

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI  
BOLOGNA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE AGRO-ALIMENTARI  
CAMPUS DI CESENA

CORSO DI LAUREA IN TECNOLOGIE ALIMENTARI

**Valutazione della stabilità ossidativa di biscotti e taralli a  
diversa formulazione**

Tesi in

28840 TECNOLOGIE ALIMENTARI (C.I.) – 11634 TECNOLOGIE ALIMENTARI

Relatrice:

Prof.ssa Maria Fiorenza Caboni

Correlatrice:

Dott.ssa Silvia Marzocchi

Candidata: Sara Cortesi

Matricola N° 831651

Anno Accademico 2019/2020

Sessione unica

# INDICE

1. PREMESSA E SCOPO	pag. 2
2. INTRODUZIONE	pag. 3
2.1 Lipidi	pag. 3
2.2 Ossidazione lipidica	pag. 7
2.3 Stabilità ossidativa	pag. 12
2.4 Composizione dei principali oli vegetali e grassi	pag. 14
2.5 Antiossidanti	pag. 18
2.5.1 Tocoferoli	pag. 20
2.5.2 Polifenoli	pag. 22
2.5.3 Altri antiossidanti naturalmente presenti	pag. 24
2.6 OXITEST®: un test di ossidazione accelerata	pag. 25
3. MATERIALI E METODI	pag. 28
3.1 Campioni	pag. 28
3.2 Analisi con OXITEST®	pag. 30
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	pag. 31
4.1 Test di ossidazione accelerata con OXITEST®	pag. 31
5. CONCLUSIONE	pag. 42
6. BIBLIOGRAFIA	pag. 44

# CAPITOLO 1

## PREMESSA E SCOPO

Le richieste dei consumatori nei confronti dell'industria alimentare sono sempre più elevate e specifiche, volte alla ricerca di alimenti buoni, sicuri, salutistici e con lunghi tempi di conservabilità. Purtroppo è estremamente complesso soddisfare tutte queste richieste.

Tra le criticità maggiori ci sono le reazioni di ossidazione della sostanza grassa, quelle cioè che avvengono tra l'ossigeno atmosferico e gli acidi grassi presenti negli alimenti; queste sono tra le principali cause di deterioramento e di alterazione delle qualità del prodotto e compromettono la shelf-life dei prodotti alimentari. I prodotti da forno come biscotti e taralli, sono tra quelli cui si richiede una lunga shelf-life, ma che possono subire un irrancidimento con formazione di off-flavours dovuti ad aldeidi alifatiche o altri composti volatili.

È perciò molto importante poter disporre di metodi capaci di valutare rapidamente la stabilità ossidativa delle matrici lipidiche all'interno dei prodotti alimentari per poter definire quindi la sua shelf-life e il mantenimento delle sue caratteristiche qualitative.

Questo lavoro di tesi si concentra sull'analisi di campioni di taralli e biscotti a diversa formulazione per valutare la conservabilità e la stabilità dei lipidi in essi contenuti tramite l'utilizzo dello strumento, OXITEST®, un test ad ossidazione accelerata nel quale all'interno delle camere di ossidazione è possibile cambiare i parametri di pressione d'ossigeno e temperatura a seconda del prodotto analizzato.

Le informazioni ottenute da questo strumento ci suggeriscono in tempo breve la stabilità a fenomeni di auto-ossidazione, misurata in tempo, di biscotti e taralli a diversa formulazione. Questo strumento inoltre può essere facilmente utilizzabile dalle industrie che vogliono migliorare un prodotto o introdurre in mercato un nuovo prodotto che sia il più possibile di alta qualità, stabile nel tempo e accettabile dal consumatore.

# CAPITOLO 2

## INTRODUZIONE

### 2.1 I lipidi

I lipidi sono una classe eterogenea di composti organici presenti in natura, raggruppati sulla base delle loro simili caratteristiche di solubilità. I lipidi non sono solubili in acqua, ma sono solubili in solventi organici aprotici non polari, come etere dietilico, diclorometano e acetone (*Brown et al. 2015*).

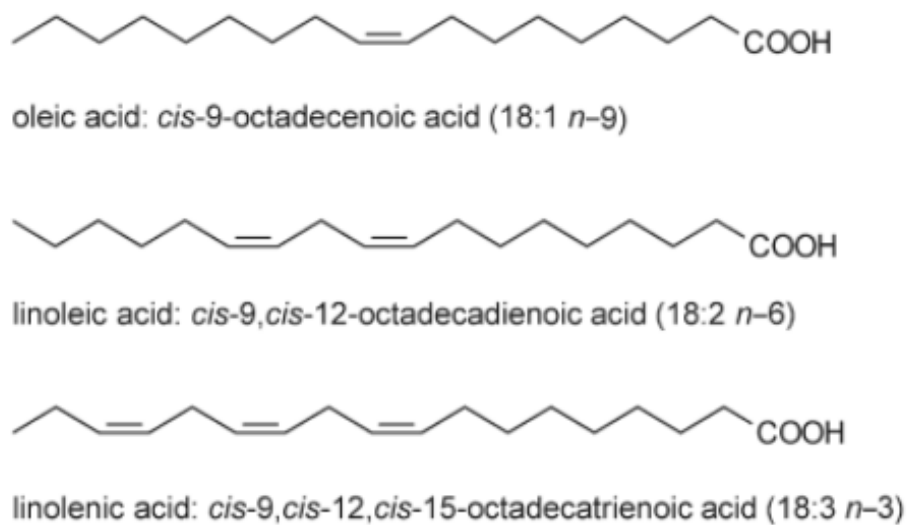
A differenza delle proteine e dei polisaccaridi, i lipidi hanno dimensioni ridotte e presentano una parte della molecola caratterizzata da una lunga catena carboniosa. Oltre ad essere i costituenti degli oli e del burro, i lipidi si trovano in quantità variabili in numerosi alimenti, tra cui carne, pesce, salumi, formaggi e anche frutta secca (*Cappelli & Vannucchi, 2015*). Dal punto di vista chimico esistono numerose classificazioni, proprio per la varietà dei composti che costituiscono i lipidi. Una delle più semplici e razionali è quella che li suddivide in lipidi saponificabili e non saponificabili. I primi sono caratterizzati dalla presenza di una o più molecole di acidi grassi che, per idrolisi alcalina, si distaccano sotto forma di saponi, cioè di sali alcalini degli acidi grassi; invece i lipidi non saponificabili non contengono molecole di acidi grassi e non sono idrolizzabili. Se si considera l'interazione con l'acqua, i lipidi possono essere suddivisi in polari o anfipatici e apolari in base al fatto che formino o non formino un monostrato nell'interfaccia aria-acqua (*Cappelli & Vannucchi, 2015*).

Gli acidi grassi sono i componenti comuni e fondamentali dei lipidi complessi; in questi ultimi si ritrovano uniti, con legame estere oppure di tipo amminico, ad alcoli di vario tipo. Gli acidi grassi sono catene alifatiche monocarbossiliche da 4 a 36 atomi di carbonio; si possono considerare quindi derivati degli idrocarburi.

In natura vi è una netta prevalenza di acidi grassi a numero pari di atomi di carbonio; in quanto la loro biosintesi avviene per successive condensazioni di unità bicarboniose, ossia a partire dall'acetilCoA; acidi grassi a numero dispari sono riscontrabili nei grassi dei pesci (dal 2 al 6%) (*Cappelli & Vannucchi, 2015*).

Si possono avere anche acidi grassi a catena ramificata, ad anelli con 3 o 5 carboni e con ossidrili e/o gruppi metilici, i più rappresentati in natura sono comunque quelli lineari. Gli acidi grassi si dicono

saturi (SFA) quando presentano tutti legami semplici -C-C- e insaturi (UFA) quando hanno uno o più doppi legami. Gli acidi grassi saturi prevalgono nel mondo animale e i più comuni sono l'acido palmitico (C16:0) e l'acido stearico (C18:0); mentre gli acidi grassi insaturi si trovano prevalentemente nei vegetali e negli animali che vivono a basse temperature e possono, a loro volta, suddividersi in monoinsaturi (MUFA) e polinsaturi (PUFA). Gli acidi grassi rappresentati in **Figura 1** sono i principali acidi grassi che ritroviamo nelle matrici animali e vegetali; questi sono l'acido oleico (C18:1 *c9*) tra i monoinsaturi, l'acido linoleico (C18:2 *n6*) e l'acido linolenico (C18:3 *n3*) tra i polinsaturi (Cappelli & Vannucchi, 2015).



**Figura 1.** Principali acidi grassi (Frankel, 2014)

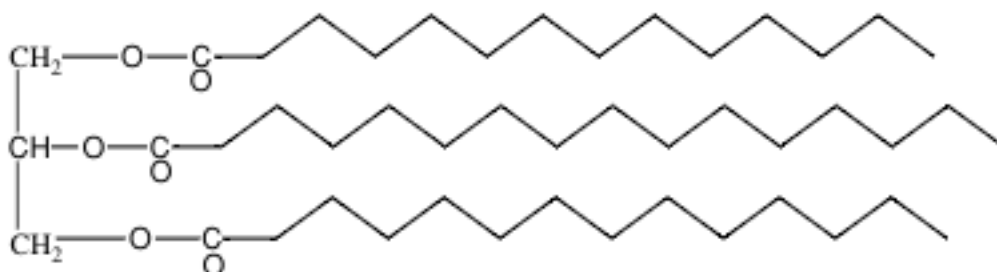
La temperatura di fusione degli acidi grassi insaturi è inferiore a quella dell'isologo saturo. Negli oli, infatti, prevalgono gli acidi grassi insaturi, mentre nei grassi solidi quelli saturi.

La presenza di doppi legami determina la possibile formazione di isomeri geometrici e posizionali. Gli isomeri geometrici sono caratterizzati da un diverso orientamento dei sostituenti dei carboni interessati al doppio legame. Negli acidi grassi insaturi prevalgono nettamente gli isomeri *cis* rispetto ai *trans*; questo fatto riveste notevole importanza nutrizionale in quanto, mentre le forme *cis* possono essere facilmente metabolizzate dall'organismo umano, gli isomeri *trans* vengono metabolizzati più lentamente; inoltre, alcuni sono stati riconosciuti responsabili di favorire patologie come le malattie cardiovascolari e il diabete. Gli acidi grassi *trans* si trovano negli alimenti in seguito a processi di idrogenazione, di rettifica, di riscaldamento a temperature elevate di oli e grassi (Cappelli & Vanucchi, 2015).

L'organismo umano può sintetizzare gli acidi grassi a partire dall'acetil-CoA, mentre dall'acido palmitico può ottenere gli omologhi superiori o gli acidi grassi insaturi; tuttavia, non ha la capacità di deidrogenare gli ultimi 6 atomi di carbonio, quelli della parte del gruppo metile. Di conseguenza, gli acidi grassi che hanno un doppio legame a 6 o 3 atomi di carbonio dal fondo della catena (n-6 o n-3) non possono essere biosintetizzati e devono essere introdotti con l'alimentazione.

L'acido linoleico e l'acido  $\alpha$ -linolenico sono definiti essenziali e comunemente indicati con AGE (Acidi Grassi Essenziali) o EFA (Essential Fatty Acids). Da questi l'uomo sintetizza tutti gli altri polinsaturi, disponendo di enzimi che permettono l'allungamento della catena carboniosa all'estremità carbossilica e la deidrogenazione tra l'ultimo carbonio insaturo e il carbossile. Si ottengono così due serie di composti, quella derivata dall'acido linoleico e quella derivata dall'acido  $\alpha$ -linolenico (Cappelli & Vannucchi, 2015).

I grassi animali e gli oli vegetali, i più abbondanti lipidi di origine naturale, sono i triesteri del glicerolo (**Figura 2**) e di acidi carbossilici a lunga catena. Grassi e oli sono anche chiamati trigliceridi o triacilgliceroli. L'idrolisi di un trigliceride in soluzione acquosa basica seguita da acidificazione fornisce glicerolo e tre molecole di acido grasso (Brown et al., 2015).



**Figura 2.** Trigliceride: 3 acidi grassi esterificati ad una molecola di glicerolo (Sargent et al., 2002)

Gli acilgliceroli, comunemente chiamati gliceridi, sono esteri del glicerolo con acidi grassi. L'esterificazione può interessare uno, due o tutti e tre gli ossidrili dell'alcol.

Nei trigliceridi o triacilgliceroli il glicerolo rappresenta il 5% della molecola, mentre il 95% è formato dagli acidi grassi. Queste molecole costituiscono una riserva energetica per gli organismi, inoltre si ritrovano nei semi di diverse piante e sono fondamentali per il processo germinativo. Se gli acidi grassi che esterificano il glicerolo sono uguali tra loro, gli acilgliceroli sono detti semplici, quando

invece sono diversi, si definiscono misti. In questo caso, che è il più comune, si possono avere isomeri di posizione, da diversa localizzazione degli acidi grassi.

Nei grassi naturali la disposizione degli acidi grassi non avviene casualmente: infatti, è stato riscontrato che la posizione 2 è occupata preferenzialmente da acidi grassi insaturi (*Cappelli & Vannucchi, 2015*).

