

IZS Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

**Shelf-life
e
Challenge test**

Le due facce della medaglia
Luigi Lanni

Aggiornamento sulle attività sperimentali ed istituzionali
Direzione Operativa Controllo degli Alimenti




IZS Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Overview

Documenti di riferimento

Documenti di orientamento

Generalità (fenomeni, tecnologie, processi, prodotti)

Progettazione

Esecuzione


Risultati

Report

Valutazioni

Shelf-life

Challenge test



L'approccio in ambito di sicurezza alimentare.

Precedentemente: modello basato sul **controllo di prodotto**, operato mediante il controllo/ispezione di **requisiti dettagliati**, campionamento ed l'analisi

Attualmente: il controllo è indirizzato alla **verifica** del raggiungimento di **specifici obiettivi** stabiliti in base all'analisi del rischio

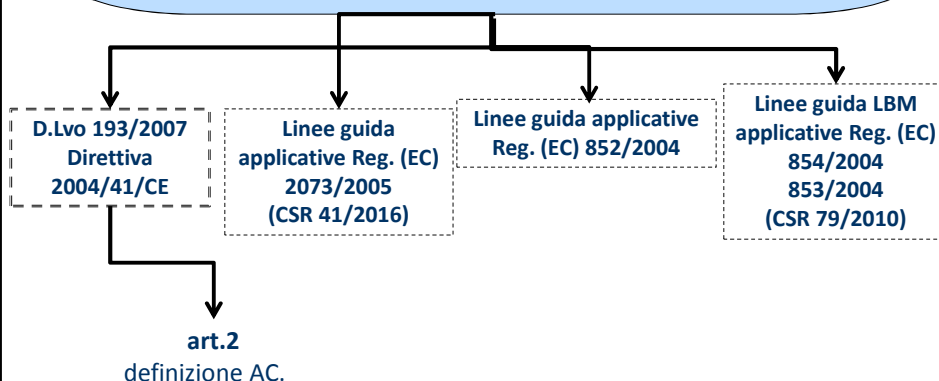
maggior flessibilità ma

F.B.O.

C.A.



Implementing acts - National level



Volontari**International Organization for Standardization**

ISO/UNI - metodi microbiologici

UNI EN ISO 10012:2004 Requisiti per i processi e le apparecchiature di misurazione**ISO 23953 - 1 e 2:2005/Amd 1:2012** (Mobili refrigerati per esposizione e vendita Parte 1: Vocabolario; Parte 2: Classificazione, requisiti e condizioni di prova**ISO 21807:2004** (Determination of water activity)**Canadian Laboratory Procedure MFLP-63:2006** [measuring water activity (aw) using the novasina aw center]**Canadian Laboratory Procedure MFLP-63:2006** determination of the pH of foods including foods in hermetically sealed containers**Guidance on the implementation of articles 11, 12, 14, 17, 18, 19 and 20 of Regulation (EC) n° 178/2002 on general food law****Guidance document on the implementation of certain provisions of Regulation (EC) No 852/2004 On the hygiene of foodstuffs****Guidance document on the implementation of certain provisions of Regulation (EC) No 853/2004 on the hygiene of food of animal origin****GUIDANCE DOCUMENT** Key questions related to import requirements and the new rules on food hygiene and official food controls**GUIDANCE DOCUMENT** on *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods, under Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs



Development of a set of *Listeria monocytogenes* strains for conducting challenge tests

EURL *Lm* TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods



Hygiène et sécurité des produits alimentaires Lignes directrices pour la réalisation des tests de croissance microbiologiques

Hygiène des aliments Lignes directrices pour la réalisation de tests de vieillissement microbiologique



Generalità
(fenomeni, tecnologie, processi, prodotti)

applicabili a shelf-life e Challenge-test



Normativi

Regolamento CE 2073/05 smi;

Regolamento CE 853/04smi;

Regolamento CE 854/04 smi;

Regolamento CE 882/05 smi;

Regolamento UE 1169/2011 smi

*In relazione al prodotto ed alla tematica fare riferimento a
normative specifiche di settore*



Regolamento CE 178/2002 art. 2

alimento (o "prodotto alimentare", o "derrata alimentare") **qualsiasi sostanza o prodotto trasformato, parzialmente trasformato o non trasformato, destinato ad essere ingerito, o di cui si prevede ragionevolmente che possa essere ingerito, da esseri umani.**

Non sono compresi:

a) i mangimi;

b) gli animali vivi, a meno che siano preparati per l'immissione sul mercato ai fini del consumo umano;

c) i vegetali prima della raccolta;





