot l$. Le misure sono state effettuate utilizzando uno spettrofotometro (UV-1800, Shimadzu, Kyoto, Japan) con delle cuvette di quarzo; la lettura è stata effettuata a 450 nm.

2.16 Estrazione e quantificazione del contenuto di iodio inorganico

Al fine di valorizzare il profilo nutrizionale della carote di Polignano sono state effettuate delle prove, non previste, mirate alla quantificazione del contenuto di iodio in campioni di carota di Polignano liofilizzata. La determinazione del contenuto di iodio nei campioni è stata effettuata utilizzando il protocollo di Perring et al., 2001. Tre grammi di prodotto liofilizzato (mix dei tre colori di carota in rapporto 1:1:1) sono stati macinati, l'estrazione dello iodio inorganico è stato effettuato utilizzando 50 mL di H₂O (ultrapura) a 60°C per 30 minuti in agitazione; al termine dei 30 minuti, il campione viene raffreddato a temperatura ambiente e portato a volume di 100 mL, filtrato con filtri di carta e con filtri 0.22 µm. Una volta ottenuto l'estratto è stata avviata la reazione colorimetrica: un'aliquota del campione (differenti diluizioni) viene dispensato in provette da 15 mL portato a volume di 5 mL e successivamente sono stati aggiunti in serie i seguenti reattivi: 1 mL di Tiocianato di Potassio (0.023% m/v), 2 mL di soluzione di Solfato di ammonio ferrico (7.7% m/v) quest'ultimo preparato in 2.4 M di acido nitrico e 2 mL di nitrito di sodio (0.02% m/v); ad ogni aggiunta viene effettuata un mix su vortex. I campioni così preparati vengono incubati a 60°C per 60 minuti, al termine i campioni vengono portati a temperatura ambiente utilizzando del ghiaccio. Successivamente viene effettuata una lettura spettrofotometrica a 454 nm. Sono state effettuate delle prove con uno standard di iodio al fine di individuare possibili interferenze.

2.17 Retta di calibrazione per la determinazione dello iodio inorganico

La retta di calibrazione è stata effettuata utilizzando KI Std iodio 100 µg L-1, è stata preparata una soluzione di (10mL), dispensata, in falcon da 50mL, 0.0 mL, 0.2 mL, 0.4 mL, 0.6 mL, 0.8 mL, 1.0 mL, 1.2 mL, portata a volume di 5 mL con H₂O ultrapura (0.22 µm), successivamente sono stati aggiunti in serie i seguenti reattivi: 1 mL di Tiocianato di Potassio (0.023% m/v), 2 mL di soluzione di Solfato di ammonio ferrico (7.7% m/v) quest'ultimo preparato in 2.4 M di acido nitrico e 2 mL di nitrito di sodio (0.02% m/v), ad ogni aggiunta viene effettuata un mix su vortex. I campioni così preparati vengono incubati a 60°C per 60 minuti; al termine i campioni vengono portati a temperatura ambiente utilizzando del ghiaccio. Successivamente viene effettuata una lettura spettrofotometrica a 454 nm.

2.18 Bioaccessibilità iodio carote

Al fine di valutare la bioaccessibilità, definita come la quantità di un nutriente rilasciato dalla matrice vegetale durante il processo di digestione nel tratto gastro-intestinale, (0.3 gr di liofilizzato) le carote sono state sottoposte ad un processo di digestione in vitro secondo il metodo di Ferruzzi et al., (2001). Tale metodo prevede la preparazione di soluzioni digestive costituite dai principali enzimi che intervengono nel processo

fisiologico della digestione come riportato successivamente. Succo gastrico (pepsina 40 mg/mL; pH 2.5), succo duodenale (pancreatina e lipasi rispettivamente 4 mg/mL e 2 mg/mL; pH 5.3) e bile (24 mg/ml; pH 6.5). Il campione da sottoporre a digestione è stato omogeneizzato in 4,5 mL di una soluzione di NaCl 0,9%. Per la digestione gastrica il valore di pH del campione, in seguito all'aggiunta della pepsina, è stato regolato a $2,5 \pm 0,1$ utilizzando NaOH 1M o HCl 1M. Il campione è stato poi incubato al buio per 1 ora a 37° C sul sistema di agitazione a ruota al fine di simulare la peristalsi intestinale. Al termine della fase gastrica è stato aggiunto 1 mL di NaHCO₃ 100 mM ed è stato controllato il pH, eventualmente correggendolo a valori di $5,3 \pm 0,1$. La fase intestinale è cominciata con l'aggiunta, nel campione, di 1,35 mL di soluzione di pancreatina/lipasi e 1,35 mL di soluzione di bile. Il pH è stato aggiustato a valori di $6,5 \pm 0,1$ con NaHCO₃ 100 mM, il campione è stato portato a volume finale di 15 mL con una soluzione di NaCl 0,9% in acqua ed infine incubato al buio per 2 ore a 37°C sul sistema di agitazione a ruota. Ciascuna tesi è stata eseguita in triplicato. Al termine del processo digestivo, i campioni sono stati centrifugati a 10,000 xg per 1 ora a 4° C. Il surnatante è stato utilizzato per l'analisi chimica.

2.19 Quantificazione dello iodio nei liquidi di digestione

La quantificazione dello iodio nei liquidi di digestione è stata effettuata utilizzando la metodica precedentemente descritta; i liquidi di digestione sono stati filtrati con filtri 0.22 µm. La retta di calibrazione, ottenuta utilizzando uno standard di ioduro di potassio, presentava un $R^2=0.9895$ (Fig.6).

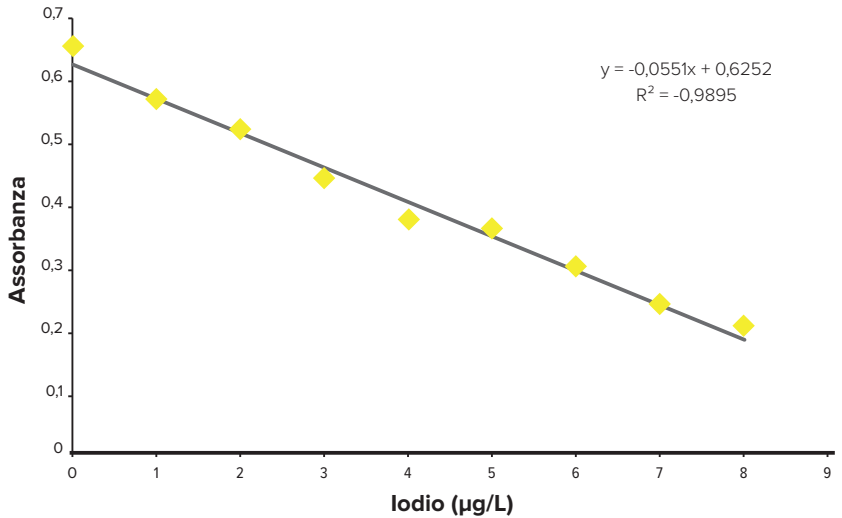


Fig.6 Retta di calibrazione dello ioduro di potassio.

2.20 Analisi statistica

Per l'analisi statistica dei dati è stata condotta una ONE WAY ANOVA al fine di valutare l'effetto dei trattamenti per ciascun parametro analizzato, ad un dato tempo di conservazione. È stato inoltre usato il test di Tukey per la separazione delle medie. Tutte le analisi statistiche sono state effettuate utilizzando il software PAST.

3.0 RISULTATI

3.1 Primo obiettivo

Nella fase iniziale del progetto sono state valutate alcune caratteristiche qualitative delle carote di Polignano (**Fig.7**).

In particolare è stata valutata la qualità visiva, è stato misurato il colore (espresso come valori di L*, a* e b*) (**Tab.2**), il contenuto di zuccheri totali (espresso come °Brix) (**Tab.3**), e sono state quantificate le principali molecole ad attività antiossidante presenti nelle carote di Polignano.

Nella fase iniziale sono state effettuate 2 diverse modalità di taglio delle carote di Polignano, la prima a rondelle di circa 0,5 cm di spessore, e la seconda a listarelle usando una taglia verdure automatica. Già da questa prima prova è stato possibile eliminare la modalità di taglio a listarelle per una questione legata alla particolare distribuzione cromatica delle carote di Polignano. Questo tipo di carote, in particolare quelle viola, presenta una porzione centrale più chiara e la parte esterna di un viola intenso (**Fig.8**) e con il taglio a listarelle tale peculiarità non è più visibile. Inoltre utilizzando un taglia verdure automatico le dimensioni delle listarelle erano molto disomogenee e quindi non idonee alle successive fase di trasformazione. Per le successive prove sperimentali la modalità di taglio utilizzata è stata quella di rondella dello spessore di 0,5 cm di spessore. Sono inoltre state condotte delle prove di frigo-conservazione per valutare come questi parametri si modificassero con il tempo. In particolare le carote, dopo essere state lavate, pelate e tagliate a rondelle sono state poste in vaschette di plastica, pesando per ciascuna vaschetta circa 100 g di carote. Tutte le vaschette sono state poi frigo-conservate a 4 ± 1 °C e analizzate dopo 3, 7 e 10 giorni per i principali parametri qualitativi. Come ci si aspettava, le carote hanno perso la commerciabilità già dopo 2 giorni in quanto la conservazione in aria senza nessun pre-trattamento ha comportato una lignificazione del prodotto con successivo sbiancamento della superficie delle carote. Per quanto riguarda la qualità visiva, i valori sono passati da 5 iniziali a valori di 2,5 già dopo 2 giorni di conservazione per arrivare a valori di 1,5 dopo 10 giorni di conservazione. I dati relativi alla qualità visiva soggettiva in relazione allo sbancamento e alla lignificazione sono stati supportati dai dati di colore e consistenza: infatti per il colore si assiste ad un aumento dei valori di L* (luminosità) dopo 10 giorni a 4 °C. In particolare i lavori di L* sono passati da 53.38 ± 0.84 a 89.63 ± 0.56 per le carote gialle, da 51.74 ± 1.10 a 75.34 ± 1.23 per le carote arancioni e da 35.42 ± 0.45 a 56.22 ± 0.14 per le carote viola. La consistenza è aumentata del 37 ± 2.6 % rispetto ai valori iniziali, indicando un indurimento della matrice vegetale.



Fig.7 Carote di Polignano.
Fig. 8 Sezione di una carota di Polignano viola fresca.

	L*	a*	b*
Carote di Polignano gialle	$53,38 \pm 0,84$	$-1,35 \pm 0,15$	$28,31 \pm 1,81$
Carote di Polignano arancioni	$51,74 \pm 1,10$	$12,63 \pm 0,40$	$25,30 \pm 0,84$
Carote di Polignano viola	$35,42 \pm 0,45$	$6,94 \pm 0,30$	$4,73 \pm 0,28$

Valori espressi come media \pm deviazione standard di 30 misure per ciascun tipo di carota.

Tab.2 Colore misurato sulla porzione esterna delle carote di Polignano.

	° BRIX
Carote di Polignano gialle	$3,72 \pm 0,15$
Carote di Polignano arancioni	$4,49 \pm 0,13$
Carote di Polignano viola	$4,65 \pm 0,20$

Valori espressi come media \pm deviazione standard di 50 misure per ciascun tipo di carota.

Tab.3 Zuccheri totali espressi come °Brix misurati in carote di Polignano.

3.2 Secondo obiettivo

Le prove sperimentali mirate all'ottenimento di un prodotto di V gamma sono cominciate con delle prove di blanching ovvero sottoponendo le carote ad un trattamento termico. Poiché sia la temperatura che la durata del trattamento influenzano le caratteristiche qualitative del prodotto, è stato necessario effettuare delle prove per individuare la migliore combinazione tempo/temperatura che preservasse meglio le caratteristiche qualitative del fresco. In **Tab.4** sono riportate le combinazioni di tempo e temperatura utilizzate per le prova sperimentali riguardanti i trattamenti termici ed il loro effetto su alcuni parametri qualitativi analizzati.

Dall'analisi statistica dei dati non sono emerse differenze significative sulla qualità microbiologica, che è risultata quasi nulla, indicando che i trattamenti termici testati sono stati efficaci nel ridurre la carica batterica iniziale. Per quanto riguarda la consistenza, sembra che le alte temperature applicate per tempi brevi abbiano un effetto migliore sul mantenimento delle caratteristiche fisiche delle carote; in particolare l'applicazione di 90 °C per 1,5 minuti e di 85 °C per 3 minuti sono state le combinazione che hanno meglio preservato la consistenza delle carote di Polignano.