Il grado di insaturazione degli acidi grassi influenza lo stato fisico dell'acilglicerolo: il punto di fusione di un acido grasso aumenta con la lunghezza della catena carboniosa e diminuisce con il numero di doppi legami. In base al diverso stato fisico, gli acilgliceroli si suddividono in grassi e oli (*Cappelli & Vannucchi, 2015*).

## 2.2 Ossidazione lipidica

L'ossidazione lipidica è una delle principali reazioni di deterioramento nella chimica degli alimenti; tanto da influenzarne la loro qualità. In particolare, danneggia i lipidi, specialmente acidi grassi essenziali, di cibi ricchi di grassi come prodotti da forno, biscotti e snacks. Inoltre, l'ossidazione lipidica è un promotore di off-flavours, producendo cattive caratteristiche sensoriali, riducendo il valore nutrizionale e incrementando la formazione di potenziali prodotti tossici (*Riciputi & Caboni, 2017*).

Diversi sono i fattori che possono influenzare e accrescere l'ossidazione lipidica durante la conservazione dei prodotti alimentari; tra questi ricordiamo luce, temperatura e pressione parziale di ossigeno, ovvero maggiore è la pressione parziale di ossigeno nello spazio di testa, maggiore sarà la quantità di ossigeno disciolto nell'alimento e di conseguenza avremo maggiore ossidazione lipidica. In più, la composizione in acidi grassi, in particolare il grado di insaturazione degli acidi grassi, il tempo di conservazione, i composti pro e antiossidanti influiscono significativamente sul grado di auto-ossidazione (*Riciputi & Caboni, 2017*).

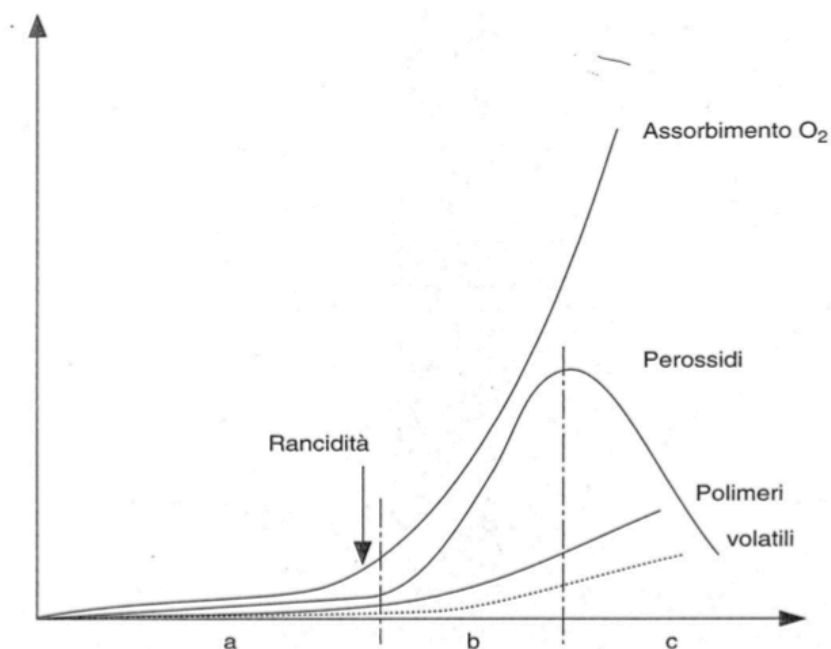
Durante il processo di ossidazione, con andamento tipico rappresentato in **Figura 3**, gli acidi grassi sono convertiti per prima a idroperossidi, che poi possono decomporsi per formare molecole volatili, idrossilati, composti chetonici o epossidi, oppure possono reagire con altri acidi grassi ossidati per formare dimeri o polimeri. Il tasso di ossidazione dei lipidi è solitamente lento a temperatura ambiente e la soglia di rancidità, che è strettamente correlata al rifiuto degli alimenti da parte del consumatore, può richiedere mesi. L'analisi dell'ossidazione dei lipidi solitamente richiede molto tempo ma per l'industria è molto importante poter controllare rapidamente la stabilità alimentare, perciò è essenziale applicare metodi che diano una risposta della valutazione della stabilità lipidica degli alimenti in tempi significativamente più brevi rispetto alle condizioni reali di conservazione (*Riciputi & Caboni, 2017*).

Più nel dettaglio vediamo come questa è l'alterazione più importante a carico dei grassi ed è dovuta all'assorbimento di ossigeno da parte degli acidi grassi insaturi, liberi o esterificati. La reazione è promossa dalla luce, dal calore (ma si può verificare anche a temperatura ambiente), da tracce di metalli, da perossidi e, a volte, dalla presenza di un enzima. I grassi che più facilmente vanno incontro a tale alterazione, sono quelli che, in seguito a rettifica, hanno perso gli antiossidanti naturali come la vitamina E.

Le precauzioni, per evitare l'irrancidimento, consistono nel ridurre il più possibile l'umidità e il contatto dell'alimento con l'aria (colmando i recipienti o conservando il prodotto in atmosfera di gas



inerte o sottovuoto), nell'evitare rialzi termici e il contatto con metalli (i più attivi cataliticamente sono quelli con vari numeri di ossidazione, come Fe, Cu, Mn, Ni), e nel riparare l'alimento dalla luce (Cappelli & Vannucchi, 2015).



**Figura 3.** Andamento tipico dei principali parametri relativi all'ossidazione lipidica.  
a) Induzione; b) propagazione; c) terminazione (Fedeli et al., 1997)

A seconda dello stato con cui l'ossigeno reagisce con gli acidi grassi, si possono avere due meccanismi diversi:

- Autossidazione con l'ossigeno tripletto  $^3\text{O}_2$  (stato fondamentale);
- Fotossidazione con l'ossigeno singoletto  $^1\text{O}_2$  (stato eccitato).

Allo stato di tripletto, nel quale si trova normalmente, l'ossigeno molecolare ha gli ultimi due elettroni spaiati in due diversi orbitali molecolari, degeneri, con spin paralleli; mentre in quello di singoletto gli elettroni esterni sono accoppiati in un unico orbitale molecolare, con spin antiparallelo, o spaiati in due diversi orbitali, ma sempre con spin antiparallelo. Tra questi ultimi due stati eccitati, quello che presenta un orbitale vuoto, ossia con gli elettroni accoppiati, è il più reattivo con le molecole vicine (Cappelli & Vannucchi, 2015).

L'autossidazione si svolge seguendo l'andamento caratteristico delle reazioni di tipo radicalico, secondo tre fasi: iniziazione, propagazione e terminazione (in **Figura 4**). La fase di iniziazione

consiste nel distacco di un atomo di idrogeno per scissione emolitica (rottura di un legame covalente con ritenzione di un elettrone di legame su ognuna delle specie chimiche generate) dalla catena idrocarburica di un acido grasso, con formazione di un radicale alchilico estremamente reattivo. Questo, in presenza di ossigeno, dà origine al corrispondente radicale *idroperossi*, il quale, successivamente, dà luogo alla specie chimica neutra idroperossido più un nuovo radicale che reagisce con l'ossigeno; la reazione quindi, una volta innescata, procede a catena (fase di propagazione).

La propagazione si traduce in un'ossidazione in perossidi dei lipidi insaturi (radicali) parallelamente ad un consumo di ossigeno gassoso. Ogni radicale alchilico provoca la formazione, nel caso di lipidi puri, di un numero di molecole di perossidi variabile da 10 a 100 (*Cappelli & Vannucchi, 2015*).

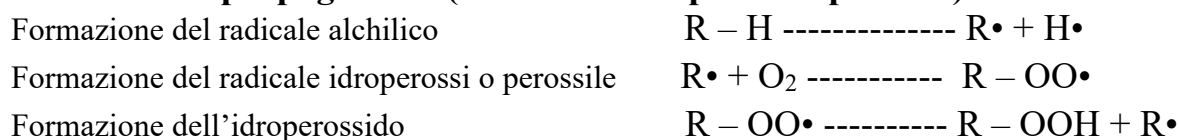
La fase di terminazione avviene quando tutti i radicali, in seguito alle reciproche collisioni o alla reazione con molecole antiossidanti eventualmente presenti, come i tocoferoli e i polifenoli si trasformano in specie neutre. Salvo che nelle fasi iniziali i tre gruppi di reazioni si svolgono simultaneamente.

Gli idroperossidi (R-OOH) sono considerati i prodotti primari dell'ossidazione. Durante la fase di propagazione della demolizione degli idroperossidi, comunque formati, si generano nuovi radicali: idroperossi (ROO•) e alcossi (RO•) (*Cappelli & Vannucchi, 2015*).

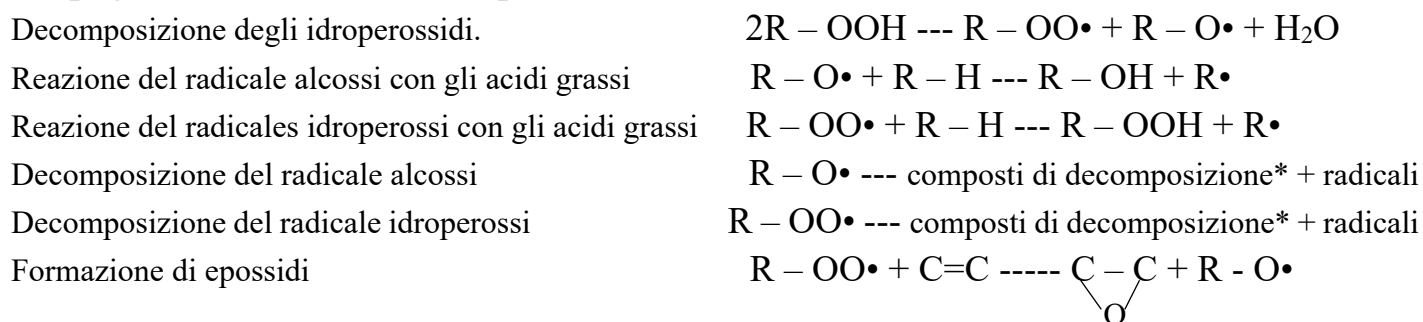
È attraverso questi nuovi radicali che si ottengono i cosiddetti prodotti secondari dell'ossidazione: idrocarburi, esteri, aldeidi, chetosi, alcoli, acidi, polimeri, epossidi ecc., molti dei quali volatili e responsabili dello sgradevole odore di rancido dei grassi ossidati. I composti carbonilici, inoltre, possono reagire con le proteine dando luogo ad imbrunimenti (reazione di Maillard).

La formazione di prodotti primari può venire bloccata con l'aggiunta di antiossidanti che, con meccanismi diversi, prevengono la reazione a catena (*Cappelli & Vannucchi, 2015*)

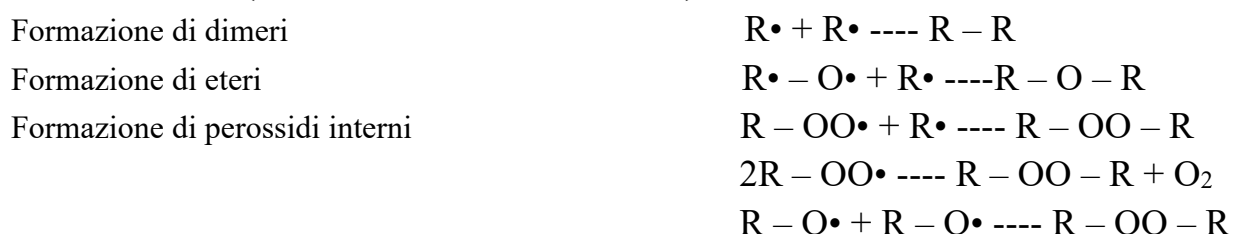
### Iniziazione e propagazione (formazione di prodotti primari)



### Propagazione (formazione dei prodotti secondari)



### Terminazione (collisione tra radicali liberi)



\*alcoli, aldeidi, chetoni, idrocarburi

**Figura 4.** Autossidazione degli acidi grassi (Cappelli & Vannucchi, 2015)

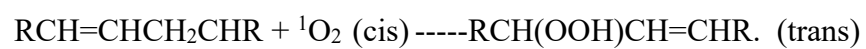
Un'altra via per giungere alla formazione degli idroperossidi è l'addizione diretta dell'ossigeno ai doppi legami degli acidi grassi; questa si verifica in presenza di ossigeno allo stato eccitato (ossigeno singoletto), che aumenta notevolmente il suo potere ossidante.

Avviene in presenza di fotosensibilizzatori e luce (ossidazione fotosensibile); i primi si ritrovano negli alimenti e sono pigmenti naturali come clorofille, feofitine, porfirine, flavine e coloranti sintetici (Cappelli & Vannucchi, 2015).

Il fotosensibilizzante, in seguito all'azione della luce, passa allo stato eccitato e può:

- 1) Reagire direttamente con l'acido grasso (agendo da iniziatore) per formare un radicale  $R\bullet$  che poi si lega all'ossigeno per dare il radicale idroperossi, come avviene anche nel processo di autossidazione;
- 2) Combinarsi con l'ossigeno tripletto  $^3O_2$  trasferendo energia e formando l'ossigeno singoletto  $^1O_2$ . Questo reagisce a sua volta con un acido grasso insaturo mediante una reazione alder

“ene”, di addizione al doppio legame, che ne comporta lo slittamento in posizione adiacente rispetto a quella originaria, formando idroperossidi allilici con configurazione trans.