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

alcune definizioni

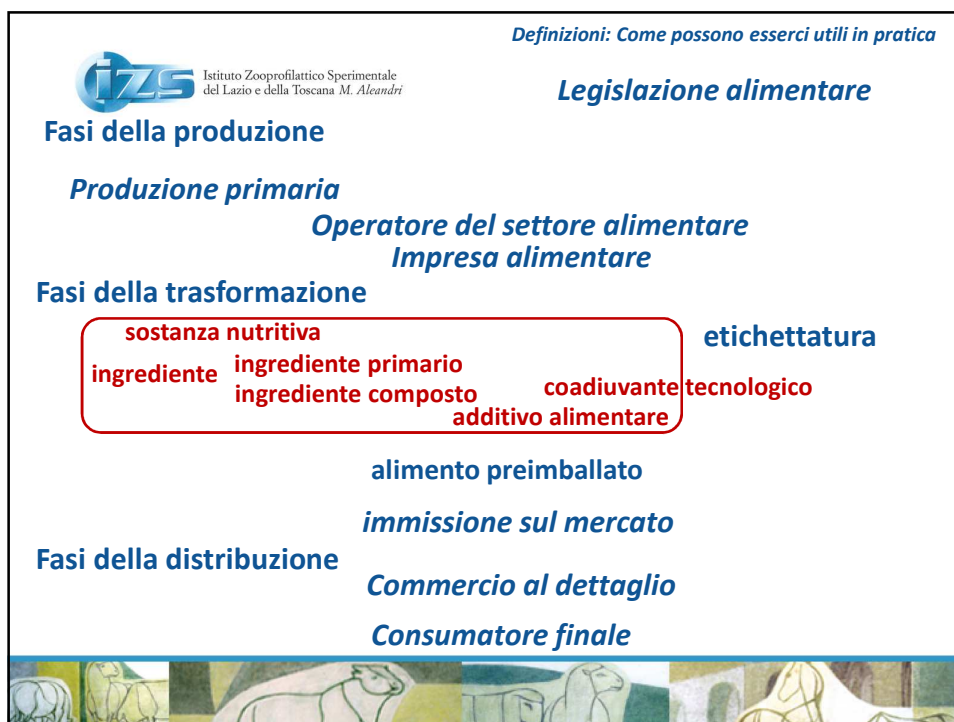
Regolamento CE 1169/2011 con riferimento al Regolamento CE 178/2002	
Legislazione alimentare	art. 3 p.to1
Impresa alimentare	art. 3 p.to2
Operatore del settore alimentare	art. 3 p.to3
Commercio al dettaglio	art. 3 p.to7
immissione sul mercato	art. 3 p.to8
Fasi della produzione, della trasformazione e della distribuzione	art. 3 p.to16
Produzione primaria	art. 3 p.to17
Consumatore finale	art. 3 p.to18



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Regolamento CE 1169/2011	
<u>additivo alimentare</u>	art. 2 p.to1(d) → Reg 1333/08 art. 3 p.to2(a)
<u>Coadiuvante tecnologico</u>	art. 2 p.to1(d) → Reg 1333/08 art. 3 p.to2(b)
alimento preimballato	art. 2 p.to1(e)
sostanza nutritiva	art. 2 p.to1(s)
etichettatura	art. 2 p.to1(j)





produrre alimenti
o
«migliorare/variare» alimenti già prodotti

- a) acquisizione di nuovi mercati e clienti
- b) migliorare il soddisfacimento delle aspettative;
- a) rispetto/modifiche degli standard di prodotto e/o processo;
- b) normative cogenti ed eventualmente volontarie.



**Della composizione di un alimento cosa
può esserci utile?**

• Vitamine

- Proteine e aminoacidi
- Carboidrati
- Grassi e acidi grassi
- Alcool
- Acqua (Umidità)
- Materia secca e cenere
- Minerali ed elementi in tracce
- Vitamina A
- Vitamina D
- Vitamina E
- Vitamina K
- Tiamina (vitamin B1)
- Riboflavina (vitamin B2)
- Niacina
- Vitamina B6
- Folati
- Biotina
- Acido Pantotenico
- Vitamina B12
- Vitamina C





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

*un approccio per lo studio sperimentale
.....da dove iniziare?*

**PUNTEGGI ASSEGNATI PER UNA VALUTAZIONE DEL RISCHIO ALCUNE CATEGORIE
DI ALIMENTI**

prodotto CARNI	cat.	punt.	destin. uso	punti
prodotti a base di carne fermentati con $a_w < 0,95$ e $pH < 5,2$	B	15	RtoEat	30
prodotti a base di carne semi-essiccati - Rapporto umidità/proteine = 3,1:1 e $pH < 5$	B	15	RtoEat	30
prodotti a base di carne cotti (mortadella, wurstel, prosciutti, ecc.)	B	15	RtoEat	30
paste farcite confezionate (se hanno subito un processo equivalente alla pastorizzazione)	B	15	Cooked	15
prodotti a base di carne crudi salmistrati con $a_w > 0,92$	C	30	RtoEat	30
			RtoEat	30
salsiccia	D	50	Cooked	15
affettati (in atmosfera modificata, sottovuoto)	D	50	RtoEat	30



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

*fissare gli argomenti da sviluppare/approfondire
«studio sperimentale»*

- 1. Normativa di riferimento** (Regolamenti, norme nazionali)
- 2. Elementi comporranno un alimento**
- 3. Processo di produzione** (serie di fasi che portano da A a Z)
- 4. Fase di processo** (A_1 , A_2 , A_3 , ecc.)
- 5. Operazioni Unitarie** (Tecnologia applicata alla fase di processo es. freddo, calore, ecc)
- 6. Apparecchiatura per l'applicazione di una specifica tecnologia** (es. sterilizzazione a vapore, freddo, UV)
- 7. Caratteristiche dell'apparecchiatura in uso** (F_0)



8. **Tecnologica Confezionamento** (es. ATM, vuoto)
9. **Crescita o riduzione logaritmica**
10. **Scadenza** (da consumarsi entro il o preferibilmente entro il)
11. **Approccio alla valutazione del rischio per il prodotto alimentare**

Caratteristiche generali dei microrganismi in funzione degli ingredienti, dei processi, delle tecnologie applicate e dei fenomeni che intervengono.