TEMPERATURA (°C)	TEMPO (min)	PARAMETRI QUANTITATIVI											
		VQ	COLORE CAROTE GIALLE			COLORE CAROTE ARANCIONI			COLORE CAROTE VIOLA			CONSISTENZA (N)	CBT (Log CFU/g)
			L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*		
65	20	2,8	55.8	19.8	38.3	54.2	33.8	35.3	37.9	28.1	14.7	24.3	0.7
70	18	3.1	56.9	23.1	42.2	54.7	37.1	39.2	38.4	31.4	18.6	27.9	0.5
75	15	3.4	57.2	26.8	46.8	55.5	40.8	43.8	39.2	35.1	23.2	27.8	0.1
80	5	4.2	57.7	29.2	50.5	56.1	43.2	47.5	39.7	37.6	26.9	28.2	0.12
85	3	4.5	58.5	31.9	54.1	56.8	45.9	51.1	40.5	40.2	30.5	32.4	0.1
90	1,5	4.4	58.9	33.7	55.6	57.3	47.7	52.6	41.2	42.1	32.1	32.6	0.1

Tab.4 Effetto della temperatura e del tempo di blanching su qualità visiva (VQ), colore (L*, a*, b*), consistenza e carica batterica totale (CBT) di carote di Polignano

Valori espressi come media ± deviazione standard di 30 misure per ciascun tipo di carota.

Anche dal punto di vista visivo, questi ultimi due trattamenti sono risultati i migliori per conservare le caratteristiche delle carote fresche. Per quanto riguarda il colore, valutato sempre in maniera separata le tre varianti cromatiche della carota di Polignano, non sono emerse differenze significative tra i trattamenti, confrontando ciascun parametro singolarmente per ciascun colore. Quello che invece abbiamo notato è stata una perdita di colore da parte delle carote viola causata dalla solubilizzazione degli antociani di cui tali carote sono particolarmente ricche. Questo fenomeno è stato evitato nelle successive prove sperimentali, utilizzando opportune

soluzioni per stabilizzare tali molecole. Per quanto riguarda la valutazione dell'attività antiossidante, in questa prova i risultati sono stati largamente influenzati dalla perdita degli antociani e pertanto sono stati ritenuti statisticamente non rilevanti.

Le prove di blanching condotte sono servite ad individuare le migliori combinazioni tempo/temperatura che sono poi state implementate accoppiando, al trattamento termico, dei trattamenti di dipping. Dipping vuol dire letteralmente immersione: è un modo per mettere in contatto un substrato (nel nostro caso le carote) con delle sostanze che possono svolgere funzioni differenti, ad esempio antiossidante, antibatterica o sostanze, come il calcio, che penetrano nella struttura cellulare ed influenzano la consistenza, dando

turgore alla matrice vegetale. Le soluzioni di dipping si ottengono sciogliendo le sostanze in questione in acqua; l'azione di una determinata sostanza può essere incrementata o diminuita in relazione alla concentrazione ed è inoltre possibile creare delle soluzioni combinate con due o più di questa sostanze. Naturalmente è bene dosare le quantità in modo tale che non si abbiano effetti negativi sulle altre caratteristiche qualitative o che si percepiscano odori o sapori anomali. Per le prove sperimentali



Fig.9 Sezioni trasversali delle carote di Polignano nelle tre varianti di colore.

sono state testate l'acido citrico e l'acido ascorbico in combinazione o meno con il calcio, ciascuna soluzione a diverse concentrazioni, come riportato in Tab.5. In tutti gli esperimenti di dipping sono state utilizzate carote immerse in acqua come controllo. Per la preparazione delle soluzioni è stata utilizzata acqua potabile e laddove fosse necessario, la soluzione è stata riscaldata per consentire la completa solubilizzazione delle sostanze. Tutte le soluzioni sono state preparate in precedenza e lasciate almeno 24 ore a 4 °C prima di essere utilizzate per l'esperimento. Il giorno dell'esperimento è stato valutato il pH e la temperatura di tutte le soluzioni. Lo stesso giorno, le carote di Polignano, dopo essere state private dei peduncoli distali e pelate usando un pela-verdura manuale, sono state tagliate in fette di 0,5 cm di spessore e sottoposte a trattamento termico come indicato in Tab.5. A seconda delle sostanze utilizzate per i trattamenti, queste sono state utilizzate o direttamente nell'acqua di blanching oppure erano presenti nelle soluzioni di raffreddamento utilizzate subito dopo il blanching.



Fig.10 Trattamento termico delle Carote di Polignano

Trattamento termico	Dipping
85 °C per 3 min	Acido ascorbico 0,8%
85 °C per 3 min	Acido citrico 0,8%
85 °C per 3 min	Acido ascorbico 2%
85 °C per 3 min	Acido citrico 2%
85 °C per 3 min	Citrato di Calcio
85 °C per 3 min	Ascorbato di Calcio
85 °C per 3 min	Acido ascorbico + Lattato di Calcio
85 °C per 3 min	Acido citrico + Lattato di Calcio
85 °C per 3 min	Lattato di Calcio
85 °C per 3 min	H ₂ O
90 °C per 1,5 min	Acido ascorbico 0,8%
90 °C per 1,5 min	Acido citrico 0,8%
90 °C per 1,5 min	Acido ascorbico 2%
90 °C per 1,5 min	Acido citrico 2%
90 °C per 1,5 min	Citrato di Calcio
90 °C per 1,5 min	Ascorbato di Calcio
90 °C per 1,5 min	Acido ascorbico + Lattato di Calcio
90 °C per 1,5 min	Acido citrico + Lattato di Calcio
90 °C per 1,5 min	Lattato di Calcio
90 °C per 1,5 min	H ₂ O

Tab.5 Pre-trattamenti utilizzati per migliorare le caratteristiche qualitative delle carote di Polignano da destinare alla V gamma.

Dai risultati risulta evidente come il calcio giochi un ruolo fondamentale nel mantenimento della consistenza durante la conservazione. Le carote trattate esclusivamente con agenti antiossidanti (acido ascorbico e acido citrico) senza la presenza di calcio, presentano una significativa perdita di consistenza dopo 7 giorni di conservazione in aria a 4 °C, sia dopo trattamento a 85 °C per 3 min (**Fig.11**), sia dopo trattamento a 90 °C per 1,5 minuti (**Fig.12**). Inoltre, a parità di trattamento di dipping, non sono emerse differenze significative tra i due trattamenti termici.

Fig.11 Perdita di consistenza di carote di Polignano trattate termicamente (85 °C per 3 min), valutata dopo 7 giorni di conservazione a 4 °C, espressa come percentuale di consistenza persa rispetto alle carote di Polignano non trattate termicamente. Lettere diverse indicano valori statisticamente significativi ($p \leq 0,05$).

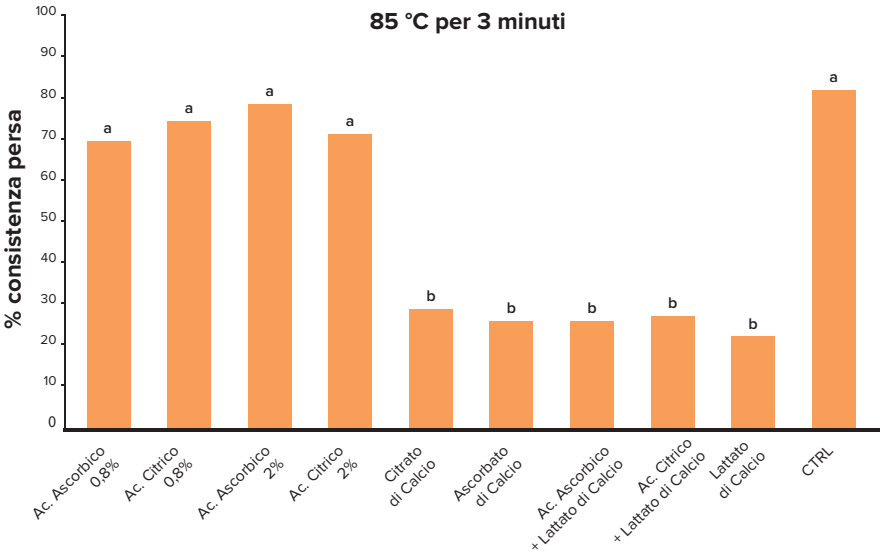
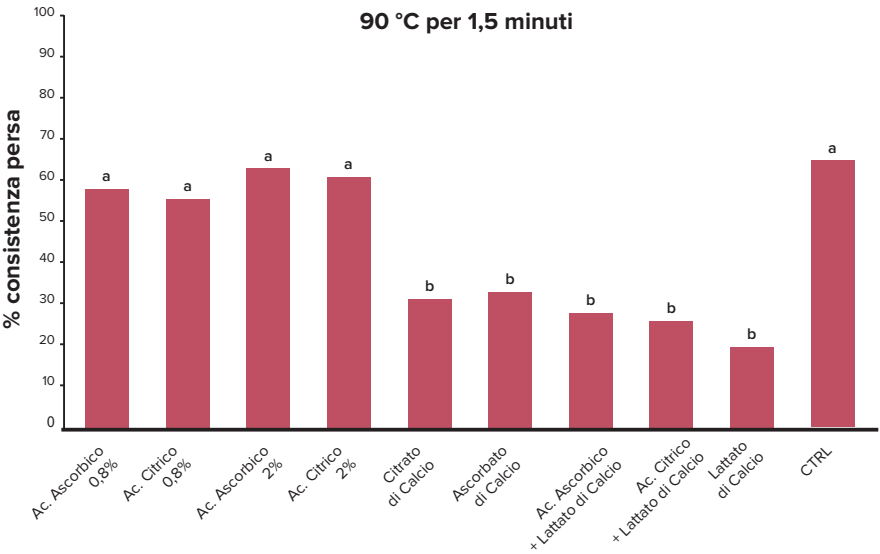


Fig.12 Perdita di consistenza di carote di Polignano trattate termicamente (90 °C per 1,5 min), valutata dopo 7 giorni di conservazione a 4 °C, espressa come percentuale di consistenza persa rispetto alle carote di Polignano non trattate termicamente. Lettere diverse indicano valori statisticamente significativi ($p \leq 0,05$).



I dati microbiologici ottenuti in seguito ai trattamenti termici precedentemente applicati, sono stati confermati anche in questa prova: oltre alla carica batterica totale infatti, anche le conte di batteri lattici, enterobatteriaceae e lieviti e muffe al tempo zero erano nulle, indicando che l'alta temperatura svolge un ruolo essenziale nel controllo microbiologico. Il controllo microbiologico nel tempo tuttavia non è più stato possibile in quanto per questa prova i campioni sono stati conservati in aria e quindi erano esposti alla contaminazione. Un dato interessante che emerge da questa prova sperimentale riguarda l'influenza del tipo di dipping sulla appetibilità del prodotto. L'assaggio delle carote di Polignano, trattate come descritto in **Fig.10**, è stato effettuato dai panellisti solo a tempo zero, proprio per i problemi microbiologici legati alla conservazione in aria. I dati relativi al test sensoriale sono riportati dalla **Fig.13** alla **Fig.16**.

La qualità visiva (VQ) è stata valutata assegnando un punteggio da 1 a 5. Dall'analisi statistica dei risultati è emerso come l'acido citrico 0,8% sia il trattamento meno indicato per conservare la qualità visiva delle carote di Polignano (**Fig.13** e **Fig.14**). Tra gli altri trattamenti non è emersa una differenza statisticamente significativa anche se sembra che i trattamenti in cui è stato usato acido citrico a concentrazioni più elevate associato al calcio abbiamo ottenuto maggiori consensi da parte dei possibili consumatori (**Fig.13** e **Fig.14**). Anche per la qualità visiva non sono emerse differenze

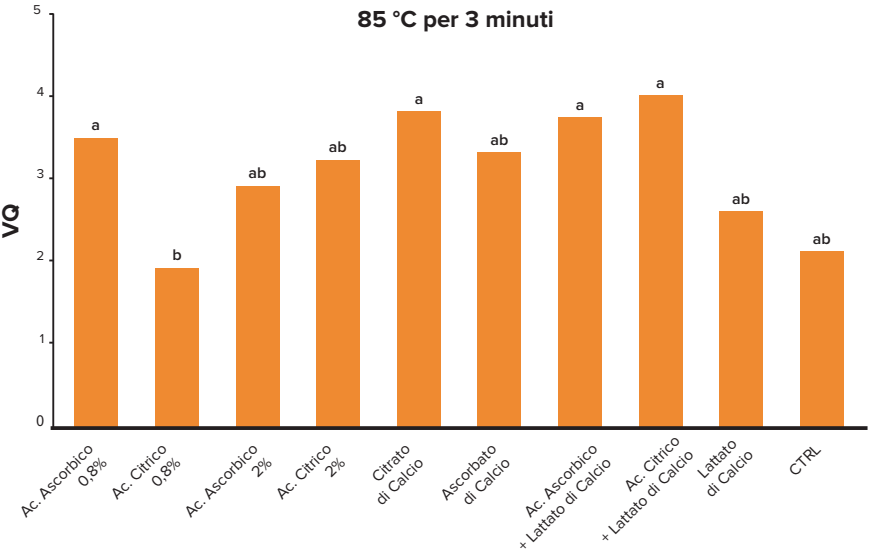


Fig.13 Qualità visiva (VQ) di carote di Polignano trattate termicamente (85 °C per 3 min), valutata a tempo zero. Lettere diverse indicano valori statisticamente significativi ($p \leq 0,05$).