*(Cappelli & Vannucchi, 2015).*

## 2.3 Stabilità ossidativa

L'ossidazione lipidica è un processo complesso la cui velocità e decorso sono influenzati da molti fattori. La suscettibilità ossidativa dei lipidi dipende principalmente dalla composizione dei suoi acidi grassi, più specificatamente, dal loro grado di insaturazione o MBI (indice di ponte di metilene).

I PUFA con l'alto valore di MBI sono più suscettibili all'ossidazione. Gli oli con un'alta proporzione di acidi grassi insaturi hanno dimostrato compromessa stabilità ossidativa (*Shahidi & Zhong, 2010*).

La distribuzione posizionale stereospecifica degli acidi grassi nelle molecole di TAG giocano un ruolo importante sulla suscettibilità dei lipidi all'ossidazione. Si ritiene che la presenza dei PUFA nella posizione sn-2 della struttura del glicerolo favorisca la loro stabilità contro l'ossidazione.

Questo può, almeno in parte, spiegare perché gli oli vegetali randomizzati si ossidano più velocemente dei loro corrispondenti oli naturali di origine, nei quali i PUFA sono maggiormente localizzati in posizione sn-2.

La variazione nella stabilità ossidativa esiste tra diverse classi lipidiche. In generale, è stato dimostrato che gli acidi grassi si ossidano più velocemente nella forma libera che i loro esteri glicerilici, probabilmente a causa della maggiore capacità di raccogliere tracce di metalli dall'ambiente (*Shahidi & Zhong, 2010*).

La presenza di componenti minori in oli e grassi influenza la loro stabilità ossidativa sia in maniera positiva che negativa. I tocoli sono importanti antiossidanti solubili in grasso e mostrano una migliore efficienza antiossidante in presenza di fosfolipidi sinergici. I carotenoidi, pigmenti giallo-rossi presenti in molti oli crudi, sono gruppi di tetraterpeni insaturi. I tocoli e i carotenoidi contribuiscono alla stabilità degli oli crudi, i quali non vengono rimossi con la deodorazione e la decolorazione durante il processo di raffinatura.

I composti fenolici, oltre che i tocoli, sono tra i più abbondanti antiossidanti da fonti naturali e la loro presenza negli oli vegetali gioca un ruolo importante nella protezione contro l'ossidazione.

Le clorofille che rendono il colore verde a molte piante e a derivati di esse, inclusi gli oli, possono funzionare come antiossidanti nel buio, però, la loro azione come fotosensibilizzatori in presenza di luce catalizza la fotossidazione lipidica (*Shahidi & Zhong, 2010*).

Questi minori componenti costituiscono una miscela in oli e grassi, modulando il processo ossidativo tramite vari meccanismi. D'altra parte, però, altri componenti come tracce di metalli, certi enzimi e composti eme agiscono come catalizzatori delle reazioni ossidative e portano alla compromissione

della stabilità ossidativa dei lipidi nell'ambiente. Perciò, il controllo qualitativo e quantitativo di questi componenti minori è importante per assicurare la qualità dei prodotti a base di lipidi e non. In aggiunta alla natura dei lipidi, i fattori ambientali a cui i lipidi sono esposti durante il processo e la conservazione possono influire sul tasso ossidativo. Sebbene i lipidi siano presenti in natura in varie fonti, l'approvvigionamento di grassi e oli commerciali richiede operazioni di estrazione e raffinazione, che possono portare una variazione della stabilità ossidativa nei prodotti finali attraverso l'esposizione a temperatura, luce, ossigeno e umidità atmosferica elevata e possibilmente il contatto con metalli usurati. La raffinazione può influenzare i componenti minori che sono importanti per la stabilità ossidativa dei lipidi (*Shahidi & Zhong, 2010*).

## 2.4 Composizione dei principali oli vegetali e grassi

Gli oli raffinati vegetali sono rappresentati approssimativamente dal 98-99% di composti saponificabili e dall'1-2% di composti non saponificabili. I composti saponificabili contengono trigliceridi e acidi grassi liberi, mentre la frazione non saponificabile contiene acidi fenolici, flavonoidi, idrocarburi e numerosi altri composti organici. Anche se la frazione non saponificabile è un componente minore negli oli da cucina, i composti fenolici presenti nella frazione non saponificabile esercitano numerosi effetti fisiologici sulla nutrizione umana e influenzano fortemente la qualità dell'olio (*Gliszczynska-Swiglo et al., 2007*).

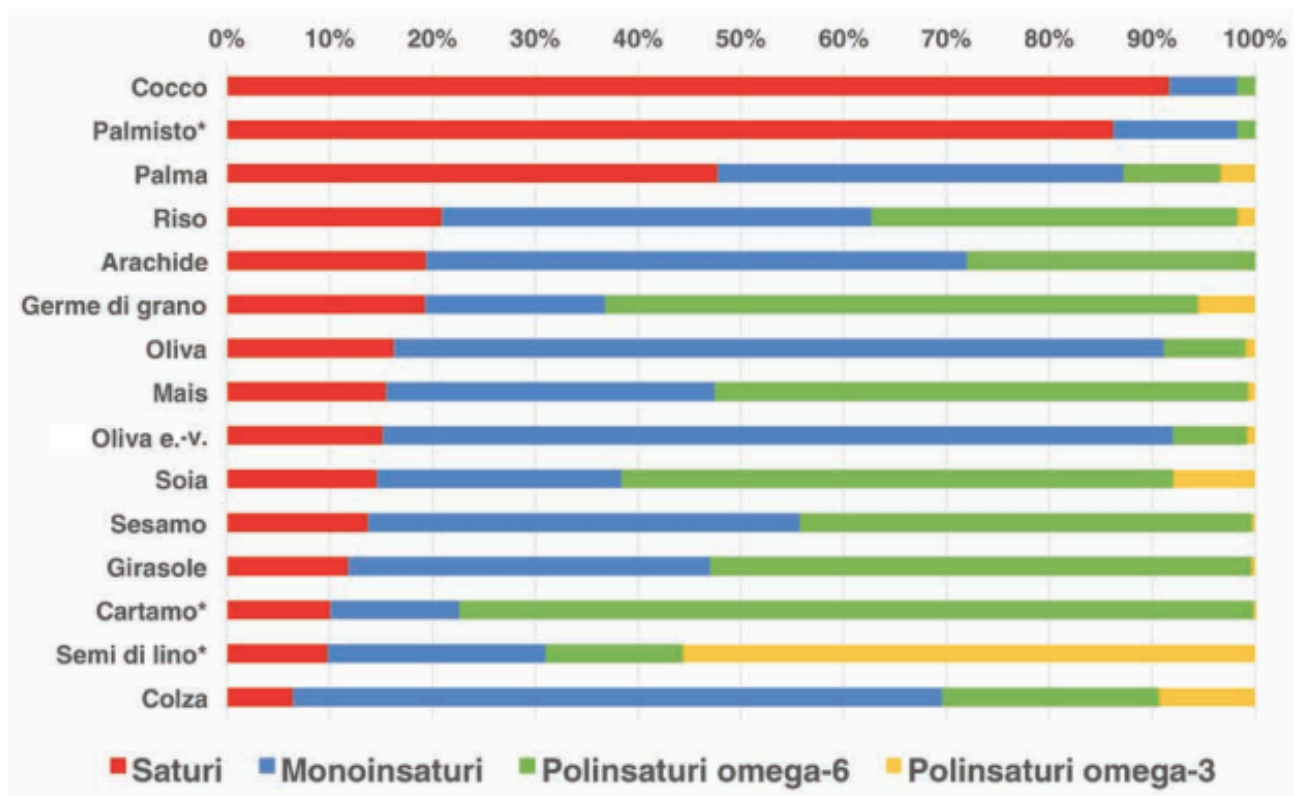
Gli oli vegetali sono estratti dalle piante e la maggior parte deriva da semi o fagioli; altri oli (come l'olio di palma e l'olio di oliva) vengono invece estratti dall'endosperma della frutta.

I grassi e gli oli alimentari sono principalmente composti da triacilgliceroli (TAG), accompagnati da livelli più bassi di diacilgliceroli (DAG), monoacilgliceroli (MAG) e acidi grassi liberi (FFA). I componenti minori includono fosfatidi, steroli, alcoli grassi, vitamine liposolubili e altri composti. I dati compositivi dei macronutrienti e dei microcomponenti degli oli vegetali possono differire in modo significativo a seconda della varietà, della località geografica, del clima, della fase di maturazione del frutto, dell'estrazione e/o del processo di raffinazione (*Paciulli et al., 2017*).

Le differenze tra i vari tipi di oli vegetali riguardano principalmente la composizione in acidi grassi (**Figura 5**). La maggior parte degli oli contiene principalmente acidi grassi monoinsaturi (MUFA) e polinsaturi (PUFA) con basse quantità di acidi grassi saturi (SFA), ad eccezione degli oli laurici (oli di palma e di cocco) che ne contengono una grande percentuale. Gli oli di cocco e di palmisti sono caratterizzati da livelli significativi di acidi laurico (12:0) e miristico (14:0), nonché dalla presenza di SFA più brevi con 8 e 10 atomi di carbonio. Questi oli sono ricchi di SFA e contengono pochissimi acidi grassi insaturi (UFA). Gli altri oli vegetali contengono principalmente acidi palmitico (C16:0), oleico (C18:1) e linoleico (C18:2). L'acido palmitico (C16:0) è il maggiore SFA e raggiunge livelli significativi in olio di palma. Alcuni oli vegetali sono ricchi di acido oleico (oliva) e altri di acido linoleico (girasole), mentre ci sono alcuni oli che contengono entrambe gli acidi grassi (es. arachidi) (*Paciulli et al., 2017*).

I coltivatori di semi hanno prodotto varietà ricche di oleico; ad esempio, l'olio di semi di girasole è ora disponibile con l'80% di acido oleico (olio di girasole alto oleico). Vi sono invece alcune ambivalenze nei confronti dell'acido linoleico; è un acido grasso essenziale per l'uomo e quindi di importanza dietetica, ma è anche la causa dell'instabilità ossidativa di molti oli (*Paciulli et al., 2017*).

Negli oli vegetali, gli acidi grassi si trovano principalmente come glicerolesteri, dove i TAG rappresentano almeno il 95% di un petrolio greggio. In un olio vegetale, gli acidi grassi non sono distribuiti in modo casuale all'interno della molecola di glicerolo, essendo la reazione promossa dagli enzimi. Generalmente, il secondo gruppo ossidrilico (sn-2) di glicerolo viene esterificato con un UFA, mentre la prima e la terza posizione (sn-1 e sn-3) sono invece occupate da SFA e dal rimanente UFA. Diverse composizioni e distribuzioni di acidi grassi all'interno di TAG sono responsabili del diverso comportamento di fusione degli oli vegetali (Paciulli et al., 2017).



**Figura 5.** Composizione in acidi grassi dei principali oli e grassi vegetali ([www.pacinimedica.it](http://www.pacinimedica.it))

Alcuni oli non raffinati possono contenere FFA, MAG o DAG a causa della biosintesi dei TAG incompleta in semi immaturi o lipolisi post-raccolta. I livelli di FFA e MAG sono drasticamente ridotti durante il processo di raffinazione (Paciulli et al., 2017).

Considerando invece il burro, è noto che il latte e i latticini sono importanti fonti di nutrienti ed energia nelle diete umane. Il grasso del latte è probabilmente il più complesso di tutti i grassi commestibili, a causa delle sue caratteristiche fisiche e chimiche. È presente principalmente nei globuli come emulsione olio in acqua ed è composto da trigliceridi ( $\approx 98\%$ ), diacilglicerolo ( $\approx 2\%$ ),



colesterolo ( $\approx 0,5\%$ ), fosfolipidi ( $\approx 1\%$ ) e acidi grassi liberi ( $\approx 0,1\%$ ). Il grasso del latte contiene più di 400 diversi acidi grassi, inclusi acidi grassi saturi (66%), acidi grassi monoinsaturi (30%) e acidi grassi polinsaturi (4%) (*Méndez-Cid et al, 2017*).

Il burro è il prodotto a base di latte più apprezzato e commercializzato. Contiene almeno l'80% di grassi e un massimo del 16% di acqua. È un'emulsione di acqua in olio in cui le gocce d'acqua sono disperse nella fase grassa continua, parzialmente cristallizzata. Il burro è un prodotto importante nel settore lattiero-caseario per le sue particolari caratteristiche sensoriali e per il suo valore nutrizionale (*Méndez-Cid et al, 2017*).

Il burro viene spesso conservato per lunghi periodi di tempo. Il principale problema del burro durante lo stoccaggio è la rancidificazione. Questo processo, causato dalla lipolisi (rilascio di acidi grassi liberi) e dall'ossidazione degli acidi grassi, altera il sapore e riduce la qualità nutrizionale del burro, creando così seri problemi e perdite economiche nelle industrie lattiero-casearie e della distribuzione alimentare. Cambiamenti lipolitici si verificano nel grasso del latte a seguito dell'idrolisi dei triacilgliceroli da parte delle lipasi (enzimi del latte indigeni ed enzimi di origine microbica). La lipolisi innesca l'accumulo di acidi grassi liberi (FFA), che possono causare aromi descritti come rancido, butirrico, amaro, sporco, insaponato o astringente (*Méndez-Cid et al, 2017*).