Composizione di un alimento ed utilizzo delle informazioni raccolte

Tecnologie di produzione

applicabili

non applicabili

Interazione naturale tra componenti

Degradazione naturale dei componenti

Trasformazione dei componenti durante un processo

Degradazione dei componenti durante un processo





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Composizione di un alimento

Reperire le informazioni, utilizzo e loro limiti



Composizione_alimenti



PRINCIPALI CAUSE DI ALTERAZIONE

PRINCIPALI CAUSE DA INTERAZIONE

cosa considerare

MICROORGANISMI

ENZIMI

OSSIGENO e LUCE

TEMPERATURA

Durante e termine processo

OPERAZIONI

IN GRADO DI DISTRUGGERE,
INIBIRE, RALLENTARE
L'AZIONE DELL'AGENTE
ALTERANTE

CONFEZIONAMENTO

TECNOLOGIE IN GRADO DI
INIBIRE, RALLENTARE
L'AZIONE DELL'AGENTE
ALTERANTE

COMMERCIALIZZAZIONE



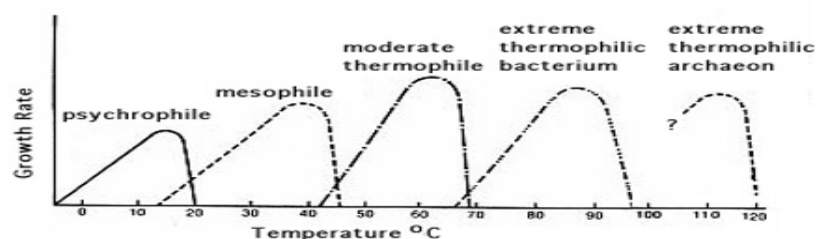


Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

MICROORGANISMI

**Degradazione dei
principi alimentari a
scapito del valore
nutritivo e sensoriale**

- Trattamento al calore
- Refrigerazione – congelamento – surgelazione
- Disidratazione
- Aggiunta di zucchero – alcool – sale – aceto – ecc.
- Conservanti



Temperatura minima, massima e ottimale di crescita



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

<http://textbookofbacteriology.net>

Bacterium	Minimum	Optimum	Maximum
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	30-37	45
<i>Vibrio marinus</i>	4	15	30
<i>Pseudomonas maltophilia</i>	4	35	41
<i>Thiobacillus novellus</i>	5	25-30	42
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	30-37	45
<i>Escherichia coli</i>	10	37	45
<i>Clostridium kluyveri</i>	19	35	37
<i>Streptococcus pyogenes</i>	20	37	40
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	25	37	42
<i>Bacillus flavothermus</i>	30	60	72
<i>Thermus aquaticus</i>	40	70-72	79
<i>Methanococcus jannaschii</i>	60	85	90
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i>	70	75-85	90
<i>Pyrobacterium brockii</i>	80	102-105	115



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

CRESCITA MICROBICA

Assunto

Durante la fase esponenziale il microorganismo si divide ad intervalli costanti

Tempo di duplicazione (generazione) è il tempo necessario perché vi sia un raddoppio della popolazione microbica durante la fase esponenziale.

N_0 : popolazione microbica iniziale

N_t : popolazione microbica al tempo t

n : numero di generazioni al tempo t

necessario operare con VALORI LOGARITMICI



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Crescita o Riduzione dei microrganismi in un alimento