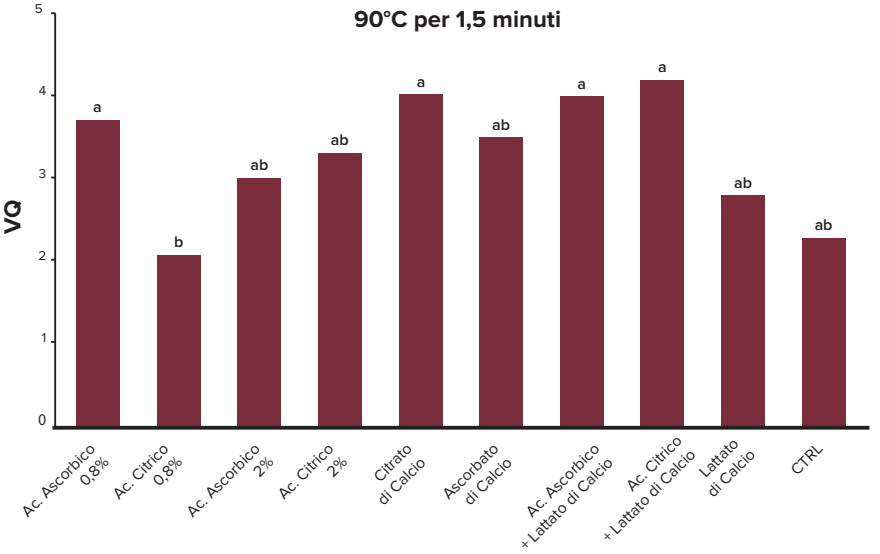


Fig.14 Qualità visiva (VQ) di carote di Polignano trattate termicamente (90 °C per 1,5 min), valutata a tempo zero. Lettere diverse indicano valori statisticamente significativi ($p \leq 0,05$).

statisticamente significative tra i due trattamenti termici applicati (85 °C per 3 minuti in Fig. 13 e 90 °C per 1,5 minuti in **Fig.14**). Per verificare se le sostanze utilizzate per i pre-trattamenti e le loro concentrazioni potevano influire sulla appetibilità del prodotto, è stato chiesto agli assaggiatori di dare un punteggio da 1 a 5 riguardo all'odore e al sapore delle carote. Per quanto riguarda la presenza di odori anomali, non sono state percepite differenze tra le carote trattate e il controllo, indicando che i pre-trattamenti usati non determinano la comparsa di odori anomali (risultati non mostrati). I risultati riguardanti il sapore invece sono rappresentati in **Fig.15** e **Fig.16** rispettivamente per i trattamenti a 85 °C per 3 minuti e 90 °C per 1,5 minuti. Differenze statisticamente significative sono emerse tra i trattamenti di dipping con citrato di calcio e acido citrico 0,8%, sia per il trattamento termico a 85 °C per 3 min (**Fig.15**) che per quello a 90 °C per 1,5 min (**Fig.16**). In particolare le carote trattate con acido citrico 0,8%

Fig.15 Sapore percepito dagli assaggiatori in carote di Polignano trattate termicamente (85 °C per 3 min), valutato a tempo zero. Lettere diverse indicano valori statisticamente significativi ($p \leq 0,05$).

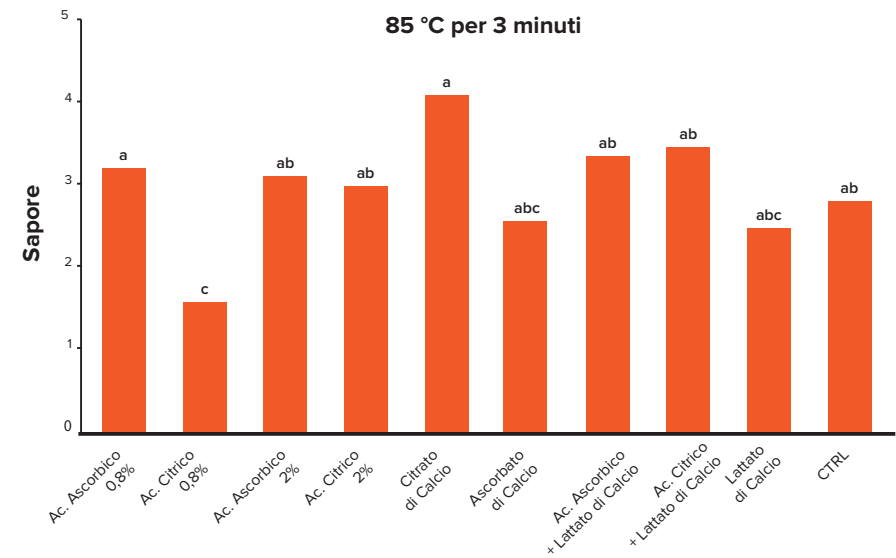
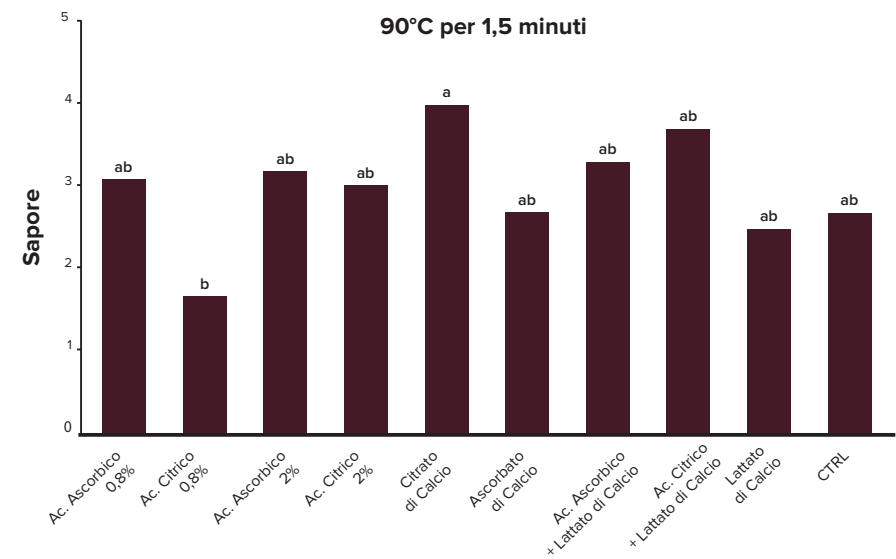


Fig.16 Sapore percepito dagli assaggiatori in carote di Polignano trattate termicamente (90 °C per 1,5 min), valutato a tempo zero. Lettere diverse indicano valori statisticamente significativi ($p \leq 0,05$).



sono risultate essere al di sotto dei limiti di commerciabilità per quanto riguarda il sapore mentre il prodotto trattato con citrato di calcio aveva l'effetto di conservare meglio il sapore delle carote naturali. L'utilizzo di soluzioni a base di acido ascorbico e di acido citrico, con o senza il calcio, hanno avuto l'effetto di stabilizzare il colore nelle carote viola grazie alla presenza del pH acido. L'unico trattamento, oltre al controllo, che non ha avuto l'effetto di stabilizzare il colore è stato quello con lattato di calcio. Per quanto riguarda la scelta del trattamento termico, dal momento che non emergevano differenze significative tra l'uso di 85 °C per 3 minuti e 90 °C per 1,5 minuti per i parametri analizzati, la scelta è stata basata sul trattamento termico con il quale si aveva una minore perdita di sostanze antiossidanti. In **Fig.17** e **Fig.18** sono riportate rispettivamente la misura dei fenoli totali e dell'attività antiossidante. In entrambi i casi il trattamento termico determina una diminuzione delle sostanze antiossidanti rispetto ai valori calcolati per le carote fresche (CTRL), tuttavia dalle analisi condotte sembra che una temperatura più elevata, applicata per un tempo minore, sia quella più indicata per ridurre la perdita di potere antiossidante. Per questa ragione abbiamo scelto di continuare le prove sperimentali utilizzando il trattamento termico che prevedeva una temperatura di 90 °C per un tempo di 1,5 minuti. Sulla scorta dei risultati di queste prove sperimentali sono stati selezionati, oltre al trattamento termico, dei trattamenti di dipping che sono stati implementati mediante una prova di confezionamento. In particolare sono stati scartati i trattamenti con i soli acido ascorbico o acido citrico, alle due concentrazioni testate, in quanto hanno avuto effetti negativi sulla con-

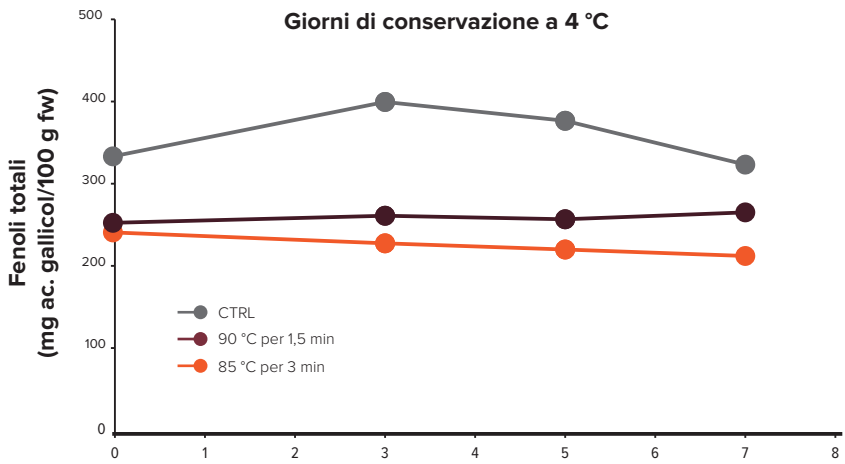


Fig.17 Fenoli totali valutati durante la conservazione a 4 °C su carote di Polignano fresche (CTRL) e dopo trattamento termico. Valori espressi come media dei fenoli totali calcolati su tre repliche per ciascun colore.

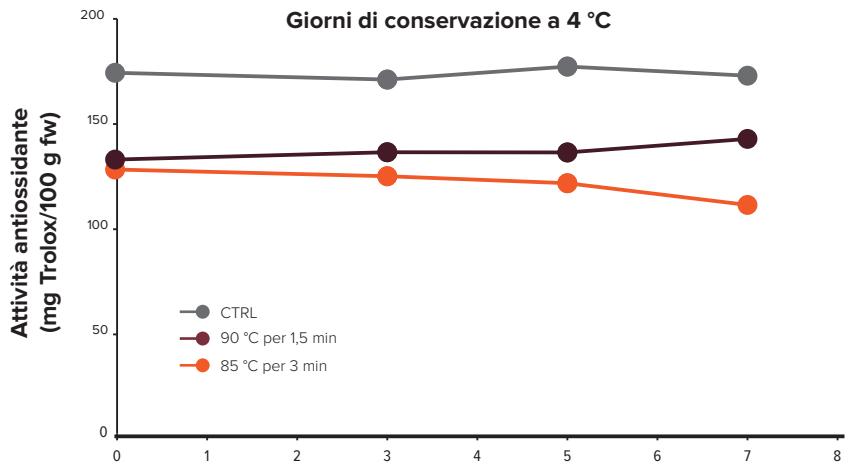


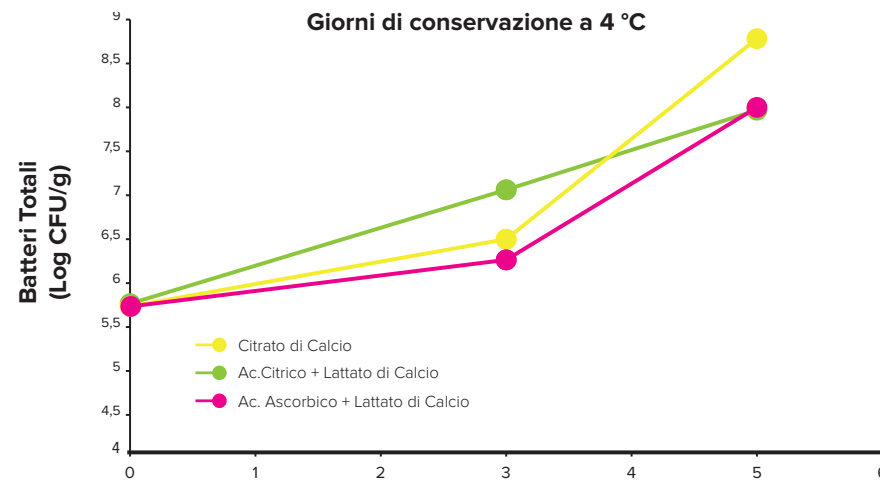
Fig.18 Attività antiossidante valutata durante la conservazione a 4 °C su carote di Polignano fresche (CTRL) e dopo trattamento termico. Valori espressi come media dei fenoli totali calcolati su tre repliche per ciascun colore.