L'ossidazione dei grassi è un problema nel settore lattiero-caseario che ha importanti implicazioni in termini di valore del prodotto, poiché influenza il sapore, il colore, la consistenza e il valore nutrizionale dei prodotti lattiero-caseari. Gli acidi grassi polinsaturi, che contengono doppi legami multipli con atomi di idrogeno particolarmente reattivi, sono inclini all'ossidazione. Un alto contenuto di acidi grassi insaturi nel grasso del latte aumenta il rischio di ossidazione e produzione di aromi.

Nei prodotti lattiero-caseari con un alto contenuto di acidi grassi insaturi, l'ossidazione provoca aromi metallici, oleosi o rancidi e un colore più chiaro, specialmente dopo la conservazione. La qualità del latte e dei prodotti lattiero-caseari (incluso il burro) è il risultato di un delicato equilibrio tra composti e processi pro e antiossidanti che sono influenzati da fattori come il grado di insaturazione degli acidi grassi e il contenuto di ioni metalli di transizione e di antiossidanti composti (ad es. tocoferoli e carotenoidi) (*Méndez-Cid et al, 2017*).

Nella tabella successiva (**Tabella 1**) possiamo vedere e confrontare le diverse % relative ai principali acidi grassi presenti in matrici lipidiche, ovvero in oli vegetali e grassi.

**Tabella 1.** Composizione in acidi grassi di oli vegetali e grassi (g/100g) (Pham, 2016. Bobe et al., 2003. Most et al., 2005. Ramos et al., 2009. Salas et al., 2015. Verardo et al., 2010.)

	<b>Olio extra vergine di oliva</b>	<b>Olio di cocco</b>	<b>Olio di palma</b>	<b>Olio di riso</b>	<b>Olio di girasole</b>	<b>Olio di girasole alto oleico</b>	<b>Burro</b>
<b>C4:0</b>	-	-	-	-	-	-	4,14
<b>C6:0</b>	-	Tracce	-	-	-	-	2,61
<b>C8:0</b>	-	2,4	-	-	-	-	1,44
<b>C10:0</b>	-	4,4	-	-	-	-	2,89
<b>C12:0</b>	-	44,5	0,1	-	-	-	3,15
<b>C14:0</b>	-	18,6	0,7	0,40	-	-	10,65
<b>C16:0</b>	10,5	12,0	36,7	14,6	6,3	3,8	28,65
<b>C16:1</b>	0,9	-	0,1	-	0,1	-	1,15
<b>C18:0</b>	2,2	4,8	6,6	2,09	4,6	4,1	12,41
<b>C18:1 c9</b>	77,3	11,0	46,1	44,51	26,7	82,1	25,27
<b>C18:2</b>	8,0	2,2	8,6	36,59	61,1	8,7	3,18
<b>C18:3 n-3</b>	0,7	-	0,3	0,87	-	-	0,55
<b>C20:0</b>	0,1	-	0,4	-	0,3	0,4	-
<b>C20:1 n-6</b>	0,1	-	0,2	-	-	-	0,42
<b>C22:0</b>	0,1	-	0,1	-	0,9	0,9	-
<b>C24:0</b>	0,1	-	0,1	-	-	-	-

## 2.5 Antiossidanti

Tra i fattori che possono influenzare l'ossidazione troviamo, come già citato, le sostanze antiossidanti. Il termine antiossidante viene generalmente inteso come la proprietà di una sostanza di inibire l'ossidazione reagendo con i radicali ed interrompendo quindi la reazione a catena (*Conte, 2004*).

Una definizione più allargata definisce antiossidante una sostanza che, addizionata in basse concentrazioni comparate con quelle del substrato ossidabile, è in grado di ritardare o prevenire significativamente l'ossidazione del substrato stesso. Questi composti possono essere naturali costituenti degli alimenti, ma possono anche essere aggiunti intenzionalmente al prodotto. Il loro ruolo non è quello di migliorare la qualità degli alimenti, ma di mantenerla ed estendere la shelf-life.

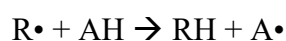
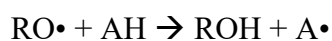
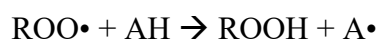
Gli antiossidanti dal punto di vista chimico si suddividono in naturali e sintetici.

Gli antiossidanti naturali sono componenti abituali degli alimenti, dove svolgono un'azione protettiva (tocoferoli, lecitine, acido ascorbico). Alcune di queste sostanze, possono essere aggiunte agli alimenti (*Conte, 2004*).

Gli antiossidanti sintetici, dove rivestono particolare importanza il butilidrossianisolo (BHA), il butidrossitoluolo (BHT) ed i gallati (PG), invece devono sempre rispettare le dosi massime d'impiego previste dalla legislazione vigente.

Un'altra classificazione prende invece in considerazione i meccanismi d'azione degli antiossidanti e in base a questi si distinguono antiossidanti primari e secondari. Alcuni antiossidanti esibiscono più di un meccanismo di azione e vengono definiti "a funzione multipla". Queste sostanze sono in grado di agire a tutti gli stadi di una reazione radicalica, con modalità molto diverse.

Gli antiossidanti primari sono delle sostanze riducenti, che si ossidano al posto dell'alimento, proteggendolo così dall'alterazione; sono accettori di radicali liberi, che ritardano o inibiscono l'iniziazione o interrompono la propagazione della reazione di autossidazione. Gli antiossidanti di questo tipo reagiscono con i radicali lipidici e perossilici e li convertono in composti più stabili e non radicalici, donando un atomo di idrogeno. Come donatori di idrogeno hanno maggiore affinità per i radicali perossilici (*Conte, 2004*).



Il radicale antiossidante A prodotto ha una reattività molto bassa per i lipidi il che riduce la velocità di propagazione. Il radicale dell'antiossidante è stabilizzato dalla delocalizzazione e partecipa alle reazioni di terminazione.



Gli antiossidanti primari sono maggiormente efficaci nelle fasi di induzione o iniziazione, mentre in presenza di quantità sostanziali di perossidi non hanno attività antiossidante (*Conte, 2004*).

Gli antiossidanti secondari, invece, sono in grado di ridurre gli antiossidanti primari, quando questi hanno reagito con l'alimento, rendendoli nuovamente idonei a continuare la loro attività. Agiscono con numerosi meccanismi che prevengono o ritardano l'ossidazione tramite la soppressione dell'iniziatore dell'ossidazione o acceleratori o rigeneratori di antiossidanti primari.

Rallentano la velocità di ossidazione in diversi modi, ma non convertono i radicali in composti più stabili. Gli antiossidanti secondari possono chelare i metalli proossidanti e disattivarli, restituire l'idrogeno agli antiossidanti primari, decomporre gli idroperossidi in specie non radicaliche, disattivare l'ossigeno singoletto, assorbire radiazioni UV, o comportarsi da "oxygen scavengers". Questi antiossidanti vengono spesso definiti sinergici perché promuovono l'attività degli antiossidanti primari (*Conte, 2004*).

L'efficacia degli antiossidanti è influenzata da numerosi fattori, incluso le sue caratteristiche strutturali, la concentrazione, la temperatura, il tipo di substrato ossidato e lo stato fisico del sistema così come la presenza di pro-ossidanti e sinergisti.

## 2.5.1 Tocoferoli

I tocoferoli rappresentano un'importante classe di 8 composti, naturalmente presenti negli oli vegetali e compresi nel termine generico di vitamina E. Con questo termine si indicano 8 composti, gli alfa-, beta-, gamma-, delta-tocoferoli ed i corrispondenti tocotrienoli. Nell'olio di oliva non vi sono quantità rilevabili di tocotrienoli, mentre sono presenti i tocoferoli fra cui prevale nettamente l'alfa-tocoferolo, seguita da minori quantità di beta e gamma, mentre non viene rilevata la presenza di delta-tocoferoli (Conte, 2004).

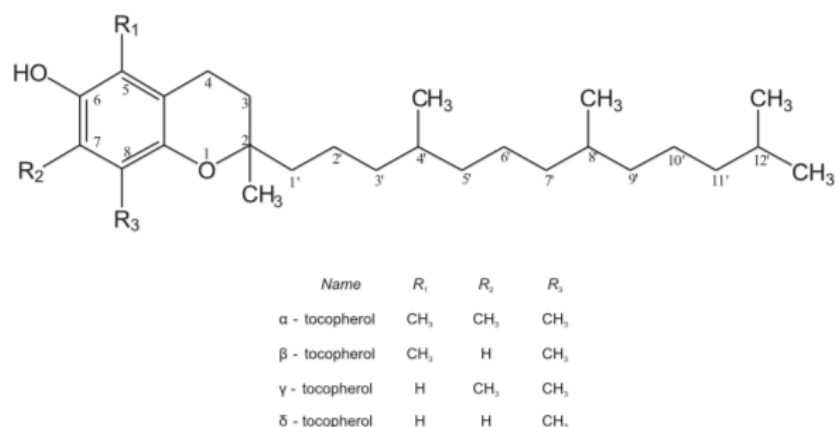
I tocoferoli sono gli antiossidanti naturali più conosciuti; si trovano prevalentemente nei semi e negli oli, dove svolgono la loro azione. L'attività antiossidante decresce passando dalla forma  $\delta$  a quella  $\alpha$ , mentre quella vitaminica aumenta. Come illustrato nella figura sottostante (**Figura 6**), i tocoferoli sono composti derivati del 6-cromanolo, con catena laterale isoprenica a 16 atomi di C, satura; i quattro omologhi differiscono tra loro per il numero e la posizione dei gruppi metilici sull'anello aromatico. Si possono ottenere per distillazione sottovuoto degli oli vegetali e anche per sintesi.

Sono insolubili in acqua ma solubili nei grassi, facilmente ossidabili e sensibili all'azione dei raggi UV. Risultano invece stabili all'aumento della temperatura (fino a 200°C), purché l'ambiente sia privo di ossigeno. Inoltre, la loro aggiunta è ammessa negli oli e nei grassi, tranne negli oli vergini e di oliva, e negli alimenti per lattanti (Cappelli & Vannucchi, 2015).

L'importante ruolo dei composti della vitamina E nella produzione e commercializzazione di alimenti è quello di prevenire l'ossidazione dei lipidi e dei lipidi contenuti in alimenti durante lo stoccaggio, prolungandone così la stabilità e la durata della conservazione. I tocoferoli e i tocotrienoli si trovano nelle piante in quantità variabili e la loro attività biologica e antiossidante varia tra i singoli composti. Gli oli vegetali forniscono la migliore fonte di vitamina E (A. Gliszczynska-Swiglo et al., 2007).

Il meccanismo antiossidativo dell'alfa-tocoferolo prevede la donazione di un protone ad un perossiradicale: il radicale alfa-tocoferil semichinone che si genera può donare un altro idrogeno, trasformandosi in metil-tocoferil semichinone per dare un dimero all' $\alpha$ -tocoferolo. Il metil-tocoferilchinone è instabile e dà origine ad un  $\alpha$ -tocoferilchinone.

Il dimero dell' $\alpha$ -tocoferolo continua a possedere attività antiossidanti. All'ossidazione dei tocoferoli derivano altri prodotti, con vari gradi di attività antiossidante (Conte, 2004).



**Figura 6.** La struttura dei tocoferoli (*Gliszczynska-Swiglo et al., 2007*)

Come possiamo vedere dalla **Tabella 2**, la quantità di tocoferoli varia generalmente in un intervallo che va da poche unità fino a 700 mg/kg.

**Tabella 2.** Contenuto totale in tocoferoli di oli vegetali e grassi (*Mba et al., 2015. Warner et al., 2003. Verardo et al., 2010. Most et al., 2005. Capella et al., 1997*).

	Contenuto totale in tocoferoli (mg/kg)
<b>Olio extra vergine di oliva</b>	256,6
<b>Olio di cocco</b>	218,0
<b>Olio di palma</b>	500-600
<b>Olio di riso</b>	218
<b>Olio di girasole</b>	548,3
<b>Olio di girasole alto oleico</b>	450-1120
<b>Burro</b>	1,9

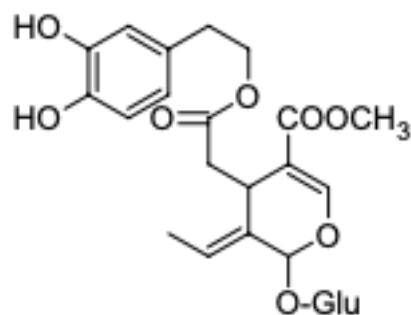
## 2.5.2 Polifenoli

Con i termini di fenoli e polifenoli si indicano delle sostanze che possiedono un anello benzenico legato ad uno o più gruppi OH, includendo anche derivati funzionali come esteri, metil-esteri, glicosidi, ecc. La maggior parte di questi composti si trova in natura coniugata principalmente con una molecola di zucchero (*Cabras & Martelli, 2004*).