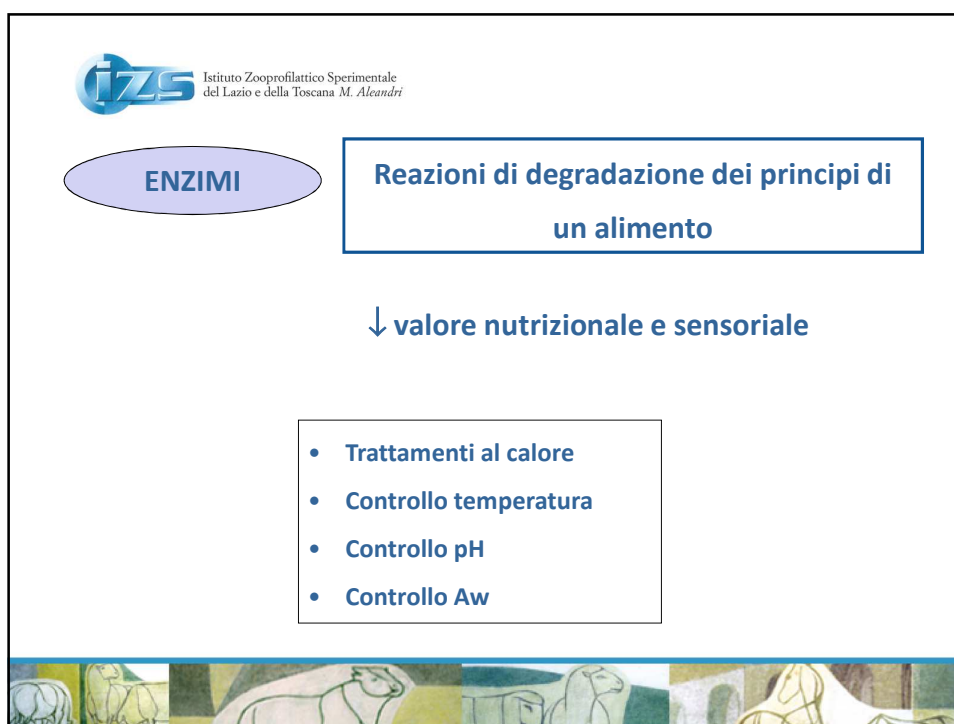
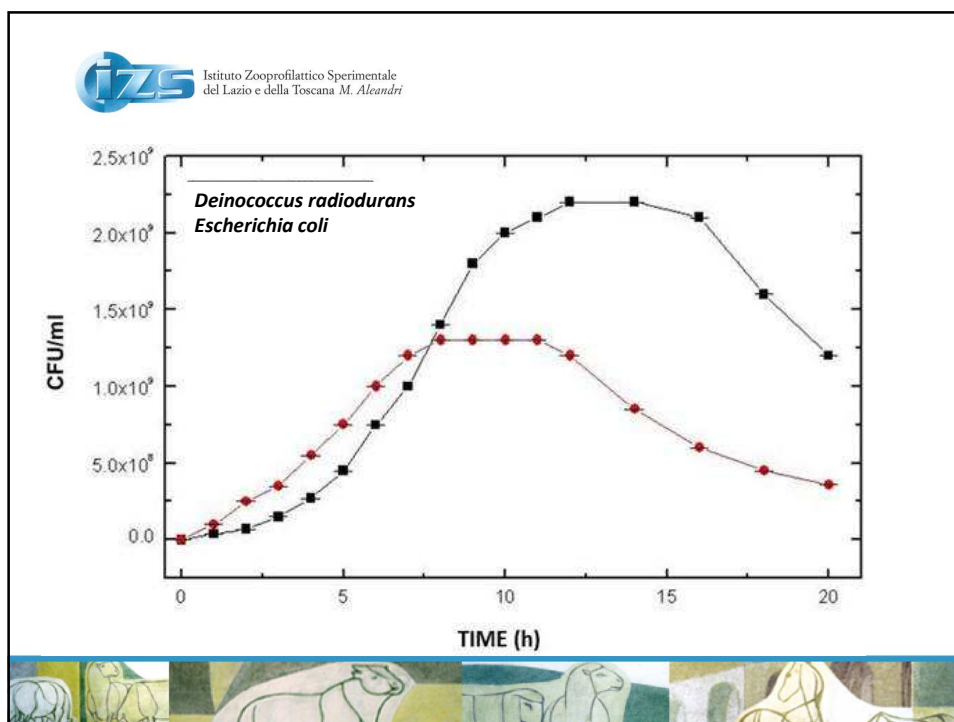
Situazione ottimale

Cell	Time min
1	0
2	20
4	40
8	60
16	80
32	100
64	120
128	140
256	160
512	180

Situazione osservata

Cell	Time ore
5	0
8	1
14	2
22	3
37	4
61	5
100	6
166	7
273	8
450	9





OSSIGENO e LUCE

Reazioni di degradazione dei principi alimentari

↓ valore nutrizionale, sensoriale, stabilità

- Disareazione
- Confezionamento sotto vuoto o atmosfera protettiva
- Uso di contenitori ermetici e impermeabili ai gas e/o luce
- Aggiunta di anti ossidanti



I prodotti nell'ottica industriale

Materie prime

riferibile ai **prodotti in entrata** prima di entrare a far parte di un processo. Successivamente le materie prime vengono **abbinate con altri ingredienti**, per essere sottoposte a lavorazione (manipolazioni) e/o trasformazione in prodotti intermedi per poi diventare «prodotti finiti»

Semi Lavorati (prodotti intermedi)

Prodotti ottenuti da manipolazioni e/o trasformazioni delle materie prime.