sistenza. Considerando poi quali fossero stati i trattamenti che avevano fatto emergere un maggiore consenso da parte dei possibili consumatori, sono stati selezionati 3 trattamenti:

- citrato di calcio
- acido citrico + lattato di calcio
- acido ascorbico + lattato di calcio

Quindi per la prova di confezionamento le carote sono state preparate come descritto in precedenza e sottoposte a trattamento termico a 90 °C per 1,5 minuti. Al termine del blanching le carote sono state sottoposte a dipping in soluzioni a 4 °C, per determinare un rapido raffreddamento del prodotto ed evitare così che il processo termico continuasse anche dopo il blanching. Nelle soluzioni di raffreddamento sono state disciolte le tre soluzioni da testare. Circa 130 g di carote sono state confezionate in buste da sottovuoto (PA/PE), 3 repliche per trattamento, chiuse in atmosfera passiva (ARIA) e stoccate a 4 °C. Questa prova sperimentale è stata interrotta dopo pochi giorni in quanto le carote confezionate sono andate in anossia. Le concentrazioni di gas all'interno delle confezioni ci hanno confermato che le carote respiravano in quanto si è passati da concentrazioni di gas iniziali di 21% O₂ e 0.01% CO₂ a 0% O₂ e 25% CO₂: in pratica il prodotto ha consumato tutto l'ossigeno presente nella confezione ed ha rilasciato la CO₂ come prodotto della respirazione cellulare. Inoltre, poiché questa condizione si è protratta nel tempo, l'assenza di ossigeno ha determinato l'insorgenza di fenomeni fermentativi con produzione di off-odour e di etanolo. Abbiamo quindi deciso di effettuare delle ulterio-

Fig.19 Batteri totali valutati nel corso della frigoconservazione a 4 °C in carote di Polignano sottoposte a trattamento termico (90 °C per 1,5 minuti) e confezionate in aria. Valori medi di tre repliche per campione.

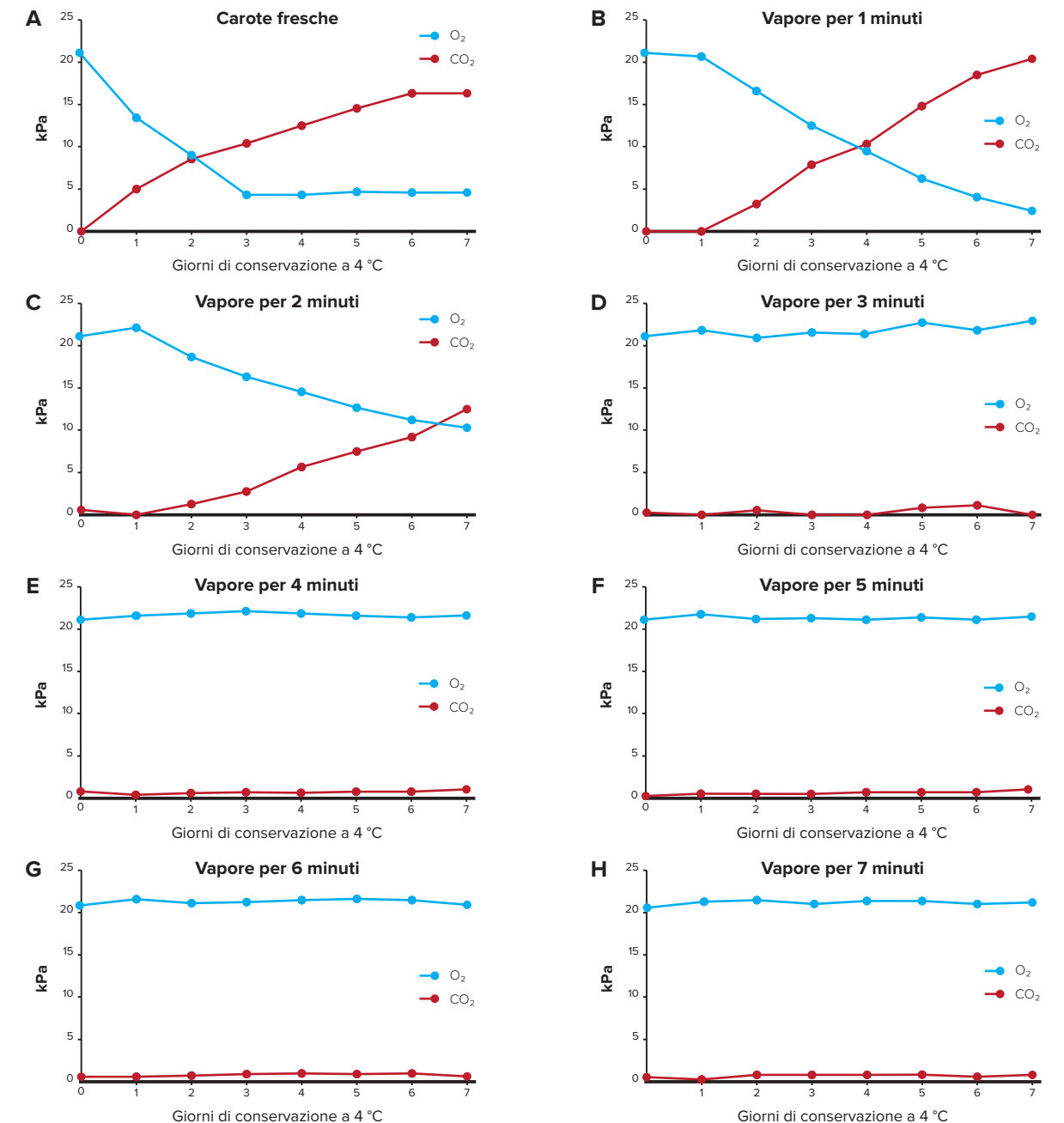


ri prove di trattamento termico al fine di verificare le condizioni ottimali per inibire la respirazione cellulare. Durante la conservazione si è inoltre verificato un altro problema di ordine microbiologico: le conte di batteri totali sono risultate molto elevate da non consentire la commerciabilità del prodotto, come si evince dalla **Fig.19**.

Dal momento che questi dati non erano in linea con quelli ottenuti nelle precedenti prove, abbiamo analizzato le differenze metodologiche e ne abbiamo dedotto che, mentre nelle prove precedenti si era lavorato con piccoli volumi, con la possibilità di controllare in maniera più minuziosa tutti i passaggi durante la trasformazione, in questa prova di confezionamento i quantitativi erano stati molto superiori come anche i volumi di acqua utilizzati e probabilmente la contaminazione microbiologica era stata maggiore. Dovendo quindi ridurre al minimo i passaggi in soluzioni che potevano essere fonte di contaminazione e dovendo testare nuove combinazioni termiche per evitare la respirazione delle carote, abbiamo deciso di provare ad utilizzare una vaporiera. In letteratura la cottura a vapore viene preferita perché determina una minore perdita di sostanze antiossidanti, in quanto queste non vengono solubilizzate. Abbiamo scelto di acquistare una vaporiera con supposti in acciaio che consentisse una pulizia più efficace delle superfici esposte all'alimento.

La prova sperimentale messa a punto aveva l'obiettivo di valutare le condizioni ottimali di trattamento termico a vapore che determinassero l'inattivazione della respirazione delle carote di Polignano. Essendo tuttavia il vapore meno efficace dell'acqua a parità di tempo, è stato necessario allungare i tempi di permanenza in vaporiera per ottenere l'effetto desiderato. In particolare le carote di Polignano mondate e tagliate come descritto per le prove precedenti, sono state sottoposte a trattamento termico testando 7 tempi di esposizione al vapore: da 1 a 7 minuti con intervalli di 1 minuto. Al termine del processo i campioni di carote sono stati

Fig.20 Carote di Polignano divise nelle tre varianti di colore dopo processo di lavaggio, mondatura e taglio.



confezionati, sempre utilizzando buste di PA/PE, stoccati a 4 °C e monitorati nel tempo per valutare la variazione della concentrazione di gas all'interno delle confezioni. I risultati sono mostrati in **Fig.21**: si evince come un tempo di esposizione al vapore di 3 minuti sia sufficiente ad inattivare la respirazione nelle carote ed è stato dunque scelto come trattamento termico da implementare con il dipping nelle prove di confezionamento.

Fig.21 Andamento della concentrazione di O₂ e CO₂ misurate giornalmente in carote di Polignano sottoposte a diversi trattamenti termici, confezionate e frigo conservate a 4 °C.

Considerando tutti i risultati delle prove sperimentali condotte, è stata impostata una prova finale di confezionamento. Per questa prova le carote di Polignano sono state lavate in acqua di fonte, private dei peduncoli, pelate con un pela-verdure manuale e tagliate in fette di 0,5 cm di spessore. Considerando che le resa produttiva in campo per ciascun colore è differente (su 1 kg di carote di Polignano, le carote viola sono circa 200 g) abbiamo deciso di rispettare tale proporzione anche nelle confezioni per evitare che al momento della commercializzazione fosse difficile reperire un quantitativo di carote viola pari in peso a quello degli altri due colori. Per questa ragione, già nella fase iniziale della prova, abbiamo diviso le carote in tre lotti, uno per ciascun colore, come mostrato in **Fig.20**.

Fig.22 Aspetto delle carote di Polignano dopo i trattamenti, pronte per il confezionamento.

- Tipologie di trattamento:
- ▶ **1** Citrato di Calcio
 - ▶ **2** Ac. Citrico + Lattato di Calcio
 - ▶ **3** Ac. Ascorbico + Lattato di Calcio
 - ▶ **4** Controllo (non trattato)



Sono poi stati creati lotti del peso di circa 500 g in cui circa 100 g erano carote viola, circa 150 g di carote gialle/verdi e circa 250 g di carote arancioni. Su questi lotti è stato eseguito il trattamento termico, mediante cottura a vapore per 3 minuti, come definito in precedenza. Al termine del processo di cottura a vapore, le carote sono subito state trasferite in vasche contenenti le soluzioni di dipping: le proporzioni dei volumi utilizzati per i dipping sono state 500 g di carote in 5 L di acqua. Le soluzioni per il dipping sono state preparate il giorno precedente l'esperimento, sciogliendo citrato di calcio o acido citrico + lattato di calcio o acido ascorbico + lattato di calcio in acqua potabile; tutte le soluzioni sono poi state stoccate a 4 °C over-night per utilizzarle il giorno seguente alla temperatura di 4 °C. In seguito al dipping, le carote sono state scolate e trasferite, in vassoi puliti, in cella alla temperatura di 4 °C per consentirne il completo raffreddamento, fino alla fase di confezionamento.

In **Fig.22** sono mostrate le carote di Polignano al termine del processo, prima di essere confezionate.



Fig.23 Carote di Polignano trattate termicamente e sottoposte a dipping, confezionate in buste di PA/PE in aria e frigoconservate a 4 °C.

L'andamento dei gas come anche tutti gli altri parametri sono stati analizzati fino al ventesimo giorno di frigoconservazione in quanto le carote risultavano avere una carica batterica troppo elevata per poter essere ipoteticamente commercializzate. Infatti, come mostrato in **Fig.25**, la carica di batteri totali ha raggiunto e in alcuni casi superato il valore di 6 Log CFU/g. Dall'analisi statistica non sono emerse differenze significative tra i trattamenti se non a 15 giorni di conservazione con cariche maggiori nel controllo. Tale differenza potrebbe essere correlata alla minore consistenza del prodotto non trattato con i dipping a base di calcio che, sfaldandosi facilmente, ha permesso una maggiore fuoriuscita di sostanze nutritive, favorendo la proliferazione batterica.

Fig.24 Andamento della concentrazione di O₂ e CO₂ misurate ogni 3 giorni in carote di Polignano sottoposte a trattamento termico, dipping, confezionate in aria e frigoconservate a 4 °C.

Per la fase di confezionamento circa 100 g di carote di Polignano sono state poste in buste da sottovuoto (PA/PE), sigillate in aria (21% O₂ + 0.01% CO₂) e frigo-conservate alla temperatura di 4 °C (**Fig.23**). Campioni di carote trattate termicamente ma non sottoposte a dipping hanno rappresentato il nostro controllo.

A tempo zero e dopo 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 e 40 giorni di conservazione a 4 °C le carote sono state analizzate per i parametri fisici, chimici, microbiologici e qualitativi, come descritto nel progetto.

In **Fig.24** è riportato l'andamento dei gas all'interno delle confezioni, analizzati durante la conservazione a 4 °C. Come si può notare le concentrazioni iniziali dei gas all'interno delle buste (21% O₂ + 0.01% CO₂) sono rimaste costanti nel tempo, indicando che nel prodotto era stata inibita la respirazione grazie al trattamento termico.