I polifenoli hanno un ruolo importante nelle piante e negli alimenti. I principali usi dei polifenoli negli alimenti sono sotto forma di coloranti e di antiossidanti. Molte ricerche sui polifenoli hanno messo in luce le loro attività antiossidanti poiché hanno effetti positivi sulle malattie degenerative croniche, malattie cardiovascolari e il cancro. I polifenoli sono anche utilizzati come antiossidanti nell'industria alimentare per incrementare la shelf-life, che può essere limitata a causa del deterioramento dovuto a reazioni di ossidazione, specialmente l'ossidazione dei grassi (*M. Murkovic, 2003*).

In generale, si può dire che l'olio di oliva vergine sia praticamente il solo olio contenente quantità notevoli di sostanze fenoliche naturali, che gli conferiscono il gusto così particolare, contemporaneamente amaro e fruttato.

Questi composti contribuiscono in modo rilevante alla stabilità degli oli di oliva vergini, in termini di resistenza sia all'autossidazione che alla termossidazione. Il principale composto fenolico dell'olivo è l'oleuropeina (*Figura 7*), presente nella corteccia dell'albero, nelle foglie e nell'oliva. Il contenuto di oleuropeina può raggiungere il 14% della sostanza secca nel frutto giovane.



*Figura 7.* Oleuropeina (*Omar, 2010*)

Teoricamente, i fenoli non si trovano liberi, ma esterificati o eterificati nei glicosidi. In realtà, durante la maturazione dei frutti e la produzione dell'olio, si producono delle reazioni di ossidazione ed idrolisi in questi composti, dovute in parte al pH acido del mezzo e in parte al contatto con enzimi come la polifenolossidasi presente nella polpa delle olive. Queste reazioni naturali hanno come conseguenza la comparsa di fenoli liberi. A seconda della diversa solubilità, si crea un equilibrio di ripartizione dei fenoli nelle tre fasi: acquosa, gassosa e solida (polpa). Questo spiega la differente presenza dei composti fenolici nell'olio e nell'oliva.

L'effetto protettore risulta maggiore per gli ortodifenoli, mentre è debole per monofenoli come il tirosolo, che può rappresentare fino al 40% dei fenoli totali. Inoltre, diversi fenoli naturali hanno anche la capacità di intrappolare i radicali ossidrilici e perossidici. La "scavenging activity" dipende dalla loro struttura (Cabras & Martelli, 2004).

La qualità e la quantità dei polifenoli (da 100 a 800 mg/kg di olio, **Tabella 3**) sono in relazione alla varietà dell'olivo, alle caratteristiche pedoclimatiche, al grado di maturazione dei frutti e ai sistemi di raccolta e di estrazione. La concentrazione dei polifenoli nell'olio, però, non è che la minima parte (1-2%) di quella totale contenuta nelle olive, poiché queste sostanze passano nella sansa e nell'acqua di vegetazione; mentre la frazione glicerica è pressoché uguale in quasi tutti gli oli di oliva, salvo alcune variazioni quantitative a volte rilevanti che influenzano le caratteristiche organolettiche, nutrizionali, dietetiche e merceologiche (Cappelli & Vannucchi, 2015).

**Tabella 3.** Contenuto totale in polifenoli di oli vegetali e grassi (Verardo et al., 2010. Rodriguez et al., 2016. Janu et al., 2013. Herrera et al., 2001).

	<b>Contenuto totale in polifenoli (mg/kg)</b>
<b>Olio extra vergine di oliva</b>	169,8
<b>Olio di cocco</b>	18
<b>Olio di palma</b>	190,4 - 263,8
<b>Olio di riso</b>	8,9
<b>Olio di girasole</b>	4,9
<b>Olio di girasole alto oleico</b>	Non rilevato
<b>Burro</b>	Non rilevato



### 2.5.3 Altri antiossidanti naturalmente presenti

Nell'olio di riso notevole importanza sia per gli effetti benefici sulla salute sia per le sue spiccate proprietà antiossidanti, viene data dal  $\gamma$ -orizanolo, una miscela di steril-ferulati che si formano per esterificazione del gruppo ossidrilico di steroli (campesterolo, stigmasterolo, beta-sitosterolo) o alcoli triterpenici (cicloartanolo, cicloartenolo, 24-metilenecicloartanolo, ciclobranolo) con gruppo dell'acido carbossilico di acido ferroso (*Goufo & Trindade, 2014*).

Gli steroli con uno scheletro di steroidi saturo sono noti come stanoli, mentre i composti contenenti un doppio legame tra C5 e C6 o tra C7 e C8 sono indicati come steroli. I gruppi metilici al C4 influenzano le proprietà antiossidanti degli steril-ferulati.

Sulla base dei loro massimi di assorbanza a 330 nm, finora sono stati identificati almeno 25 componenti di  $\gamma$ -orizanolo, cinque dei quali comprendono circa il 95% del contenuto totale (*Goufo & Trindade, 2014*).

Nelle varietà di riso non pigmentate il valore medio di questi cinque componenti è 58,9, 3067,1 e 288,6 mg/kg rispettivamente per endosperma, crusca e chicco intero.

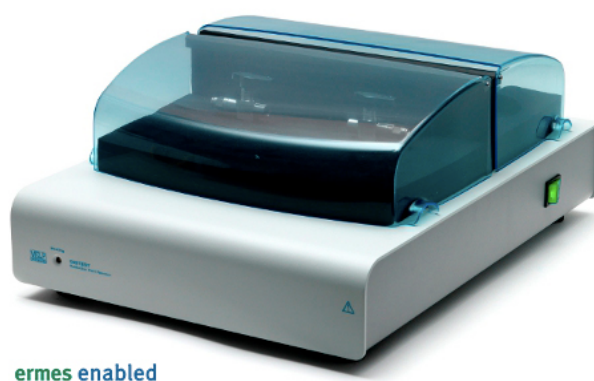
Il contributo di questi 5 componenti di  $\gamma$ -orizanolo al contenuto totale di  $\gamma$ -orizanolo è 24-metilenecicloartanol trans-ferulato (34-44%), ciclo-feril trans-ferulato (19-26%), campesteryl trans-ferulato (15-23%), beta-sitosteryl trans-ferulato (7-17%) e stigmasteryl trans-ferulato (1-7%) (*Goufo & Trindade, 2014*).

## 2.6 OXITEST® : un test di ossidazione accelerata

Le reazioni chimiche che si verificano tra ossigeno atmosferico e componenti sensibili sono alcune delle principali cause di degradazione del prodotto. In particolare, l'ossidazione dei grassi è riconosciuta come uno dei principali fattori che influisce sulla durata di conservazione degli alimenti.

Per tale scopo, Velp Scientifica ha sviluppato uno strumento innovativo (**Figura 8**) in grado di fornire all'operatore informazioni ad alto valore aggiunto relazionato a processi di ossidazione degli oli e dei grassi in campioni di alimenti ([www.velp.com](http://www.velp.com)).

Lo strumento è dotato di due camere d'ossidazione in titanio separate per analizzare lo stesso campione due volte o per analizzare contemporaneamente campioni diversi e nelle stesse condizioni di lavoro ([www.velp.com](http://www.velp.com)).



**Figura 8.** Strumento OXITEST® ([www.velp.com](http://www.velp.com))

Il reattore OXITEST® sottopone i campioni ad uno stress ossidativo in un ambiente ad alta temperatura e ad alta pressione d'ossigeno. La diminuzione della pressione d'ossigeno all'interno delle camere d'ossidazione è monitorata in accordo con la capacità dell'alimento in analisi ad ossidarsi e questo è espresso con il "periodo di induzione" (IP) ovvero il tempo necessario per ottenere un ciclo di ossidazione continuo durante un processo ossidativo; viene misurato come il tempo necessario per un improvviso e rapido cambiamento nel tasso di ossidazione (*Riciputi & Caboni, 2017*).

La possibilità di valutare la stabilità dei lipidi all'ossidazione con una buona ripetibilità di risultato in matrici complesse, come prodotti da forno, evitando l'estrazione di lipidi e con una minima

preparazione di campioni, rende il reattore OXITEST® un'ottima opzione per risparmiare tempo nella valutazione preliminare dell'ossidazione lipidica (*Riciputi & Caboni, 2017*).

Inoltre, questo strumento considera la complessità di alimenti formulati dando risultati più affidabili a causa delle interazioni tra componenti che possono essere considerati (*Riciputi & Caboni, 2017*).

Al giorno d'oggi è fondamentale poter valutare la stabilità ossidativa di prodotti prima della loro immissione sul mercato. Questo può essere fatto rapidamente con lo strumento OXITEST®.

Infatti, le moderne industrie alimentari tendono a soddisfare i bisogni dei consumatori che richiedono prodotti di alta qualità anche per lunghi periodi. Il mantenimento di alti livelli di qualità sensoriali associati alla freschezza dei prodotti sono raccomandati.

Per i prodotti semi-deperibili la valutazione delle caratteristiche sensoriali è essenziale per monitorare l'evoluzione dei parametri che influenzano l'accettabilità; infatti, le caratteristiche sensoriali di alimenti cambiano negativamente durante la conservazione, causando variazioni dei prodotti e la formazione di composti aromatici indesiderati. L'uso di panel di assaggiatori è utile per definire la shelf-life dei prodotti semi-deperibili, ma rappresentano una soluzione dispendiosa per le industrie in termini di tempo e soldi (*Caruso et al., 2017*).

I prodotti con una bassa umidità e con un alto contenuto lipidico come biscotti e altri prodotti da forno, sono particolarmente suscettibili all'ossidazione lipidica; infatti, questo tipo di cambiamento è la principale causa di deterioramento di questi prodotti.

La conseguenza dell'ossidazione lipidica, come già detto in precedenza, è la formazione di odori e sapori sgradevoli che compromettono l'accettabilità e la qualità nutrizionale di questi prodotti.

Infatti, uno dei principali effetti dell'ossidazione lipidica è la riduzione del contenuto in acidi grassi essenziali.

Inoltre, è stata osservato negli animali un effetto tossico dei prodotti primari e secondari dell'ossidazione lipidica (*Caruso et al., 2017*).

Possiamo infatti vedere che sono vari gli studi in letteratura che si occupano della valutazione della stabilità ossidativa di prodotti alimentari utilizzando lo strumento OXITEST®.

*Riciputi & Caboni (2017)* hanno studiato la shelf-life di un prodotto tipico italiano come i tarallini in relazione alla ricetta, alla cottura e alle condizioni di stoccaggio.

I risultati di quest'analisi hanno dimostrato una buona abilità di OXITEST® nel discriminare tra insaturazione lipidica e tempo di cottura, fornendo informazioni sulla shelf-life lipidica di matrici alimentari complesse, come possono essere i tarallini.

In un altro lavoro presente in letteratura, svolto da *Caruso et al.* (2017), si è valutato, tramite l'uso dello strumento OXITEST<sup>®</sup>, come la stabilità di prodotti da forno con un alto contenuto di grassi in 12 mesi di conservazione, varii notevolmente considerando quindi l'ossidazione lipidica come un fattore limitante per la shelf-life dei prodotti.

Questo studio sui prodotti da forno ha dimostrato una stabilità differente all'ossidazione in relazione al tipo di grasso usato e alla composizione del prodotto.

Questo lavoro ha inoltre messo in luce che lo strumento OXITEST<sup>®</sup>, potrebbe essere utile nelle industrie alimentari per poter determinare in tempo breve la shelf-life dei prodotti da forno o altri alimenti.

Anche *Marzocchi & Caboni* (2018), in un caso studio incentrato sulla valutazione degli effetti di tirosil oleato sull'ossidazione lipidica di un tipico prodotto da forno italiano (tarallini), hanno utilizzato questo strumento OXITEST<sup>®</sup> per la valutazione della stabilità ossidativa.

Fu infatti monitorato il processo ossidativo di tarallini a diversa formulazione di tirosil oleato durante la conservazione.

Questo test di ossidazione accelerata ancora una volta si è rivelato un'ottima metodologia per la valutazione della stabilità ossidativa di vari prodotti.

# CAPITOLO 3

## MATERIALI E METODI

### 3.1 Campioni

I campioni oggetto di studio sui quali è stata valutata la stabilità ossidativa tramite OXITEST® erano costituiti da 5 campioni di taralli e 6 campioni di biscotti a diversa formulazione. Sia biscotti che taralli differivano nella formulazione per quanto riguarda la frazione lipidica utilizzata.

- **Taralli:** T0, T1, T2, T3, T4.
  - T0: farina di frumento 0 (59%), *EVO* (16%), vino bianco (24%) e sale (1%);
  - T1: farina di frumento 0 (59%), *olio di girasole alto oleico* (16%), vino bianco (24%) e sale (1%);
  - T2: farina di frumento 0 (59%), *EVO* (14% - [87.5%]), *olio di girasole* (2% - [12.5%]), vino bianco (24%) e sale (1%);
  - T3: farina di frumento 0 (59%), *EVO* (12% - [75%]), *olio di riso* (4% - [25%]), vino bianco (24%) e sale (1%);
  - T4: farina di frumento 0 (59%), *olio di girasole alto oleico* (14% - [87.5%]), *olio di cocco* (2% - [12.5%]), vino bianco (24%) e sale (1%).
  