Non sono ancora prodotti finiti e non sono oggetto di commercio

Prodotti finiti

Prodotti ottenuti dalla trasformazione e/o conservazione di materie prime o semi lavorati e destinati al consumo. **Sono oggetto di commercializzazione (alimento).**

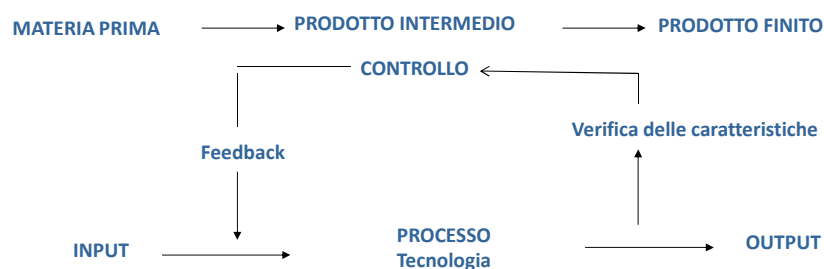




Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

I processi nell'ottica industriale

Insieme di operazioni, materiali, attività e controlli che sono messi in atto per trasformare un INPUT in un OUTPUT.



Qualunque processo richiede un **controllo**, poiché le caratteristiche del prodotto devono essere **conformi a standard prestabiliti**. Se gli standard non sono quelli definiti si deve **intervenire sul processo** che genera l'output.



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Processo tecnologico

Costituito da **operazioni in sequenza** applicate ad una o più materie prime e ordinate secondo un definito lay-out tecnologico. L'output (prodotto finito e/o di fase) è la risultanza di tutte le trasformazioni che la materia prima ha subito durante l'intero processo.

Obiettivi

- Produrre nuove materie prime per altre industrie
- Produrre alimenti a partire da materie prime combinate e/o trasformare materie prime ed ingredienti
- Aumentare la conservabilità della materia prima – semi lavorato – prodotto finito (shelf life) – Ridurre la crescita di microrganismi indesiderati (Challenge-test)





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Requisiti qualitativi

Sicurezza alimentare

Rispetto dei limiti fissati dalla normativa di riferimento (sostanze tossiche naturali, parassiti, patogeni, pesticidi, contaminanti chimici, residui farmacologici, materiali a contatto, allergeni)

Nutrizionali

Apporto calorico – micronutrienti - macronutrienti

Sensoriali

Aspetto, colore, odore, aroma, gusto, consistenza

Stabilità “nel tempo”

Igiene, nutrienti, struttura, sensoriali, funzionale, tecnologica



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Shelf life definition

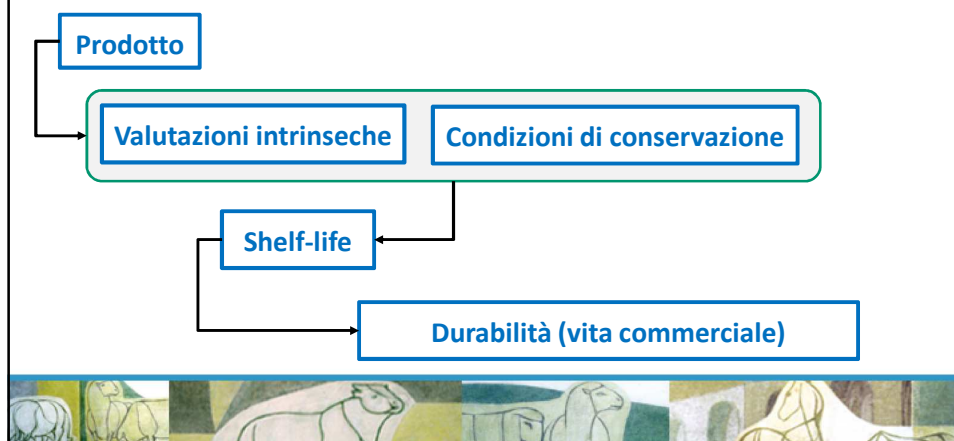
SANCO/1628/2008 ver. 9.3

The **shelf-life** is defined as a period of time for which a product remains safe and meets its quality specifications under expected storage and use. The **shelf-life determines the durability date** and is expressed as a "use by" or "best before" date in a product as described in Articles*omissis*

La **vita commerciale** è definita come il periodo di tempo per il quale un prodotto resta sicuro e mantiene le sue specifiche qualità durante lo stoccaggio e l'utilizzo previsto. La **vita commerciale determina la scadenza** che è espressa sull'etichetta di un prodotto come "da consumarsi entro" o "da consumarsi preferibilmente entro", come descritto negli articoli *omissis*



The FBO is responsible for setting the shelf-life under defined conditions, which should **take into account reasonably foreseen conditions of distribution, storage and use.**



condizioni ragionevolmente prevedibili

- *Vita di scaffale*
- *Vita commerciale di un alimento confezionato*

«Il periodo di tempo che corrisponde, in determinate circostanze, ad una tollerabile diminuzione di qualità dell'alimento confezionato»

packaging scientist, food scientist, responsabile della logistica indispensabili per

- *ottimizzare packaging;*
- *studiare i meccanismi e modificazioni nel tempo;*
- *valutare condizioni (trasporto, logistica e distribuzione);*
- *stabilire la scadenza;*



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Alcuni esempi pratici



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

shelf-life (conservabilità):

specifiche di qualità

condizioni di conservazione ed utilizzo ragionevolmente previste

Durability test (test di durata):

condizioni di conservazione ed utilizzo previste

Reliability test (test di affidabilità):

condizioni di conservazione ed utilizzo reali in campo






alcuni input pratici e risultati
Prodotti – Processi - Conservazione

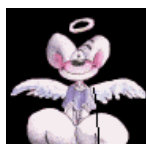
“Shelf Life packaging dipendente”

- *quali microrganismi possiamo ricercare?*
- *tutti i prodotti o prodotto rappresentativo di categoria di prodotti?*
- *Temperature di conservazione ragionevolmente previste*
- *flora microbica in relazione alle temperature?*
- *La conservazione è fortemente condizionata dalle prestazioni degli imballaggi ?*



• quali microrganismi possiamo ricercare?