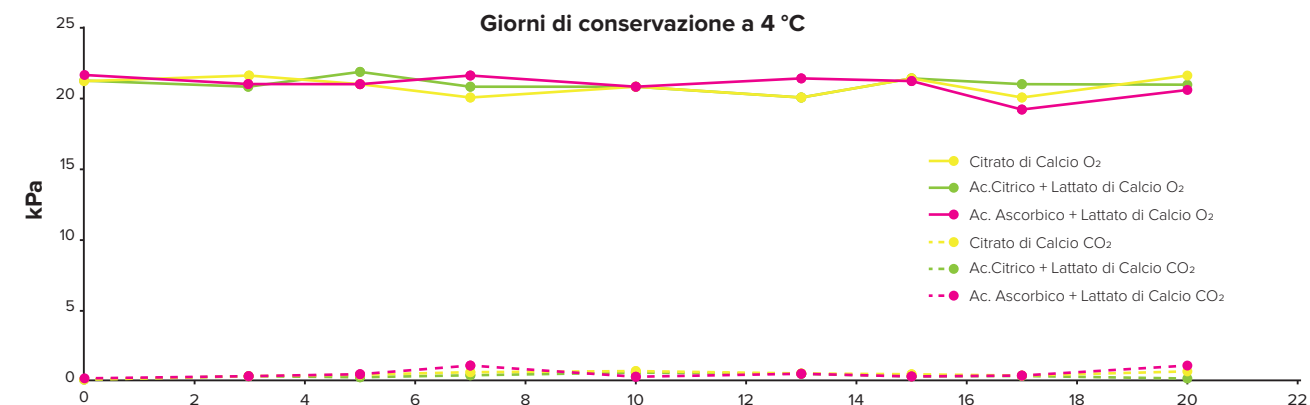


Fig.25 Batteri totali valutati nel corso della frigoconservazione a 4 °C in carote di Polignano sottoposte a trattamento termico, dipping e confezionate in aria. Valori medi di tre repliche per campione.

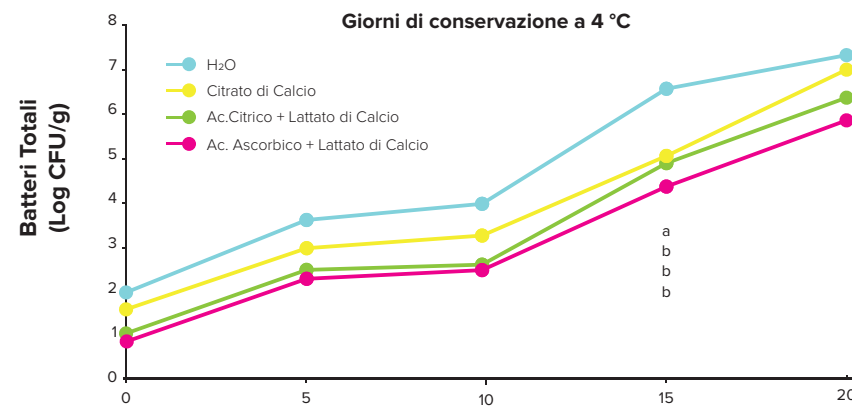
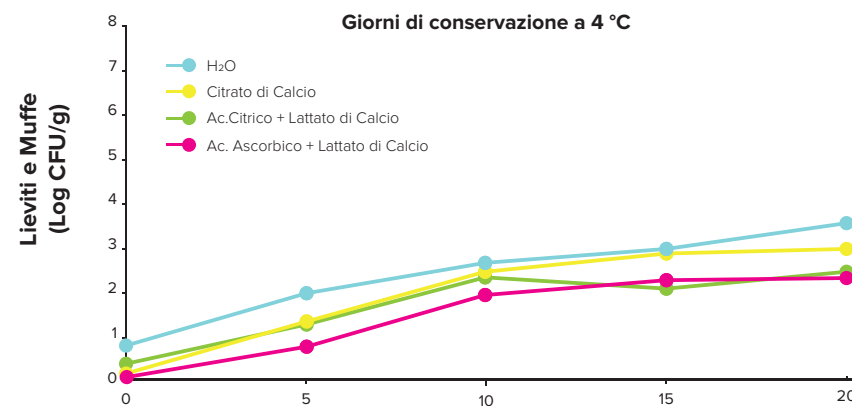


Fig.26 Lieviti e muffe valutati nel corso della frigoconservazione a 4 °C in carote di Polignano sottoposte a trattamento termico, dipping e confezionate in aria. Valori medi di tre repliche per campione.



Il controllo della crescita di lieviti e muffe invece è stato maggiore, senza differenze tra i trattamenti applicati (**Fig.26**). Le analisi microbiologiche sono inoltre risultate negative per la presenza di *Salmonella* ssp. ed *E.coli*, come richiesto dalla normativa europea per i prodotti di V gamma.

Per quanto riguarda l'analisi del colore, sono stati riportati i dati di L*, a* e b* espressi come ΔE^* cioè variazione di colore rispetto ai valori iniziali (**Fig.27**). Questo parametro può dare meglio l'idea di quelli che sono stati i cambiamenti cromatici durante la conservazione. Una variazione maggiore si è avuta nel controllo e questo risultato era atteso in quanto, non essendo state trattate con un dipping, le carote si sono ossidate. La variazione di colore è visibile nella sezione di carota in alto; nell'immagine si nota chiaramente come le carote non sottoposte a dipping (controllo) siano più morbide, dati avallati dai risultati della consistenza in **Fig.28**, che mettono in evidenza una significativa perdita di consistenza delle carote non trattate con il dipping rispetto agli altri trattamenti a base di calcio.



Tra le carote sottoposte a dipping invece non si evidenziano differenze statisticamente significative se non una riduzione della consistenza durante la conservazione in tutti i trattati con dipping.

Per quanto riguarda gli zuccheri totali (**Fig.29**), il pH (**Fig.30**) e l'acidità titolabile (**Fig.31**), non sono emerse differenze statisticamente significative tra i trattamenti nel corso della frigoconservazione.

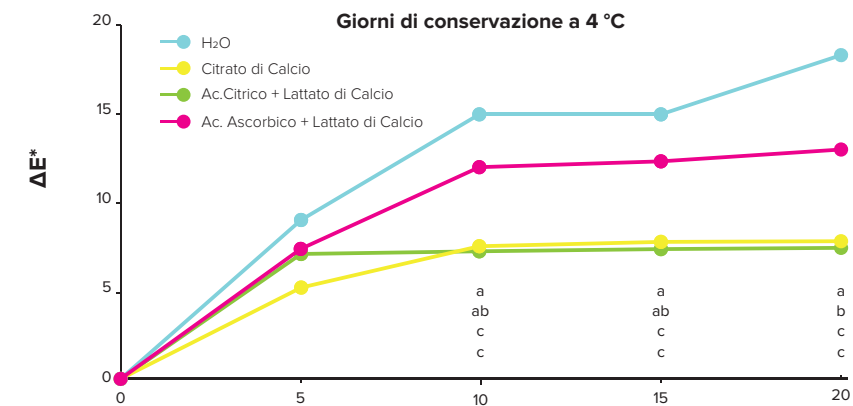


Fig.27 Variazione di colore espressa come ΔE^* in carote di Polignano trattate termicamente, sottoposte a dipping, confezionate in aria e frigoconservate a 4 °C. Valori medi di 30 repliche per trattamento.

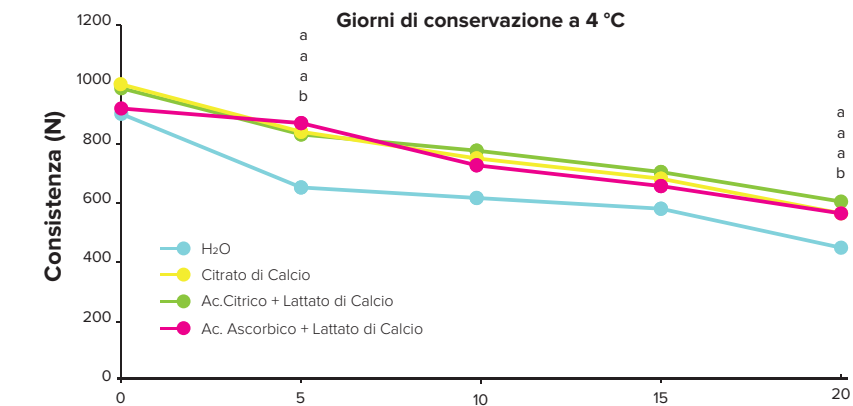


Fig.28 Variazione di consistenza espressa in newton (N) in carote di Polignano trattate termicamente, sottoposte a dipping, confezionate in aria e frigoconservate a 4 °C. Valori medi di 30 repliche per trattamento.

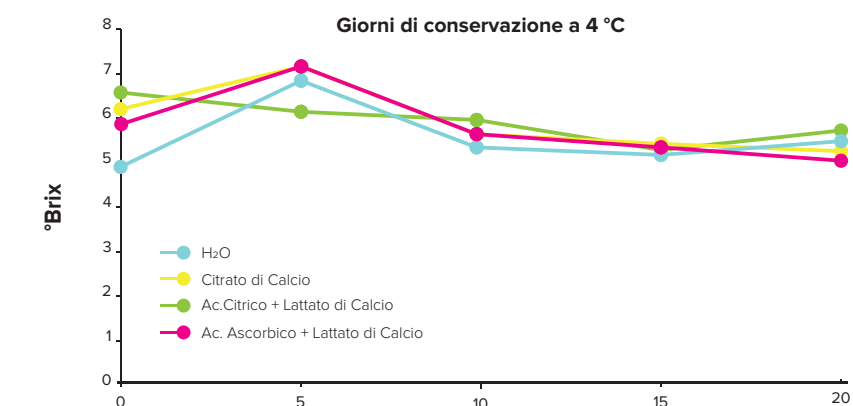


Fig.29 Variazione del contenuto di solidi solubili totali, espressi come gradi Brix, valutati in carote di Polignano trattate termicamente, sottoposte a dipping, confezionate in aria e frigoconservate a 4 °C. Valori medi di 3 repliche per campione.

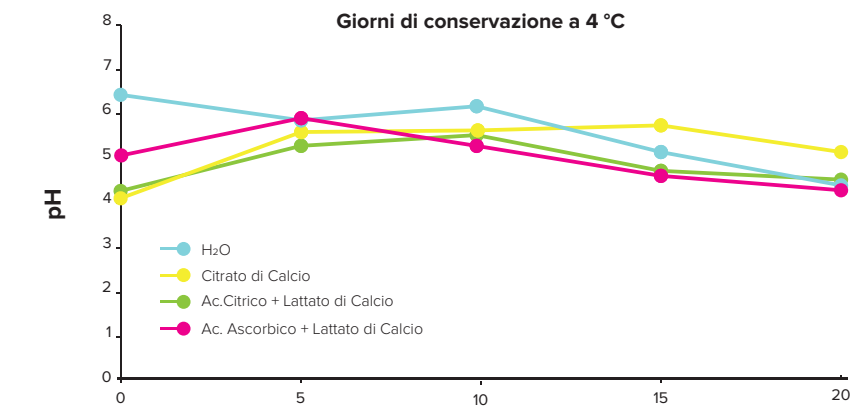
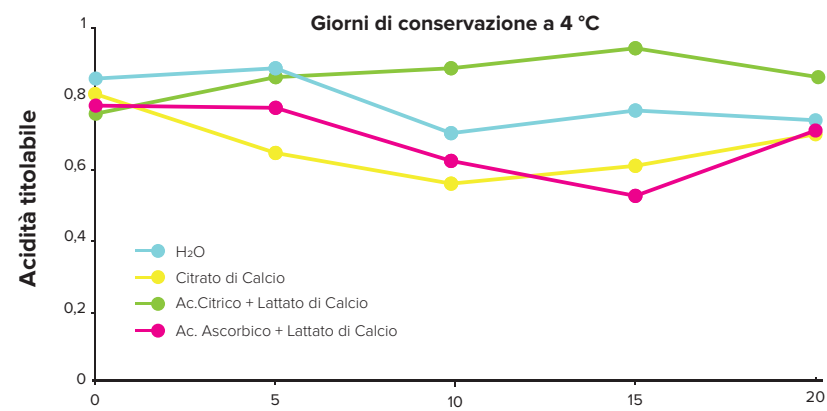


Fig.30 Variazione del pH valutato in carote di Polignano trattate termicamente, sottoposte a dipping, confezionate in aria e frigoconservate a 4 °C. Valori medi di 3 repliche per campione.

Fig.31 Variazione dell'acidità titolabile valutata in carote di Polignano trattate termicamente, sottoposte a dipping, confezionate in aria e frigoconservate a 4 °C. Valori medi di 3 repliche per campione.