- **Biscotti:** B0, B1, B2, B3, B4, B5.
  - B0: farina di frumento 00 (52%), zucchero (16%), *olio di palma* (16%), uova (16%), scorza di un limone e lievito chimico (15 gr);
  - B1: farina di frumento 00 (52%), zucchero (16%), *burro* (16%), uova (16%), scorza di un limone e lievito chimico (15 gr);
  - B2: farina di frumento 00 (52%), zucchero (16%), *burro* (8% - [50%]), *EVO* (8% - [50%]), uova (16%), scorza di un limone e lievito chimico (15 gr);

- B3: farina di frumento 00 (52%), zucchero (16%), *burro* (8% - [50%]), *olio di girasole alto oleico* (8% - [50%]), uova (16%), scorza di un limone e lievito chimico (15 gr);
- B4: farina di frumento 00 (52%), zucchero (16%), *olio di girasole alto oleico* (16%), uova (16%), scorza di un limone e lievito chimico (15 gr);
- B5: farina di frumento 00 (52%), zucchero (16%), *olio di cocco* (14% - [87.5%]), *olio di girasole* (2% - [12.5%]), uova (16%), scorza di un limone e lievito chimico (15 gr).

## 3.2 Analisi con OXITEST®

Per poter valutare come la diversa formulazione in oli e grassi di taralli e biscotti potessero influire sulla conservabilità e quindi sulla shelf-life del prodotto, sono stati effettuati dei test di ossidazione accelerata tramite lo strumento OXITEST®.

### Apparecchiature utilizzate

- Spatole
- Bilancia tecnica (Scaletec, Goettingen, Germania)
- OXITEST® (Velp Scientifica, Usmate Velate – MB – Italia)

### Procedimento

Per l'analisi della stabilità ossidativa dei diversi campioni di taralli e biscotti è stato applicato lo stesso procedimento, che è il seguente:

- Pesata di “esattamente circa” 30 gr di campione all'interno dei contenitori porta campioni ( $n = 2$ );
- Compressione dei campioni tramite spatole ed inserimento nelle camere di ossidazione dello strumento;
- Avvio dell'analisi ad una pressione d'ossigeno di 6 bar e ad una temperatura di analisi di 90°C.

# CAPITOLO 4

## RISULTATI E DISCUSSIONE

### 4.1 Test di ossidazione accelerata con OXITEST®

La diminuzione della pressione d'ossigeno all'interno delle camere di ossidazione dello strumento OXITEST®, è misurata in accordo all'abilità dei campioni in analisi ad ossidarsi. I risultati ottenuti sono riportati sotto forma di *periodo di induzione* (IP) ossia il tempo richiesto per ottenere un ciclo di ossidazione continuo durante un processo ossidativo, misurato in ore (h).

I risultati, espressi come IP, sono ottenuti usando un metodo a due tangenti.

**Tabella 4.** Valori di IP (h) dei campioni di taralli ad una temperatura di 90°C e ad una pressione di ossigeno di 6 bar.

Campione	% di oli/grassi (16 g/100g - %)	IP (h)
T0	EVO 100%	34,48 ± 3,10b
T1	Olio di girasole alto oleico 100%	23,19 ± 0,33c
T2	EVO 87,5% + Olio di riso 12,5%	20,50 ± 0,44d
T3	EVO 75% + Olio di riso 25%	40,39 ± 1,15a
T4	Olio di girasole alto oleico 87,5% + Olio di cocco 12,5%	23,34 ± 0,40c

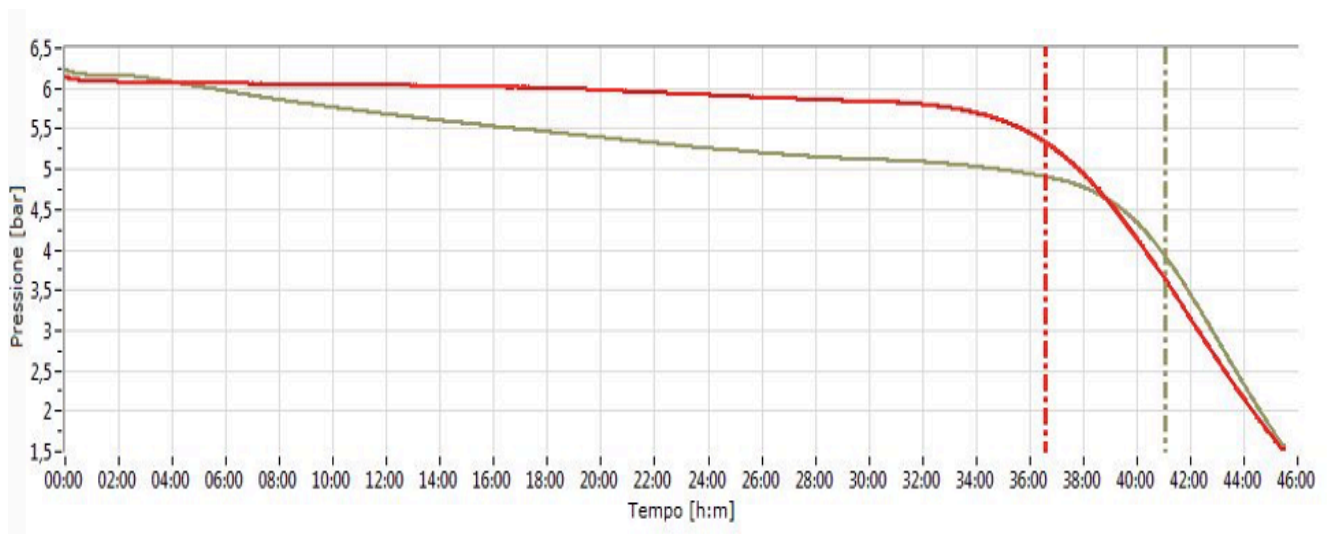
Lettere diverse denotano valori medi significativamente differenti ( $p \leq 0,05$ ).

Come possiamo notare nella **Tabella 4**, l'andamento dei valori di IP nei diversi campioni di taralli a diversa formulazione, varia a seconda della composizione e del contenuto di matrice lipidica.

In **Figura 9**, vediamo come il campione T0, formulato utilizzando solo olio extra vergine di oliva ha un tempo di induzione, 34,48 ore, significativamente inferiore solo al campione T3 (formulato con olio EVO e olio di riso 75:25). Questo andamento è legato al fatto che l'olio di oliva extra vergine (EVO) è caratterizzato da un alto contenuto di tocoferoli, in particolare  $\alpha$ -tocoferolo (228,7 mg/kg – *Verardo et al., 2010*) e di polifenoli, dove la maggior parte è rappresentato da oleuropeina. È proprio

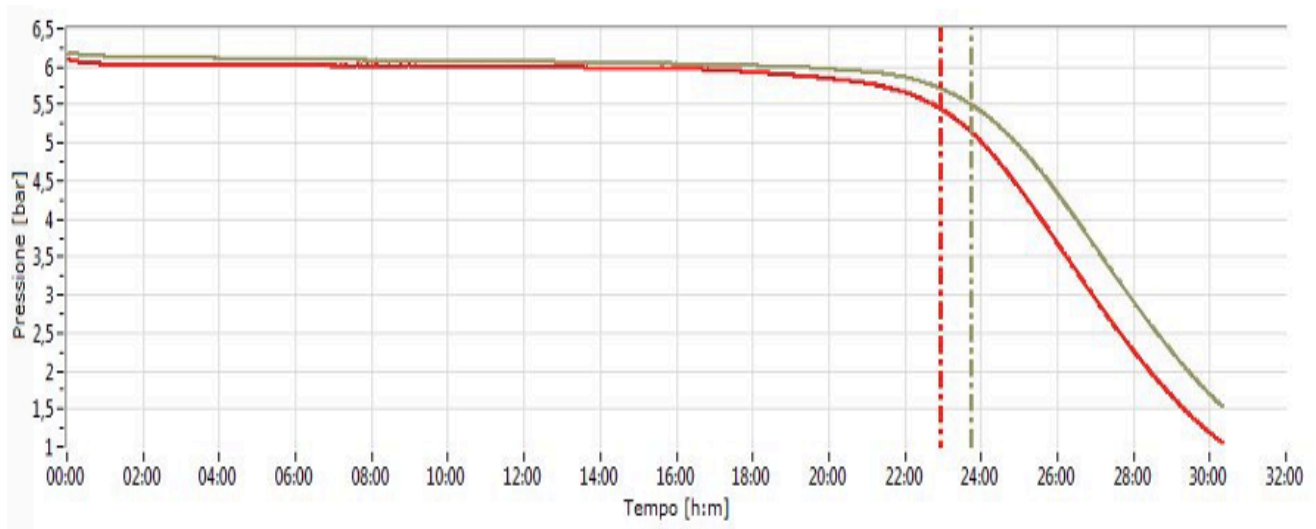


grazie all'elevata presenza di questi ultimi due componenti, che i taralli formulati con olio EVO hanno un'elevata stabilità all'ossidazione lipidica.



**Figura 9.** Andamento della curva tempo-pressione del campione T0 per la misurazione del periodo di induzione (IP).

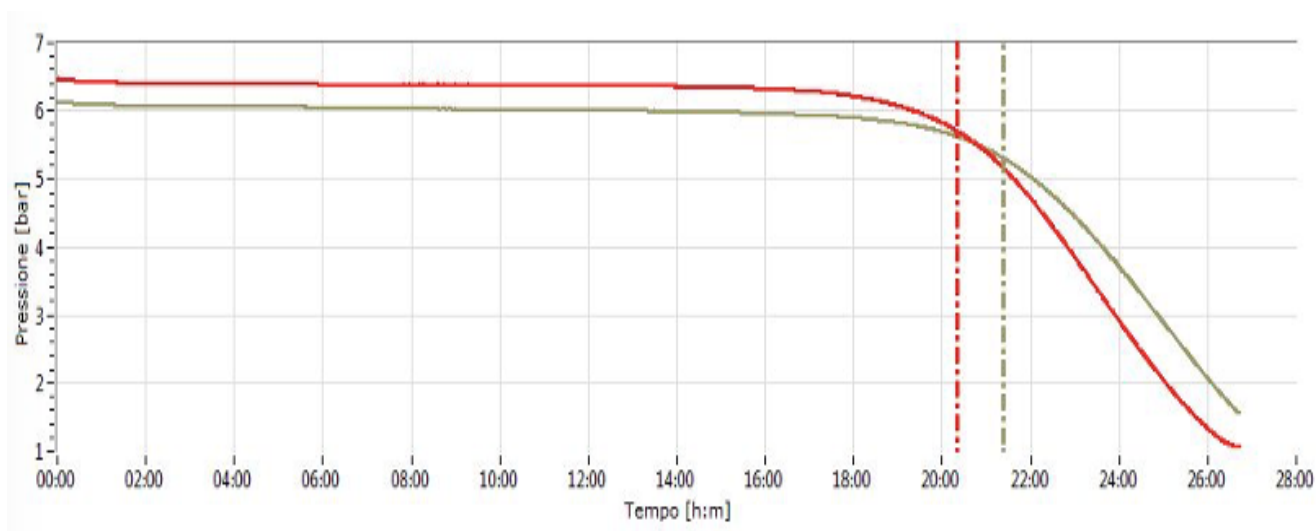
Il campione T1 (**Figura 10**), contenente come matrice lipidica, l'olio di girasole alto oleico, presenta un IP di 23,19 ore, valore non significativamente differente dal campione T4, costituito da olio di girasole alto oleico e olio di cocco (87,5:12,5); ma significativamente inferiore rispetto al campione T1, formulato con olio EVO.



**Figura 10.** Andamento della curva tempo-pressione del campione T1 per la misurazione del periodo di induzione (IP).

L'olio di girasole alto oleico nonostante sia caratterizzato comunque da una notevole quantità di tocoferoli (450-1120 mg/kg, di cui circa 400-1090  $\alpha$ -tocoferolo, 10-35  $\beta$ -tocoferolo e 3-30  $\gamma$ -tocoferolo – *Warner et al., 2003*), ha bassa stabilità all'ossidazione lipidica, forse a causa della maggior presenza di acidi grassi monoinsaturi (acido oleico – 82,1% - *Salas et al., 2015*) e dalla mancata presenza di polifenoli.

Se mettiamo invece a confronto il campione T2 (*Figura 11*), composto da olio extra vergine di oliva e olio di girasole, e il campione T3, composto da olio extra vergine di oliva e olio di riso, vediamo come entrambe siano caratterizzate da un olio (EVO) con un alto contenuto di acidi grassi monoinsaturi e da un olio (girasole nel primo caso e riso nel secondo) caratterizzato anche dalla presenza di acidi grassi polinsaturi (meno stabili all'ossidazione lipidica).