Procedure_&_Co
mBase



Aeromonas caviae
Aeromonas hydrophila
Aeromonas sobria
Bacillus spoilage bacteria
Bacillus cereus
Bacillus licheniformis
Bacillus subtilis
Brochothrix thermosphacta
Clostridium botulinum (non-prot.)
Clostridium botulinum (prot.)
Campylobacter
Clostridium perfringens
Escherichia coli
enterobacteriaceae
lactic acid bacteria
Listeria monocytogenes/innocua
Paenibacillus odorifer
Photobacterium phosphoreum
pseudomonads
psychrotrophic bacteria
Staphylococcus aureus



Matrice: Salmo salar
Prodotto: salmone affumicato
Categoria di prodotti: baffa e tranci

Regione ventrale (ventresca)

- **forma:** rettangolare
- **spessore:** non omogeneo e maggiore verso la parte dorsale. Decresce assottigliandosi verso la regione ventrale



- **fasce muscolari:** parallele e relativamente fragili. Tenore in grasso maggiore rispetto alle restanti parti anatomiche
- **commerciali:** gusto marcato, oleosità apprezzata maggiore risalto dell'affumicatura. Fragile (fasce muscolari).



Composizione chimica	Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione		United States Department of Agriculture Agricultural Research Service		Danish Food Composition	
	Fresco	Affumicato	Raw	Smoked	Salmon, raw	Salmon, smoked
	valore per 100g	valore per 100g	Value per 100 g	Value per 100 g		
Parte edibile (%):	65	100				
Acqua (g):	68	64.9	71.64	72.00		
Proteine (g):	18.4	25.4	19.93	18.28	19,9	21,4
Lipidi(g):	12	4.5	10.43	4.32	10,9	8,4
Fatty acids, total saturated			3.100	0.929	2,4	1,6
Fatty acids, total monounsaturated			4.399	2.023	3,6	2,7
Fatty acids, total polyunsaturated			2.799	0.995	3,7	3,4



• *Temperature di conservazione ragionevolmente previste*



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Table 3: Flow diagram of storage (incubation) conditions