L'attività antiossidante e il contenuto di fenoli totali durante la conservazione sono riportati in **Fig.32** e **Fig.33** rispettivamente. Come si può notare il trattamento di dipping influisce in maniera significativa sull'attività antiossidante delle carote di Polignano, con un decremento significativo di questa nelle carote non sottoposte a dipping (**Fig.32**). Tale differenza si mantiene poi nel tempo e in generale il potere antiossidante di mantiene abbastanza stabile nel corso della conservazione a 4 °C. Il contenuto di fenoli totali sembra invece aumentare nel corso della frigoconservazione (**Fig.33**). In particolare, se analizziamo il contenuto di fenoli totali, i trattamenti migliori sono risultati essere quelli con il lattato di calcio associato all'antiossidante, senza differenze tra acido ascorbico e acido citrico. Statisticamente più bassi appaiono invece i livelli dei fenoli misurati nel controllo di carote in cui non c'è stato il trattamento di dipping.

Fig.32 Attività antiossidante espressa come mg di trolox su 100 grammi di prodotto fresco, valutata nel corso della conservazione a 4 °C di carote di Polignano sottoposte a trattamento termico, dipping e confezionate in aria. Valori medi di 3 repliche per campione.

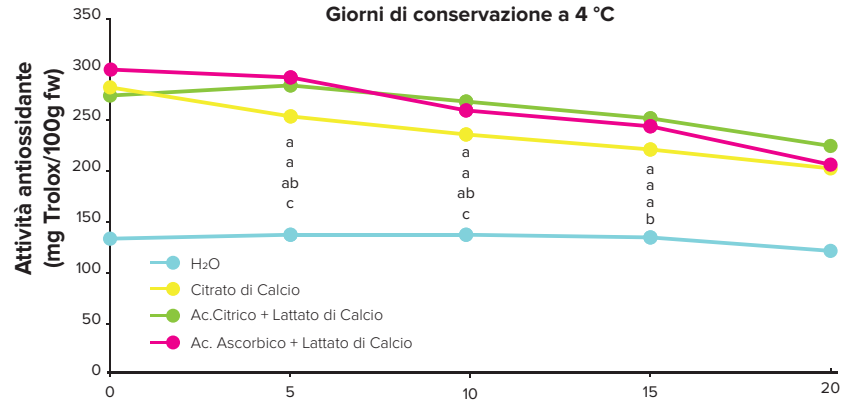


Fig.33 Contenuto di fenoli totali espresso come mg di acido gallico su 100 grammi di prodotto fresco, valutato nel corso della conservazione a 4 °C di carote di Polignano sottoposte a trattamento termico, dipping e confezionate in aria. Valori medi di 3 repliche per campione.

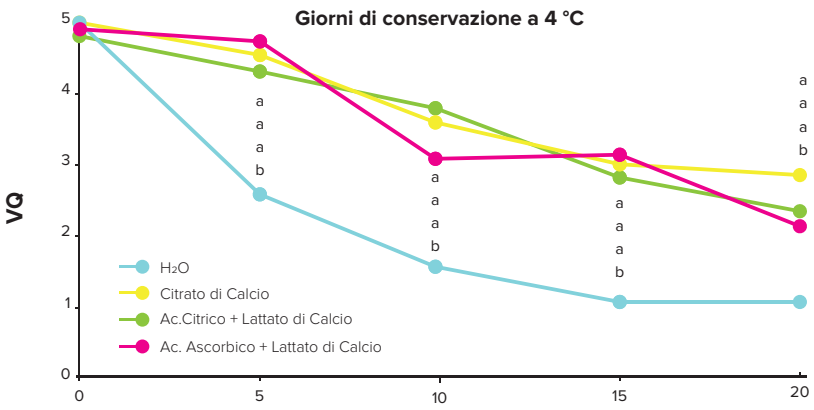
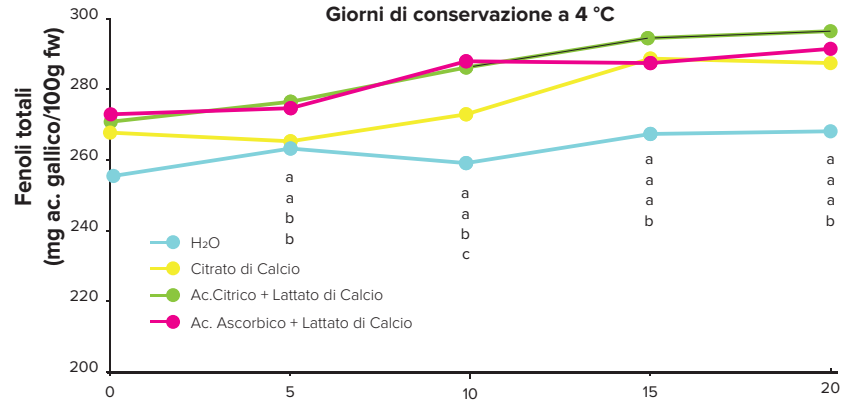


Fig.34 Qualità visiva in carote di Polignano trattate termicamente, sottoposte a dipping, confezionate e conservate a 4 °C.

In **Fig.34** è riportato il grafico che illustra l'andamento della qualità visiva, giudicata da noi operatori durante i prelievi. Appare evidente come il controllo abbia subito un drastico calo del VQ durante la conservazione anche se meno repentino delle stesse carote trattate con il medesimo protocollo e non imbustate. Questo a conferma di come il confezionamento possa ritardare la perdita di qualità durante la conservazione. Tuttavia abbiamo constatato come dal punto di vista visivo le carote risultino commerciabili solo fino al quindicesimo giorno di conservazione. Infine nelle **Fig.35 A, B, C** e **D** sono riportati i giudizi degli assaggiatori relativi ai primi tre prelievi (0, 10 e 15 giorni) in quanto in seguito le cariche batteriche elevate non hanno permesso di rendere commestibile il prodotto. Il controllo è risultato essere il peggiore (**Fig.35 D**) mentre tra i trattamenti di dipping i risultati mostrano come il trattamento con citrato di calcio sia stato quello più gradito dai possibili consumatori (**Fig.35 A**). Anche le carote trattate con acido citrico + lattato di calcio hanno dato buoni risultati (**Fig.35 B**). Sebbene i risultati finali non abbiamo soddisfatto completamente le aspettative previste nel progetto iniziale, bisogna tener presente che le carote di Polignano sono risultate molto più deperibili rispetto all'atteso e, soprattutto, le difficoltà maggiori si sono incontrate nella messa a punto di metodiche che conservassero più a lungo possibili la particolare cromaticità del prodotto. Queste prove sono tuttavia un ottimo inizio ed hanno posto le basi per ulteriori sperimentazioni sulla scorta dei risultati ottenuti.

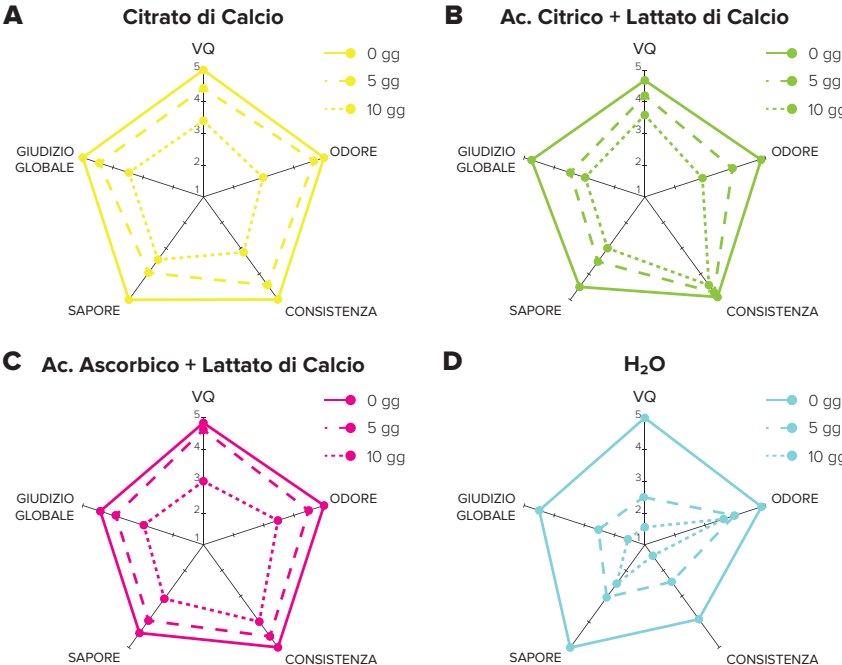
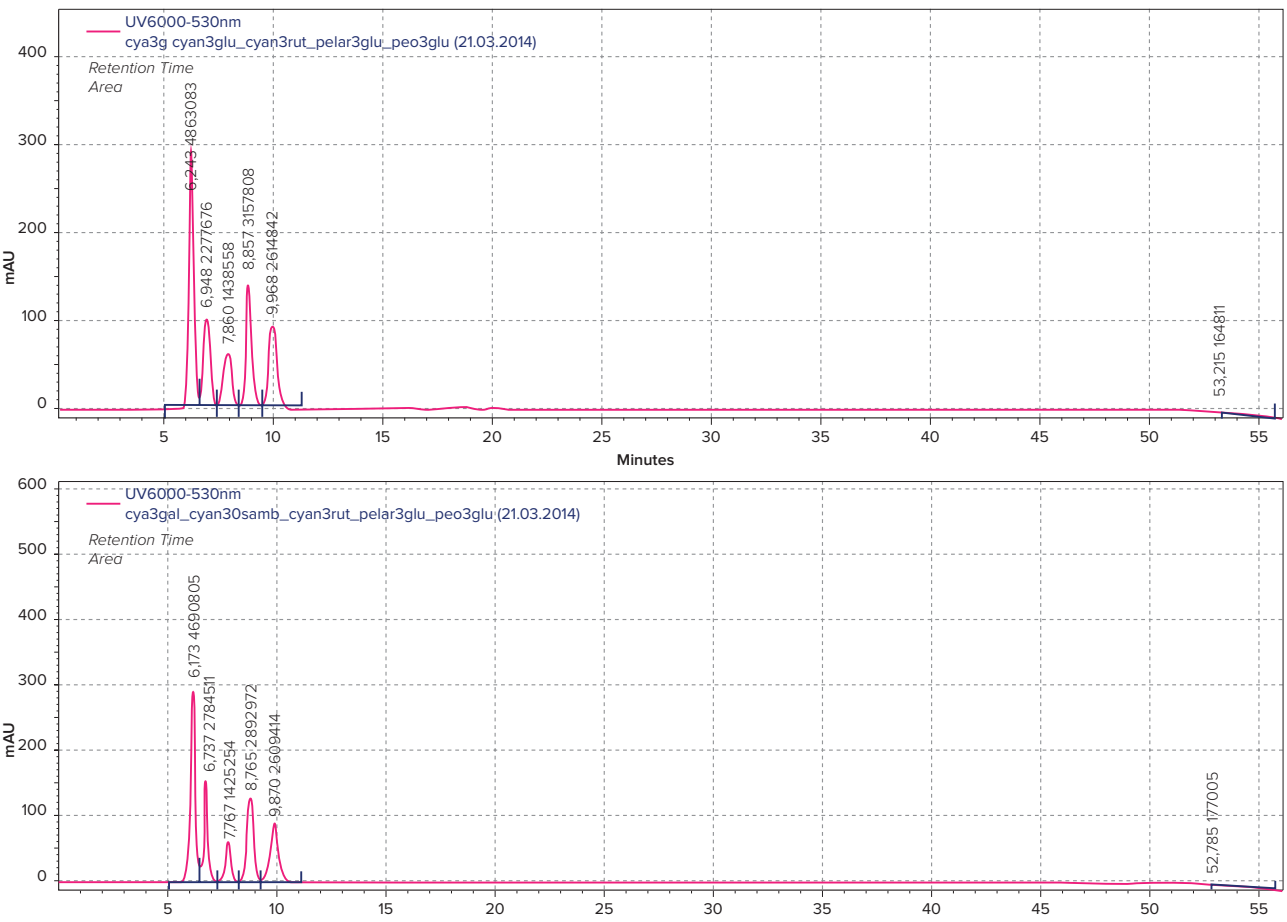


Fig.35 Qualità visiva in carote di Polignano trattate termicamente, sottoposte a dipping, confezionate e conservate a 4 °C.

3.3 Contenuto di Antociani

Al fine di valutare il contenuto di antociani in estratti metanolici acidificati di carota viola di Polignano e dei digeriti, sono stati utilizzati differenti standard, come riportato in materiali e metodi, dall'analisi dei cromatogrammi (**Fig.5**) relativi all'iniezione di mix di standard, non è possibile attribuire il picco allo standard utilizzato, questa problematica è stata ritrovata per tutti gli standard fatta eccezione che per la cianidina3galactoside; i restanti composti sono stati nominati come picco 1, 3, 4 e 5, e sono stati dosati come cianidina3galactoside. Tale problematica è stata ritrovata sia in estratti di carota che in digeriti di carota di Polignano.