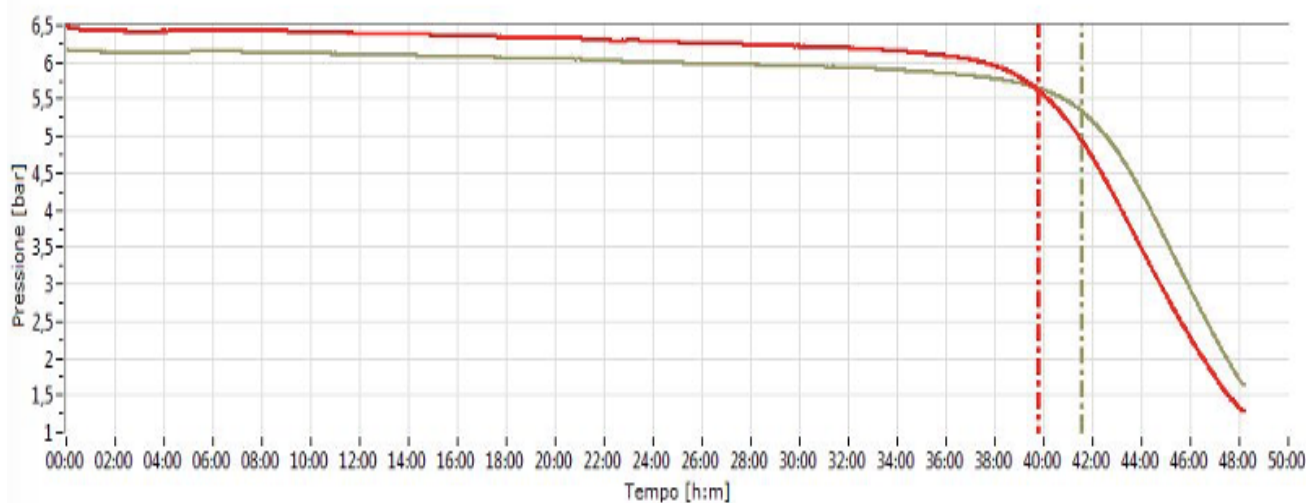
*Figura 11.* Andamento della curva tempo-pressione del campione T2 per la misurazione del periodo di induzione (IP).

La differenza sta nella presenza di un IP significativamente maggiore nel campione ottenuto con olio EVO e olio di riso.

Questo può essere spiegato dal fatto che l'olio di riso del campione T3 sia solitamente caratterizzato da alti livelli di composti con proprietà antiossidanti come tocoferoli (218 mg/kg, di cui 180 mg/kg è  $\alpha$ -tocoferolo, mentre il restante è rappresentato da  $\gamma$ -tocoferolo – *Most et al., 2005*) e  $\gamma$ -orizanolo (3000 mg/kg – *Juliano et al., 2005*). Il  $\gamma$ -orizanolo è una miscela di almeno 10 fitosteril ferulati. Il

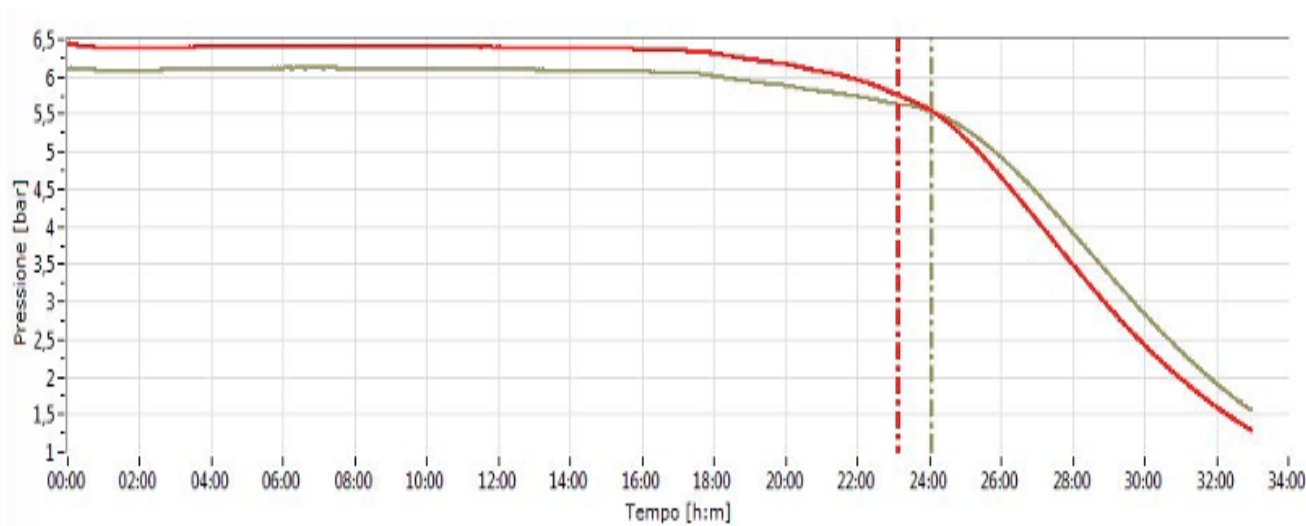
cicloartenil-ferulato, il 24-metilenecicloartanil-ferulato e il campesteryil-ferulato sono stati identificati come i componenti principali, rappresentando l'80% della molecola (Juliano et al., 2005).

Proprio per questo, grazie alla presenza di tale composto, il valore di IP nel campione T3 (raffigurato in **Figura 12**) è il più elevato rispetto agli altri (40,39 ore) e perciò presenta una maggior stabilità all'ossidazione anche se contiene più del 70% di acidi grassi insaturi, riconosciuti come maggiormente instabili all'ossidazione.



**Figura 12.** Andamento della curva tempo-pressione del campione T3 per la misurazione del periodo di induzione (IP).

Per quanto riguarda il campione T4 (**Figura 13**), composto dal 12,5% di olio di cocco e dal restante olio di girasole alto oleico (rispettivamente olio di girasole alto oleico:olio di cocco 87,5:12,5), troviamo un valore IP di 23,24 ore. Vediamo come questo campione mostra un IP non significativamente differente rispetto al T1, formulato con solo olio di girasole alto oleico, ma significativamente minore rispetto a T0 e T3, formulati con olio EVO. E' stato riscontrato questo andamento seppure l'olio di cocco contiene un'altissima percentuale di acidi grassi saturi (C10, C12, C14 e C16, dove un 44,5% è rappresentato da C12:0 - Pham, 2016) oltre alla presenza di un'alta percentuale di tocoferoli nell'olio di girasole alto oleico (450-1120 mg/kg, di cui circa 400-1090  $\alpha$ -tocoferolo, 10-35  $\beta$ -tocoferolo e 3-30  $\gamma$ -tocoferolo – Warner et al., 2003).



**Figura 13.** Andamento della curva tempo-pressione del campione T4 per la misurazione del periodo di induzione (IP).

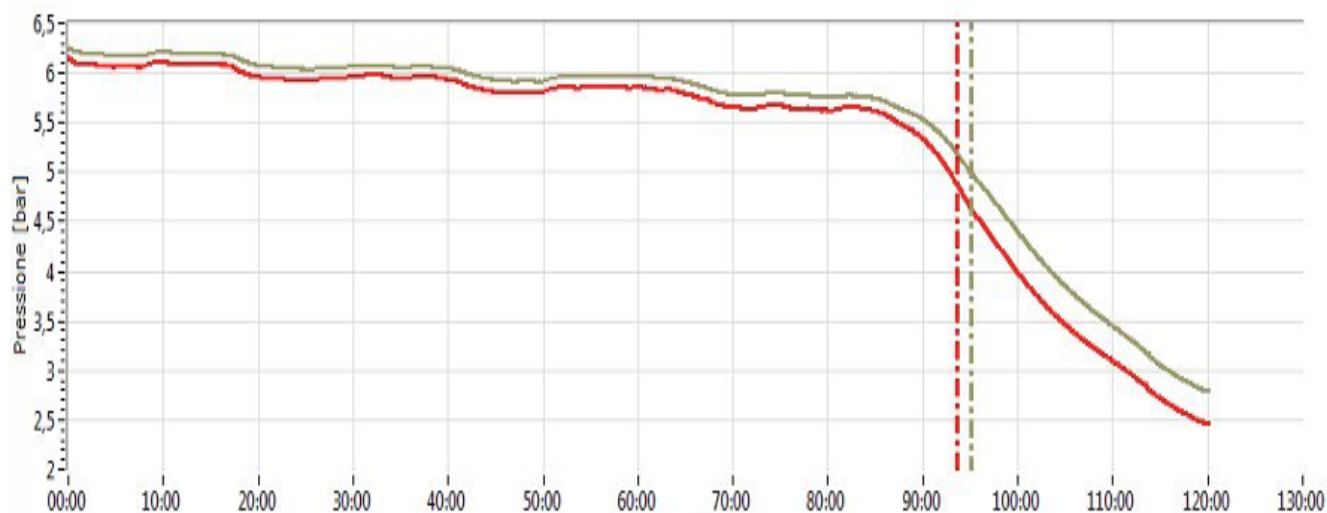
Analizzando invece i campioni di biscotti in **Tabella 5**, vediamo come la matrice lipidica dei campioni B1, B2 e B5, essendo caratterizzati da un'alta percentuale di acidi grassi saturi, riconosciuti per essere maggiormente stabili all'ossidazione lipidica, hanno un IP significativamente maggiore rispetto agli altri.

**Tabella 5.** Valori di IP in ore dei campioni di biscotti ad una temperatura di 90°C e ad una pressione di ossigeno di 6 bar.

Campione	% oli/grassi (16 g/100g - %)	IP (h)
B0	Olio di palma 100%	64,57 ± 4,35d
B1	Burro 100%	94,18 ± 0,58a
B2	Burro 50% + EVO 50%	92,23 ± 13,13ab
B3	Burro 50% + Olio di girasole alto oleico 50%	75,43 ± 7,42c
B4	Olio di girasole alto oleico 100%	89,39 ± 5,26b
B5	Olio di cocco 87,5% + olio di girasole 12,5%	95,09 ± 10,31a

Lettere diverse denotano valori medi significativamente differenti ( $p \leq 0,05$ ).

Il campione B1 (**Figura 14**), composto interamente da burro, presenta un IP di 94,18 ore. Questa alta resistenza all'ossidazione può essere spiegata dall'alta percentuale di acidi grassi saturi presenti all'interno del burro, infatti essi rappresentano circa il 70% degli acidi grassi del burro, noti per la loro stabilità nei confronti dell'ossidazione. Gli acidi grassi saturi presenti nel burro sono principalmente C14:0 (10,65%), C16:0 (28,65%) e C18:0 (12,41%) (Bobe et al., 2003).



**Figura 14.** Andamento della curva tempo-pressione del campione B1 per la misurazione del periodo di induzione (IP).

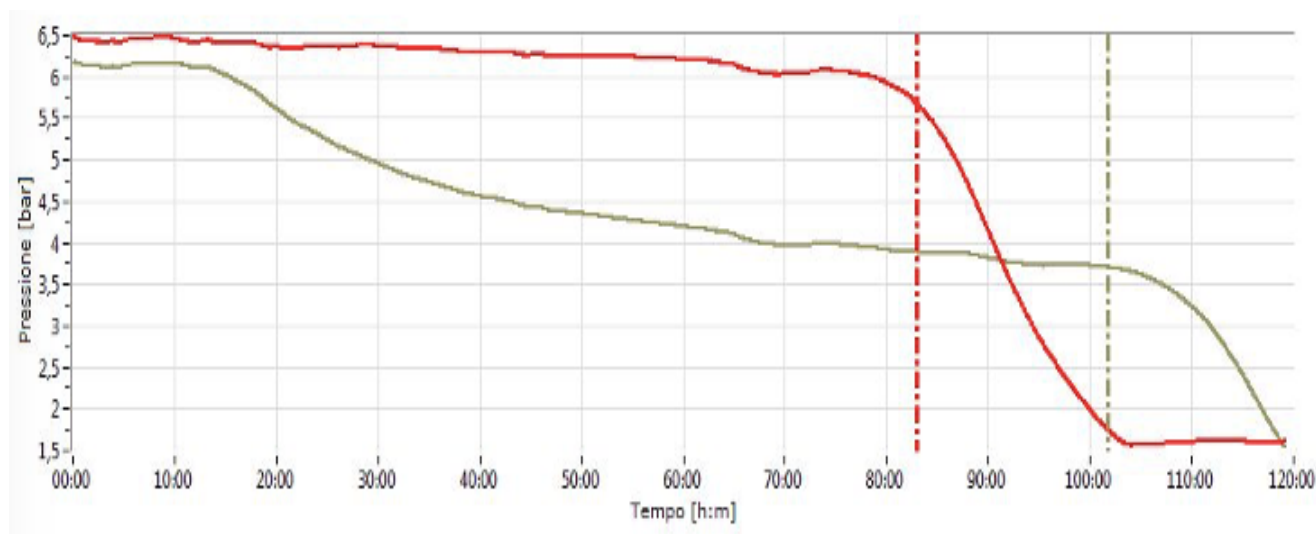
Per la stessa ragione possiamo vedere come anche l'IP del campione B5, 95,05 ore, composto in matrice lipidica dall'87,5% da olio di cocco e dal restante olio di girasole, è molto elevato.