* Temperature justified by detailed information* 8°C - 12°C





Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

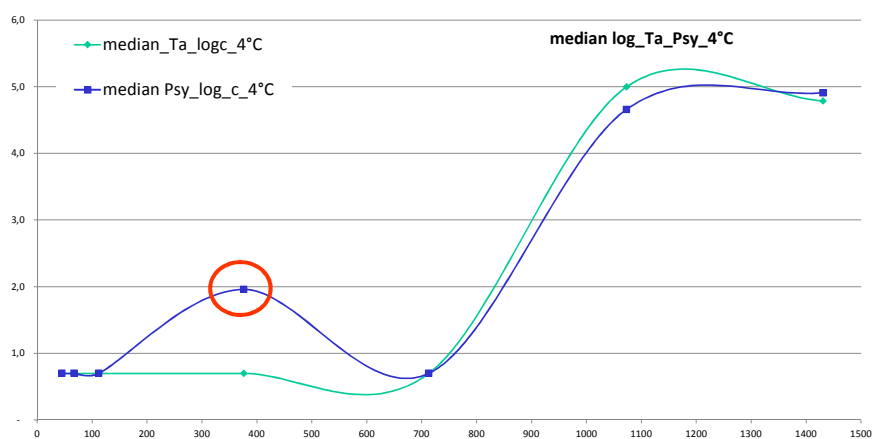
tabella 4: limiti di riferimento

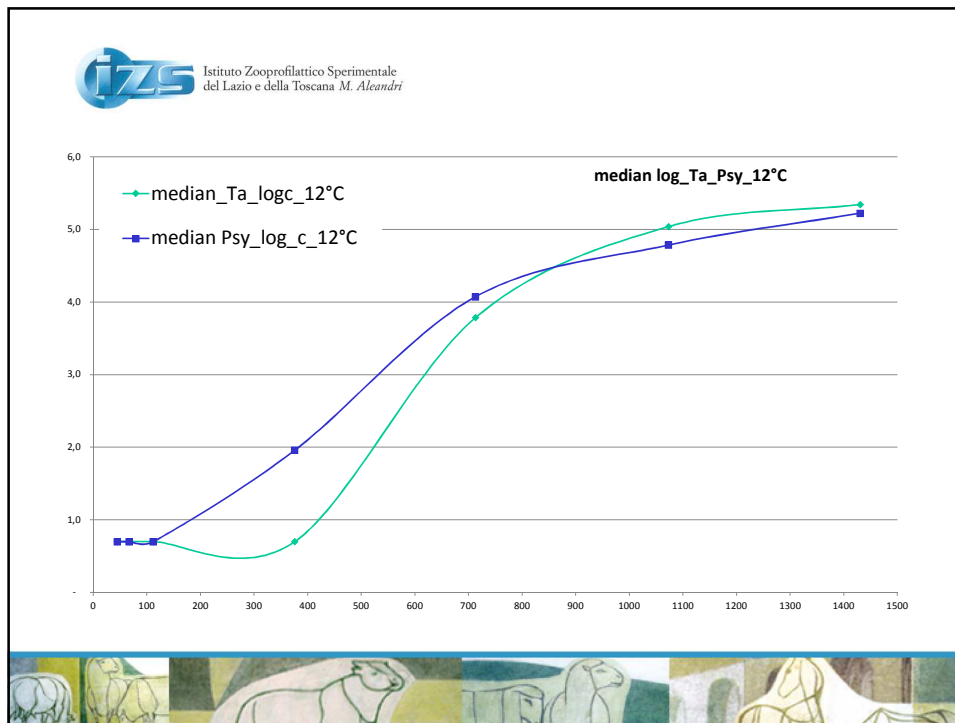
Parametro	Metodo di prova	Limiti di riferimento	Documento di riferimento
<i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-2	< 10 UFC/g	capitolo 7 del piano di autocontrollo
<i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-1	assente in 25g.	p.to 1.2 Capitolo 1 Allegato I Regolamento 2073/2005 (*).
<i>Listeria monocytogenes</i>	ISO 11290-2	< 100 UFC/g	p.to 1.3 Capitolo 1 Allegato I Regolamento 2073/2005.
Microrganismi totali a 30 °C	ISO 4833:2003	1.000.000 UFC/g.	capitolo 7 del piano di autocontrollo.
Microrganismi psicrotrofi	Metodo microbiologico(*)	1.000.000 UFC/g.	Riferimento crociato al capitolo 7 del piano di autocontrollo.
Batteri lattici mesofili	ISO 15214:1998		Competitor di <i>Listeria monocytogenes</i> e spoilage
Attività dell'acqua	ISO 21807:2004		
pH	MFHPB-03:2012		



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

• *flora microbica in relazione alle temperature?*







Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

da Shelf-life per Challenge-test

Elementi/indicatori

- Prodotto (composizione e modifiche temporali)
- Processo
- Flora microbica naturalmente presente/interazioni/competizioni
- Indicatori chimico-fisici (e.g. pH, aw)
perossidi; azoto volatile, amine biogene, composti derivanti dalla trasformazione degli zuccheri, aldeidi, alcool, acidi grassi, sostanze volatili
- Cambiamenti della miscela/vuoto
- packaging
- Temperature
- Prodotto/i rappresentativo di categorie di prodotti



Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Challenge test & Shelf-life

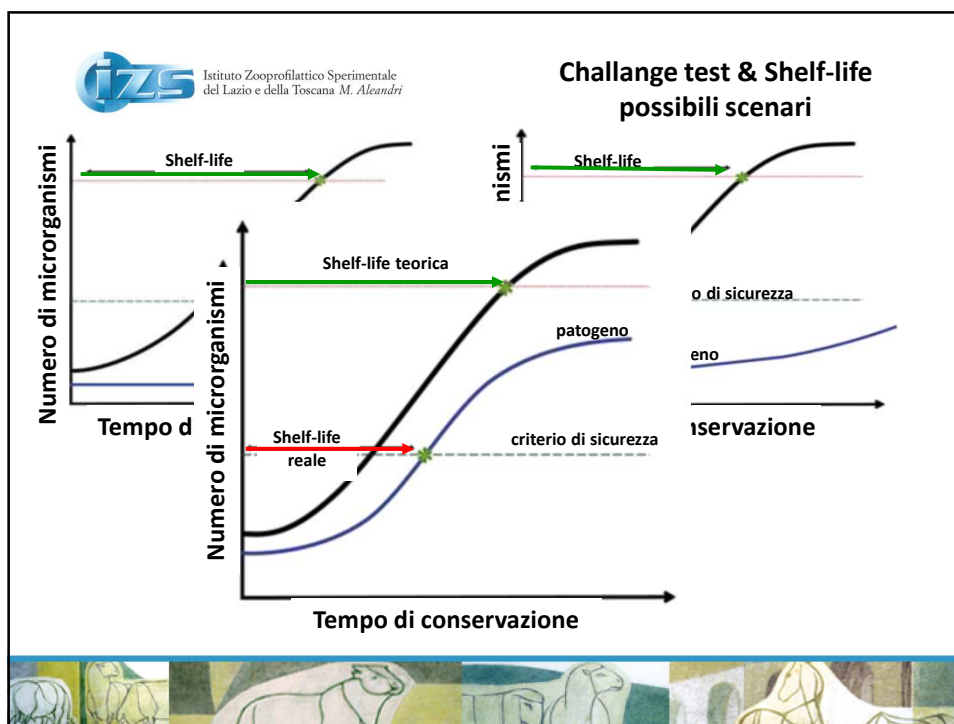
Correlazione o reciproca influenza?