Fig.36 Cromatogrammi relativi all'analisi di due mix di standard di antociani



Il contenuto di antociani presenti in campioni di carota viola, riportati in **Tab.6** risultavano essere molto variabili, con un'alta deviazione standard, questa elevata variabilità risulta essere legata al differente spessore della porzione esterna di carota viola. L'andamento **Fig.36**. Cromatogrammi relativi all'analisi di due mix di standard di antociani dei picchi riportato in **Fig.37** e **Fig.38** viene mantenuto sia negli estratti che nei digeriti.

PICCO	ESTRATTO MEOH	DIGERITO
Picco 1	13.38±9.4	1.23±0.46
Cianidina 3 galactoside	39.30±9.47	5.74±3.34
Picco 3	4.42±1.6	0.72±0.22
Picco 4	100.80±23.5	12.03±4.23
Picco 5	20.53±8.74	7.80±1.99
Totale	178.43±40.04	27.54±9.94

Tab.6 Contenuto di antociani presenti negli estratti di carota di Polignano. I valori sono espressi come media ± deviazione standard di 6 esperimenti indipendenti.

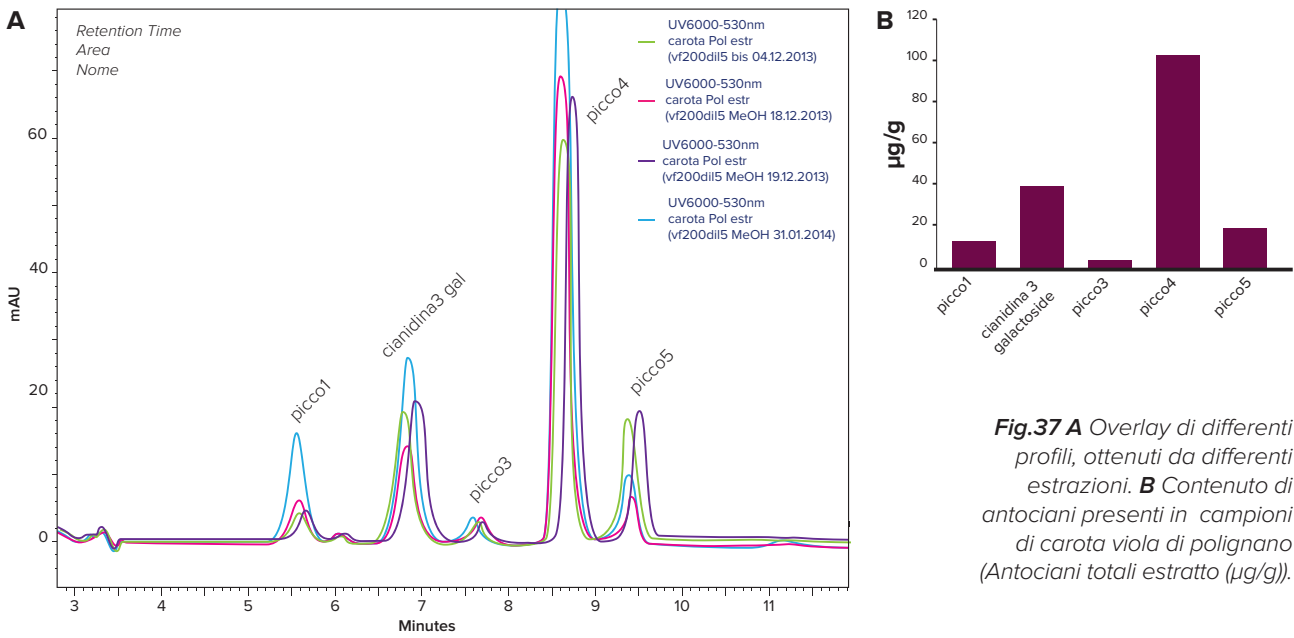


Fig.37 **A** Overlay di differenti profili, ottenuti da differenti estrazioni. **B** Contenuto di antociani presenti in campioni di carota viola di polignano (Antociani totali estratto (µg/g)).

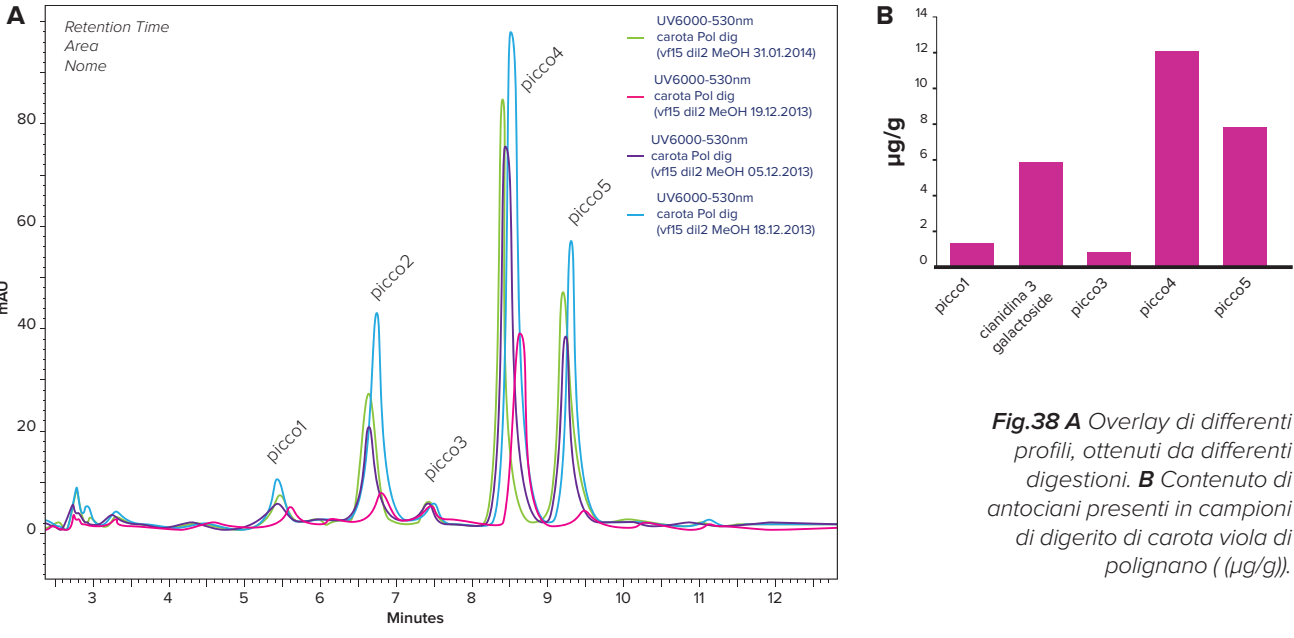


Fig.38 **A** Overlay di differenti profili, ottenuti da differenti digestioni. **B** Contenuto di antociani presenti in campioni di digerito di carota viola di polignano (µg/g).

3.4 Bioaccessibilità degli antociani

La bioaccessibilità degli antociani, definita come la quantità di un nutriente rilasciato, nel tratto gastro-intestinale, durante processo di digestione *in vitro*, risultava essere del 15% per gli antociani totali, del 9% per il picco1, del 15% per la cianidina3galactoside, del 16% per il picco 3, del 12% del picco 4 e del 38% del picco 5, come riportato in **Fig.39**.

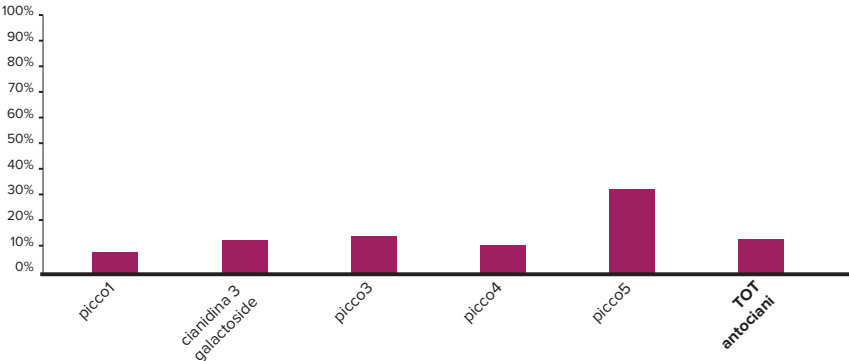


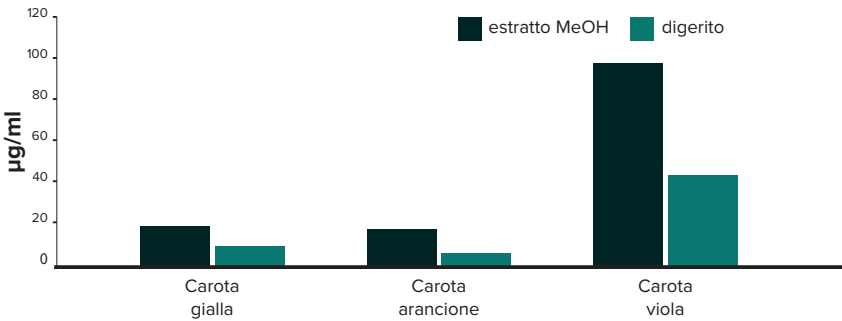
Fig.39 Bioaccessibilità degli antociani. Valori espressi in percentuale, ottenuti dall'analisi di sei digestioni indipendenti.

3.5 Contenuto di fenoli

La quantificazione dei polifenoli effettuata mediante metodo folin ciocal-teu ha messo in evidenza un contenuto di polifenoli altamente variabile, comunque legato al “colore” della carota utilizzata per preparare l’estratto. Il contenuto di polifenoli riportato in **Tab.7**, mette in evidenza un’elevata variabilità nel contenuto di polifenoli nella carota viola, mentre nelle gialla e nella arancione il valore risultava essere particolarmente stabile. I dati della **Tab.7** sono riportati graficamente in **Fig.40**.

COLORE CAROTA	ESTRATTO MEOH mg/100gr fresco	DIGERITO
Gialla	20,11 ± 1,95 a	11,04 ± 4,86 a
Arancione	18,14 ± 1,43 a	7,38 ± 1,05 a
Viola	97,11 ± 20,65 b	43,74 ± 12,73 b

Valori espressi come media ± deviazione standard di n=3 esperimenti indipendenti. Lettere differenti indicano valori statisticamente differenti ottenuti mediante Student’s t-test (p<0.05).



Tab.7 Contenuto di polifenoli presente negli estratti e nei digeriti di carote di Polignano.

Fig.40 Abbattimento della componente fenolica dopo processo di digestione in vitro. Valori riferiti in mg di fenoli su 100 g di peso fresco ed espressi come media di 6 esperimenti indipendenti.

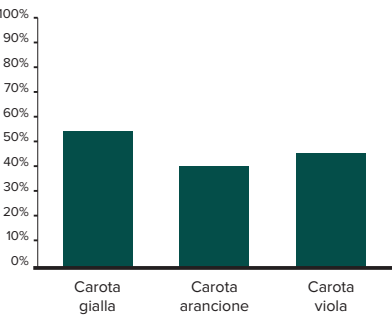


Fig.41 Bioaccessibilità dei fenoli totali dopo processo di digestione in vitro, espressa in valore percentuale.

3.6 Bioaccessibilità fenoli totali

In seguito al processo di digestione in vitro è stata valutata la bioaccessibilità dei fenoli totali, ovvero la quantità di questi nutrienti rilasciati, nel tratto gastro-intestinale, durante processo di digestione in vitro.I risultati sono mostrati in **Fig.41** dove si può vedere come, a seconda del colore della carote, vari la percentuale di fenoli rilasciati dalla matrice.

3.7 Contenuto di carotenoidi

Il contenuto di carotenoidi risultava essere variabile nei tre colori di carota di Polignano; la maggior quantità di carotenoidi ritrovata nelle carote viola potrebbe essere dovuta alla presenza degli antociani, quest’ultimi con effetto antiossidante, quindi di protezione, durante il processo di estrazione. Confrontando i livelli di carotenoidi presenti nella carota di Polignano rispetto ai livelli presenti nella carota commerciale possiamo affermare che la carota di Polignano presenta dei livelli simili alla carota commerciale fatta eccezione per la carota viola di Polignano che presenta dei livelli 3.5 volte più alti rispetto alla carota commerciale. Per quanto riguarda i livelli di carotenoidi presenti nei liquidi di digestione, essi risultavano essere molto simili (non statisticamente differenti); si è riscontrato tuttavia un piccolo incremento nelle carote di Polignano anche se questo non è risultato significativo (**Fig.42**).

