

PROGETTI DI “RICERCA CORRENTE 2021”
RELAZIONE FINALE

N. identificativo progetto: IZS LT 09/21 RC

Progetto presentato da:

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE

LAZIO E TOSCANA “M. ALEANDRI”

Area tematica: Sicurezza alimentare

**Titolo del progetto: Studi applicativi dell’inibizione di
microrganismi contaminanti matrici alimentari mediante
materiali nano/micrometrici. Potenziale impiego nel settore
delle superfici a contatto con alimenti e packaging attivi**

Ricerca finanziata dal Ministero della Salute

Responsabile Scientifico: dr. Luigi Lanni

SINTESI

Titolo Studi applicativi dell'inibizione di microrganismi contaminanti matrici alimentari mediante materiali nano/micrometrici. Potenziale impiego nel settore delle superfici a contatto con alimenti e packaging attivi

La listeriosi umana è una grave malattia di origine alimentare i cui focolai si verificano sempre più frequentemente in Europa. In tutto il mondo esistono diversi requisiti legali per garantire la sicurezza alimentare. I nanomateriali sono sempre più utilizzati nell'industria alimentare come inibitori di agenti patogeni e i nanomateriali di carbonio sono tra i più promettenti. Nel presente progetto di ricerca sono state preparate nuove nanoparticelle di carbonio caricate con rame (CNP-Cu) e ne è stata valutata l'attività antimicrobica contro *Listeria monocytogenes*. Le CNP sono state sintetizzate e caratterizzate mediante dispersione dinamica della luce (DLS), dispersione elettroforetica della luce (ELS) e microscopia elettronica (EM). La concentrazione minima inibitoria (MIC) di CNP-Cu è stata determinata in accordo con gli standard disponibili. Per valutare le nanoparticelle come disinfettante in applicazione alla procedura di programma pre-requisito (pulizia e sanificazione) è stato applicato il metodo orizzontale per le tecniche di campionamento utilizzando le sponge secondo la norma ISO 18593:2016.

Per approfondire il meccanismo d'azione, il rilascio di ioni di rame in un terreno cellulare è stato valutato mediante emissione ottica al plasma accoppiato induttivamente (ICP-OE) e la capacità delle CNP caricate di generare specie reattive dell'ossigeno (ROS) citotossiche è stata valutata mediante spettroscopia EPR. Infine, è stato valutato il grado di rilascio del rame in un simulante alimentare.

I risultati hanno dimostrato l'efficacia antimicrobica dei CNP-Cu, con diverse percentuali di inibizione nei confronti del ceppo di riferimento *Listeria monocytogenes* ed i risultati ottenuti sui tassi di crescita tra ceppo ATTC di riferimento e ceppi di campo mostrano buoni presupposti per un'applicazione trasversale a ceppi con differenti caratteristiche genomiche

Parole chiave: *Listeria monocytogenes*; shelf-life alimenti; nanoparticelle di carbonio; packaging alimentare;

SUMMARY

Human listeriosis is a serious foodborne disease of which outbreaks are occurring increasingly frequently in Europe. Around the world, different legal requirements exist to guarantee food safety. Nanomaterials are increasingly used in the food industry as inhibitors of pathogens, and carbon nanomaterials are among the most promising. In the present research project, novel carbon nanoparticles loaded with copper (CNP-Cu) were prepared, and their antimicrobial activity against *Listeria monocytogenes* was assessed. CNPs were synthesized and characterized by dynamic light scattering (DLS), electrophoretic light scattering (ELS) and electron microscopy (EM). The minimum inhibitory concentration (MIC) of CNP-Cu was determined in accordance with the available standard. To assess the nanoparticles as disinfectant in application to pre-requisite program procedure (cleaning and sanification) the horizontal method for sampling techniques using sponge were applied according to ISO 18593:2016.

To get insights into its mechanism of action, the release of copper ions into a cell media were assess by inductively coupled plasma optical emission (ICP-OE), and the ability of loaded CNPs to generate cytotoxic reactive oxygen species (ROS) was evaluated by EPR spectroscopy. Finally, the extent of release of copper in a food simulant were assess.

The results demonstrated the antimicrobial effectiveness of CNP-Cu, with different ration of inhibition against *Listeria monocytogenes* reference strain. The release of copper were assess in accordance with Commission Regulation (EU) No 10/2011 and packaging prototype was realize to assess the interaction with nanoparticles for the design of active food packaging able to improve food shelf-life. The results obtained on growth rates between reference ATTC strain and field strains show good preconditions for cross-application to strains with different genomic characteristics

Key words: *Listeria monocytogenes*; shelf-life of food; carbon nanoparticles; food packaging;