Il documento mira a dare indicazioni ai produttori di **alimenti pronti** nell'identificare il rischio da *L. monocytogenes* nei propri alimenti pronti e stabilisce i **principi generali** per definire **quando e che tipo di studi sulla vita commerciale siano necessari**.

non è destinato ad essere **prescrittivo** nei dettagli tecnici

verificare il rispetto dei criteri **per tutta la conservabilità** della vita commerciale





Documenti di orientamento

Logo: **IZS** Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana M. Aleandri

Logo: European Union

GUIDANCE DOCUMENT on *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods, under Regulation (EC) No 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs

Logo: **anses** French agency for food, environmental and occupational health safety

EURL *Lm* TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods

Logo: **afnor** Association Française de Normalisation

Hygiène et sécurité des produits alimentaires Lignes directrices pour la réalisation des tests de croissance microbiologiques

Challenge-test

Le prime domande in fase di sperimentazione

Come comparare i risultati ottenuti quando i ricercatori utilizzano differenti tecniche?

Impostazione di laboratorio o industriale ?

Sperimentazione in sistema chiuso o aperto?

Ceppi di laboratorio o di campo ?

Ceppi isolati dall'ambiente ?

Ceppi isolati da studi epidemiologici ?

Cinetica di morte Log-lineare o non Log-lineare

Cinetica di crescita Log-lineare o non Log-lineare?



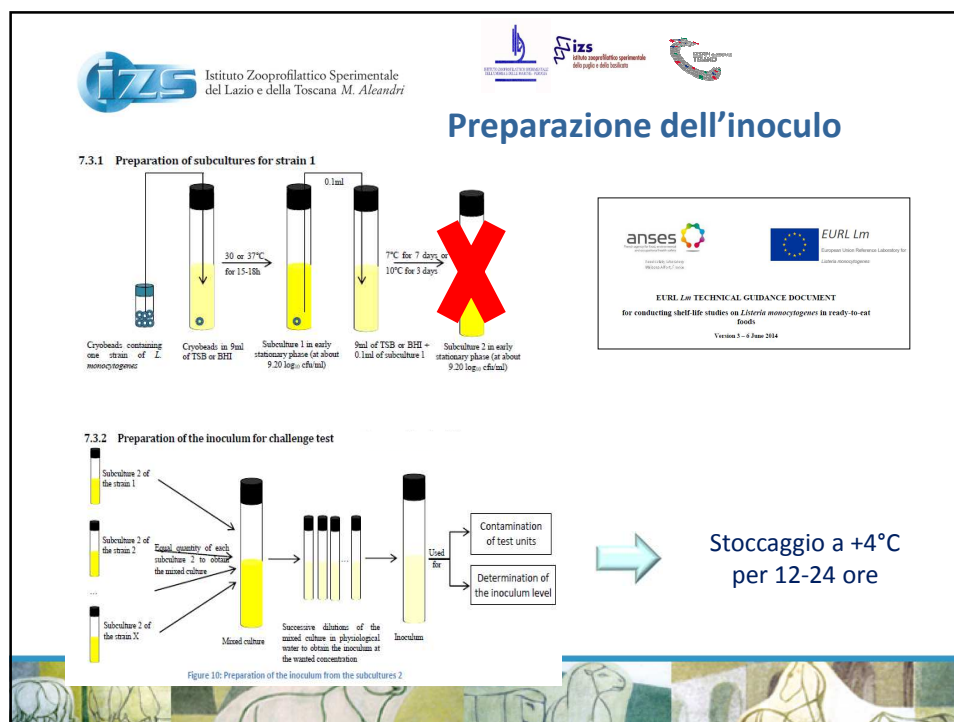
input pratici e risultati

Prodotti – Processi - Conservazione

CHALLENGE TEST SU *Escherichia coli* O:157 IN FORMAGGIO PECORINO



28




SEZIONE IX: LATTE CRUDO, COLOSTRO, PRODOTTI LATTIERO-CASEARI E PRODOTTI OTTENUTI DAL COLOSTRO

CAPITOLO II: REQUISITI RELATIVI AI PRODOTTI LATTIERO-CASEARI E AI PRODOTTI OTTENUTI DAL COLOSTRO


II. REQUISITI PER IL TRATTAMENTO TERMICO

1. Quando il latte crudo, il colostro, i prodotti lattiero-caseari e i prodotti ottenuti dal colostro sono sottoposti a trattamento termico, gli operatori del settore alimentare devono garantire che ciò avvenga nei rispetto dei requisiti di cui all'allegato II, capitolo XI, del regolamento (CE) n. 853/2004. In particolare, quando utilizzano i processi di se gui to elencati, provvedono affinché essi si svolgano alle condizioni sotto indicate:


IZS Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri



Termiche



Trattamento



IZS Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Lazio e della Toscana M. Aleandri

**Personale della D.O
WG19**

Se una relazione è stata lunga e difficile da seguire ... mettiamoci anche nei panni di chi sta dall'altra parte



GRAZIE PER L'ATTENZIONE