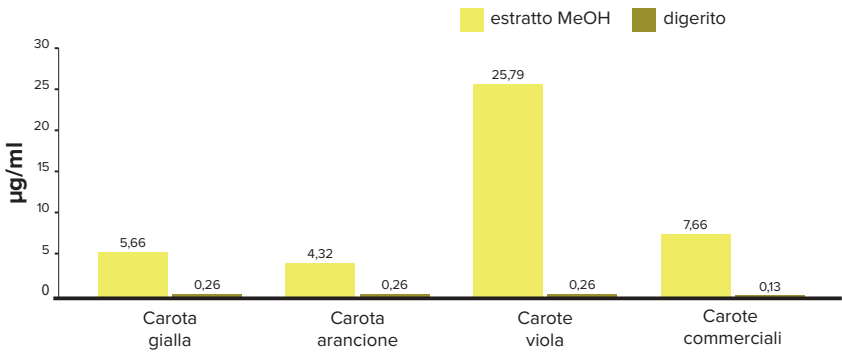


Fig.42 Abbattimento della componente di carotenoidi dopo processo di digestione in vitro. Valori espressi come media di 6 esperimenti indipendenti.

3.8 Bioaccessibilità carotenoidi

La bioaccessibilità, definita come la quantità di un composto bioattivo rilasciato durante il processo di digestione, risultava essere maggiore nella carota di Polignano arancione (5.01%) seguita dalla carota gialla (4.6%) e in fine dalla viola (1%). La carota commerciale presentava una bioaccessibilità 1.75 % (**Fig.43**). Non sono state ritrovate differenze statisticamente significative e ciò potrebbe essere dovuto alla elevata variabilità e deperibilità del campione; tuttavia una percentuale compresa tra 5.01-4.6% risulta essere un risultato ottimo, in quanto conferma che i carotenoidi della carota di Polignano presenti nella carota gialla e arancione, risultano essere altamente bioaccessibili se rapportati ai valori della carota commerciale venduta nei nostri mercati.

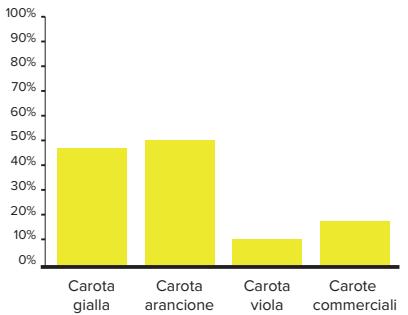


Fig.43 Bioaccessibilità percentuale dei carotenoidi dopo processo di digestione in vitro. Valori relativi alle carote gialle (1), arancioni (2), viola (3) e carote commerciali (4).

3.9 Contenuto di iodio

I risultati medi riguardanti il contenuto di iodio presente nelle carote di Polignano sono riportati in **Tab.8**. I livelli di iodio ritrovati nei campioni di carota di Polignano risultano essere particolarmente alti: in letteratura è riportato come il contenuto di iodio in carota non risulta essere mai superiore a 15 µg/kg di peso fresco; tale risultato risulta essere molto importante in quanto la carota di Polignano potrebbe rappresentare un valido alimento per la lotta alle patologie tiroidei, legate a carenze di iodio nell’alimentazione.

	Tesi	µg/100gr secco	µg/100gr fresco	µg/kg fresco
Campo	0	584±33	58±5.9	589

Tab.8 Contenuto di iodio in campioni di carota di Polignano (n=3)

3.10 Bioaccessibilità iodio inorganico

La bioaccessibilità dello iodio è riportata in **Tab.9** La bioaccessibilità ritrovata (0.11%) risulta essere particolarmente bassa per un elemento minerale come lo iodio, tuttavia l’elevata quantità presente in tale vegetale lo rende un alimento consigliato per i soggetti con carenze nutrizionali di iodio.

TESI	gr DIGERITO (liofilizzato)	DILUIZIONE	BIOACCESSIBILITÀ %
Mix carote di Polignano	0,6	2	0,11

Tab.9 Bioaccessibilità relativa allo iodio.riportata come valori medi di tre esperimenti di digestione in vitro.

4.0 PROGETTO GRAFICO

4.1 ARIA, Identità e Logo

Nella fase iniziale del progetto è stata individuata la mission dell'associazione dalla quale sono state estrapolate le parole chiave per il concept del logo dell'associazione.

Mission: "A.R.I.A. opera per fini scientifici, culturali ed educativi per l'esclusivo soddisfacimento di interessi collettivi. In particolare, si propone: la salvaguardia e la valorizzazione dei prodotti agroalimentari, espressione del territorio della Regione Puglia; la promozione della ricerca scientifica e delle sue applicazioni tecniche nei vari settori dell'agricoltura, industria alimentare o agroalimentare, dell'ambiente, dell'alimentazione e dello sviluppo sostenibile e, infine, l'attivazione di una rete di collaborazioni con enti pubblici e privati."

Dopo una prima analisi si è deciso di escludere dal logo qualsiasi elemento tecnologico o legato all'industria in favore di quelli più legati alla natura e all'idea di benessere. Le idee e le parole prescelte sono state sintetizzate in due immagini iconiche (**Fig.44**) successivamente sintetizzate nel logo:



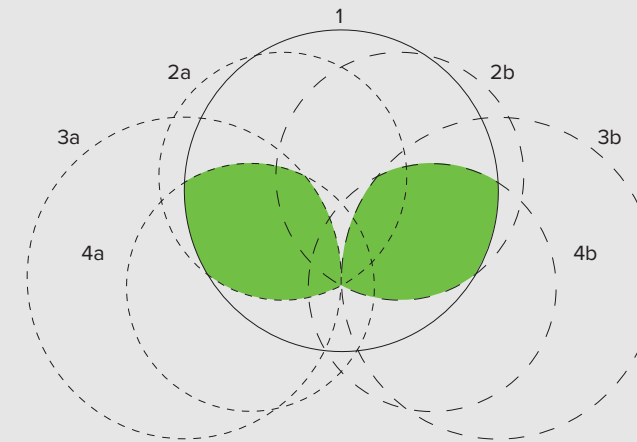
Fig.44 immagine iconiche a partire dalle quali è stato progettato il logo.

La Farfalla, preziosa e delicata bellezza della natura, rappresenta la metamorfosi, il **mutamento che arricchisce e migliora**. Come la farfalla, anche gli alimenti possono subire successive lavorazioni che possono esaltarne le qualità senza comprometterne la naturalezza.

I germogli sono icona di nascita e di tutto quello che è connesso alla natura e al biologico. Il germoglio, sintetizzato in due piccole foglie accostate, diventa elemento che rimanda alla natura e rafforza l'idea di un'associazione che opera sulla natura in favore della natura.



Colori istituzionali scelti per l'associazione: grigio (testi e rifiniture) bianco su verde 368 o blu 7694 per il logo.



Generazione delle due foglie del logo tramite l'intersezione di 7 circonferenze



Disegno dell'acronimo ARIA sulle foglie, disegnato ad hoc per simulare "l'occhio della farfalla"

Fedra Sans Std
font family per
A.R.I.A.
Associazione per la Ricerca e l'Innovazione Agroalimentare

Carattere istituzionale dell'associazione:
Fedra Sans Std Bold
Fedra Sans Std Normal
Fedra Sans Std Book
Fedra Sans Std light



Associazione per la **R**icerca e l'**I**nnovazione **A**groalimentare

Logo di ARIA definitivo composto da due foglie/ali speculari e l'acronimo

4.2 Immagine Coordinata

Progettato il logo si è proceduto con la realizzazione dell'immagine coordinata (**Fig.45**), con lo scopo di dare un'immagine unica e riconoscibile all'associazione per promuoverne la crescita. Sono stati realizzati: la cartellina, la carta intestata per documenti e il blocco di fogli per appunti (bianco), la busta per lettere e i biglietti da visita in doppio colore. I colori scelti per l'immagine sono, come per il logo:

- il **Pantone blu 7694 C**, evocando tranquillità e calma, trasmette affidabilità, responsabilità e stabilità e infondere fiducia e sicurezza;
- il **Pantone verde 368 C**, nelle sue gradazioni più accese è vivace e amichevole ed è anche il colore della natura e dell'ecologia.



Fig.45 immagine coordinata: cartellina, carta intestata per documento e per appunti, biglietti da visita e busta.

4.3 Pieghevoli

L'esperto di comunicazione ha progettato anche due pieghevoli per far conoscere il primo progetto di ricerca condotto da A.R.I.A., **Radici di Puglia** (**Fig.46** e **47**). Questi pieghevoli sono stati distribuiti in alcuni convegni scientifici, tra cui alcuni di rilevanza internazionale come il *7th International Immunonutrition Workshop* (**Fig.48 A e B**), per promuovere anche in ambito scientifico il progetto di ricerca e la carota di Polignano.

Il design dei pieghevoli, pur conservando tratti fondamentali dell'identità di A.R.I.A. (come font e motivi decorativi), presenta nuovi colori per legare l'artefatto grafico alle Carote di Polignano, oggetto della ricerca, dando rilevanza alla riconoscibilità prodotto più che alla brand awareness.



Fig.46 Imperatrice Capotorto alla postazione di "Radici di Puglia" al Principi Attivi Camp2013



Fig.47 Primo volantino, disegnato per Principi Attivi Camp 2013.



Fig.48 A Secondo volantino, destinato alla divulgazione in campo scientifico (frone retro). **B** Volantino aperto in cui è più evidente il taglio obliquo.

4.4 Radici di Puglia

Nella fase finale è stato progettato il packaging per la presentazione del prodotto. Durante l’analisi e concept sono state evidenziate alcune necessità:

- la visibilità del prodotto (per esibire il sui peculiari colori);
- a presenza di un elemento grafico che evocasse l’origine geografica delle carote.
- Infine si pensava ad un imballaggio semplice ed economico che l’aggancio fosse svolto dai colori del pack e delle carote.



Fig.49 Mock-up del packaging, riempito con Carote di Polignano essiccate.



Per il processo di imballaggio, dopo i bagni e il trattamento termico, le carote vengono confezionate in sacchetti trasparenti che permettono di conservare la naturale croccantezza e allo stesso tempo lasciano visibili i colori vivaci delle carote tagliate a rondelle. il sacchetto viene poi avvolto da un imballaggio di cartone leggero e ruvido, color avorio, che lascia visibili le carote sui due lati e frontalmente attraverso un taglio a forma di carota (Fig.49 e 50). Questo secondo imballaggio contiene, fatta eccezione per la scadenza, tutte le informazioni relative al prodotto, immagini evocative, tabelle nutrizionali, istruzioni per lo smaltimento, ecc.



Paletta colori utilizzata per il packaging di “Radici di Puglia”

VALORI NUTRIZIONALI**	per 100 g	%RI*
Vitamina A (Retinolo)	800 µg	57%
Calcio	800 mg	24%
Iodio	150 µg	12%
Carboidrati	710 mg	27%
Grassi	16 mg	2,3%

* %RI Assunzione di riferimento per un adulto medio
** I dati in tabella non sono reali, servono unicamente per la presente simulazione dell'imballaggio

Etichetta, avanti evidenzia il nome del prodotto, sul retro contiene la tabella dei valori nutrizionali



Stilizzazione tramite ricalco dinamico dell'Abbazia di San Vito di Polignano, per rimandare al luogo d'origine del prodtto.



Fig.50 Fronte e retro del Mock-up del packaging.

5.0

CONCLUSIONI

Il progetto ha rappresentato un punto di partenza per la realizzazione di un prodotto commerciale, sebbene gli obiettivi prestabiliti sono stati solo in parte raggiunti, la caratterizzazione del prodotto fresco e la valutazione della bioaccessibilità dei principali composti bioattivi consentono di elevare il profilo qualitativo della carota di Polignano. La sperimentazione non si fermerà a questi risultati: con l'arrivo della nuova stagione di raccolta delle carote di Polignano pensiamo infatti di continuare le prove sperimentali al fine di realizzare un prodotto finito. Inoltre, portandoci avanti con la tabella di marcia, abbiamo chiesto ad un esperto del settore di realizzare un prototipo del prodotto finito; in questo modo avremo la possibilità di rendere più "appetibile", per le aziende, un eventuale brevetto. Al di là dei risultati ottenuti e dei possibili sbocchi futuri, questa esperienza ci ha dato molto più di quello che avremmo potuto immaginare: Principi Attivi 2012 ha rappresentato per noi un'occasione per metterci alla prova nella gestione non solo dell'attività di ricerca ma soprattutto nel management economico, consentendoci, seppure in piccolo, di avere un'idea della gestione di una società. In ultimo, ma non meno importante, con questo finanziamento la Regione Puglia ci ha consentito di contribuire alla tutela del nostro territorio, offrendoci la possibilità di dare un valore aggiunto ad un prodotto di nicchia della nostra amata Puglia.

Fig.51 Carote di Polignano fresche, viola e gialle