Questo alto valore di IP è dovuto dalla presenza notevole di acidi grassi saturi all'interno dell'olio di cocco, (in particolare C12:0 – 44,5%, C14:0 – 18,6% e C16:0 – 12% - Pham, 2016), che vanno a costituire circa l'87% degli acidi grassi totali e anche dalla presenza di elevati valori di tocoferoli nell'olio di girasole (548,3 mg/kg - Verardo et al., 2010), dove la maggior parte è costituito da  $\alpha$ -tocoferolo (509,3 mg/kg - Verardo et al., 2010).

Il campione B2 (**Figura 15**), costituito da 50% di burro e 50% di olio extra vergine di oliva invece presenta un IP di 92,23 ore.

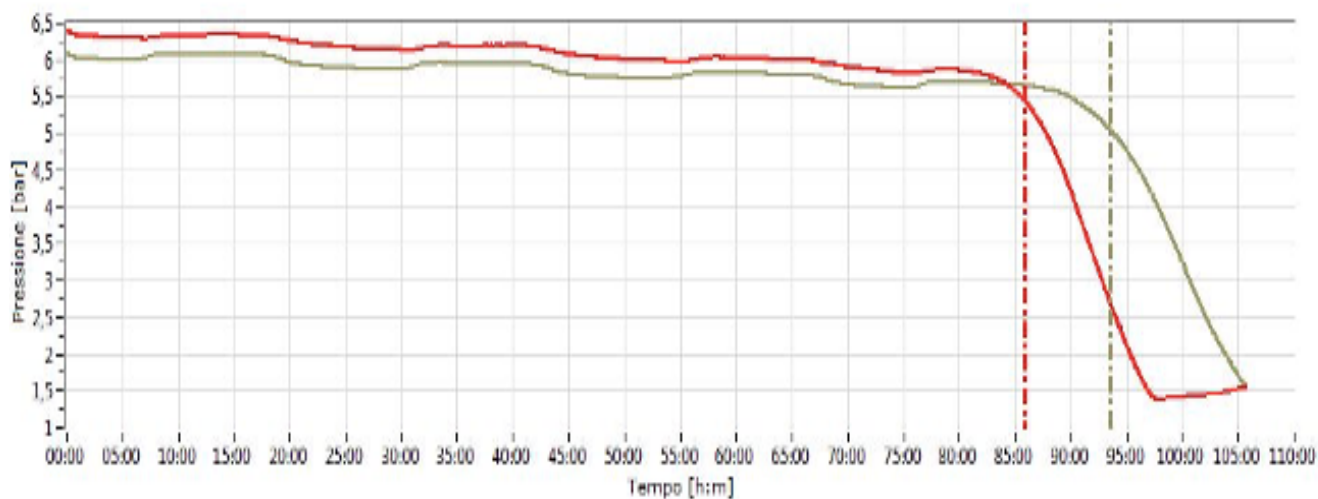
L'alta stabilità all'ossidazione di questo campione può essere attribuita all'elevata presenza nel burro di acidi grassi saturi (principalmente C14:0 (10,65%), C16:0 (28,65%) e C18:0 (12,41%) - Bobe et al., 2003) e dalla presenza nell'olio extra vergine di oliva di sostanze naturali antiossidanti come i

tocoferoli e i polifenoli, in particolar modo  $\alpha$ -tocoferolo (228,7 mg/kg – *Verardo et al., 2010*) e oleuropeina.



**Figura 15.** Andamento della curva tempo-pressione del campione B2 per la misurazione del periodo di induzione (IP).

Per quanto riguarda il valore IP del campione B4, in **Figura 16**, (costituito da olio di girasole alto oleico) possiamo vedere come questo non sia significativamente differente solo dal campione B2 (burro:EVO 50:50) dei campioni appena discussi. Il campione B4 mostra un periodo di induzione di 89,39 ore e la sua maggior stabilità all'ossidazione rispetto ai campioni B0 e B3 (olio di palma e burro:girasole alto oleico 50:50, rispettivamente) è dovuta probabilmente all'alta percentuale di tocoferoli (450-1120 mg/kg, di cui circa 400-1090  $\alpha$ -tocoferolo, 10-35  $\beta$ -tocoferolo e 3-30  $\gamma$ -tocoferolo – *Warner et al., 2003*), sebbene sia un olio costituito dalla maggior parte da acidi grassi monoinsaturi (C18:1, acido oleico all'82,1% - *Salas et al., 2015*).

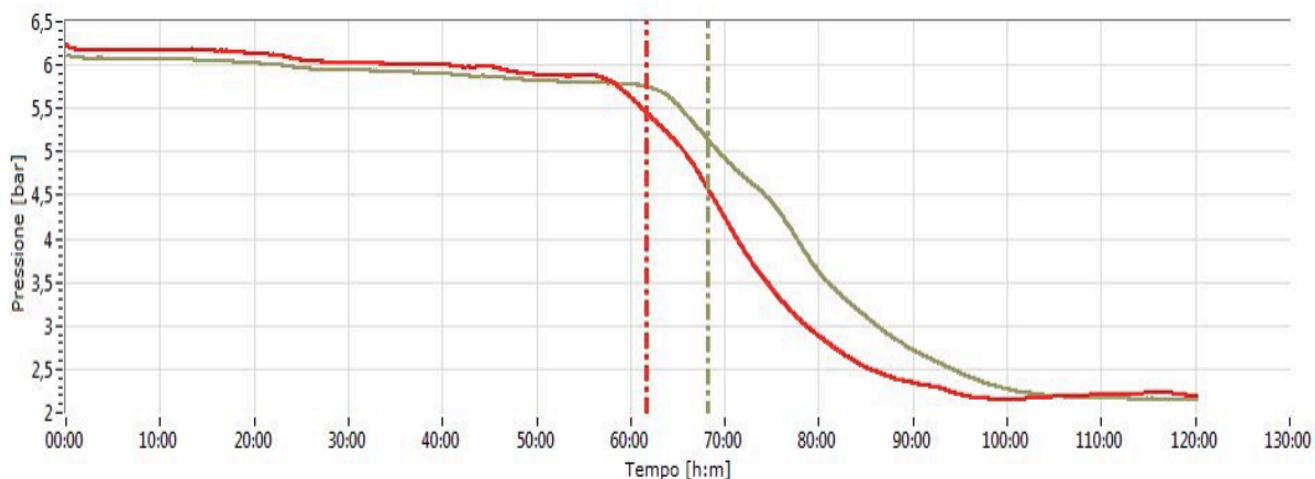


**Figura 16.** Andamento della curva tempo-pressione del campione B4 per la misurazione del periodo di induzione (IP).

Viceversa invece possiamo notare come il campione B0 (**Figura 17**) e il campione B3 abbiano dei periodi di induzione significativamente inferiori rispetto ai campioni precedenti ed, in particolare, il campione B0 mostra il valore di IP più basso di tutti.

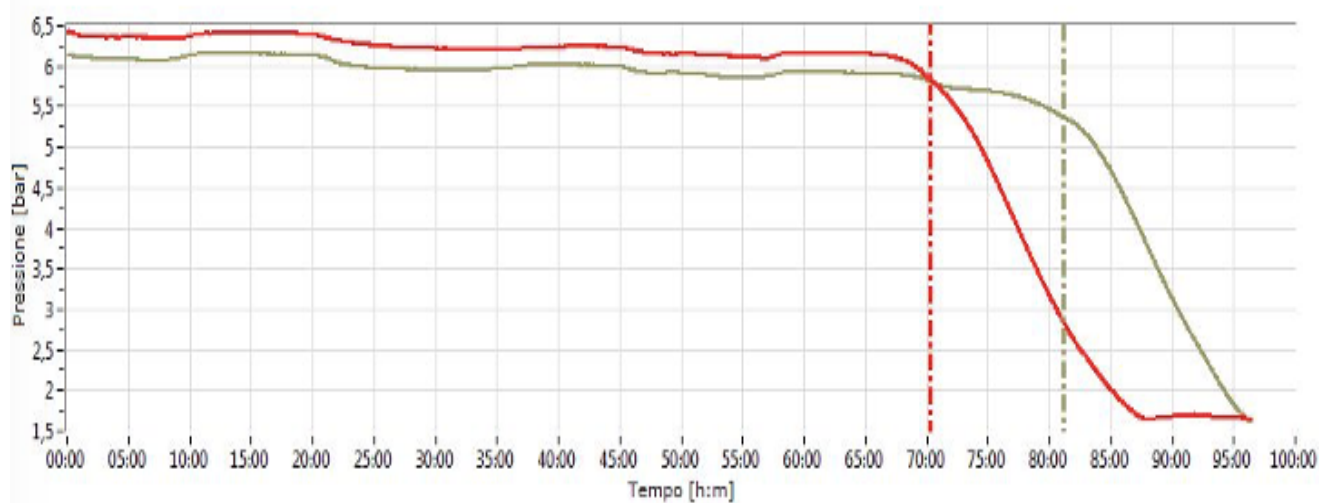
Il campione B0, che ha un IP di 64,57 ore è costituito da olio di palma. Questo tipo di olio è costituito da un 50% di acidi grassi saturi e 50% da acidi grassi insaturi ed un elevato contenuto di sostanze antiossidanti quali tocoferoli (500 – 600 mg/kg di cui 129-215 mg/kg sono  $\alpha$ -tocoferolo, 22-37 mg/kg  $\beta$ -tocoferoli, 19-32 mg/kg  $\gamma$ -tocoferoli e 10-16 mg/kg di  $\delta$ -tocoferoli – *Mba et al., 2015*) e polifenoli. Complessivamente vediamo come l'olio di palma abbia una bassa stabilità all'ossidazione lipidica rispetto agli altri campioni, anche se presenta un alto contenuto di carotenoidi (500-700 mg/kg), tocoferoli e tocotrienoli (1000-1200 mg/kg) che insieme contribuiscono comunque alla stabilità e la qualità dell'olio di palma (*Mba et al., 2015*).





**Figura 17.** Andamento della curva tempo-pressione del campione B0 per la misurazione del periodo di induzione (IP).

Il campione B3 (**Figura 18**) presenta un IP di 75,45 ore ed è costituito in materia prima lipidica, da 50% di burro e 50% di girasole alto oleico. Questo suo basso IP può essere derivato dal fatto che l'unione dei due oli porta ad un valore di acidi grassi insaturi abbastanza elevato (soprattutto di acido oleico che rappresenta il principale composto insaturo di entrambi gli oli – burro: 25,27 g/100g e girasole alto oleico: 82,1 g/100g) ed inoltre è solamente la frazione di tocoferoli presenti nell'olio di girasole alto oleico a poter agire da antiossidante naturali, in quanto il burro non ne contiene o se ne contiene è davvero una minima percentuale rispetto a quello che si può trovare nell'olio di girasole alto oleico (450 – 1120 mg/kg, di cui circa 400-1090  $\alpha$ -tocoferolo, 10-35  $\beta$ -tocoferolo e 3-30  $\gamma$ -tocoferolo – *Warner et al., 2003*).



**Figura 18.** Andamento della curva tempo-pressione del campione B3 per la misurazione del periodo di induzione (IP).



Considerando i due tipi di campioni, taralli e biscotti, in generale si sono ottenuti valori di IP più elevati nei biscotti; ma questo tipo di prodotto per sua più complessa formulazione ha mostrato una variabilità maggiore, che è possibile vedere dalle elevate deviazioni standard ottenute in alcuni casi. Infatti rispetto ai taralli, nella formulazione dei biscotti tra gli ingredienti erano stati usati anche lo zucchero, la scorza di un limone ed il lievito.

Gli antiossidanti sintetici utilizzati generalmente nella produzione di alimenti sono il BHT e BHA, ma sono tossici e possono causare rischi per la salute ed è per questo che gli antiossidanti naturali sono diventati importanti solo recentemente per il loro ruolo preventivo nell'auto-ossidazione di grassi, oli e di lipidi presenti negli alimenti (*Singh & Immanuel, 2014*).

Un esempio è appunto la scorza di limone che ritroviamo nella formulazione dei biscotti. La scorza di limone è un oggetto di scarto/rifiuto durante il processo di lavorazione del frutto che può essere utilizzato come antiossidante naturale per poter incrementare la shelf-life di prodotti alimentari, prevenendo la formazione di perossidi. Infatti, questi antiossidanti naturali possono essere aggiunti ad alimenti che contengono oli e grassi per incrementare la loro conservabilità prevenendo la rancidità, grazie ad un alto contenuto totale in fenoli di 211,70 mg/g e un contenuto totale in flavonoidi di 0,9 mg QE/g (*Singh & Immanuel, 2014*).

Inoltre, alcuni campioni di biscotti (B1 e B2) che hanno come matrice lipidica il burro, presentano maggiori IP. Questo è riconducibile oltre che alla presenza di un'alto contenuto di acidi grassi saturi nel burro (principalmente C14:0 (10,65%), C16:0 (28,65%) e C18:0 (12,41%) - *Bobe et al, 2003*), anche alla presenza di una frazione di grasso in forma globulare che risulta essere particolarmente resistente ai fenomeni ossidativi.

Il grasso del latte si trova naturalmente presente nel latte e nella panna, formando un'emulsione olio in acqua. In emulsione, il grasso del latte è contenuto nei globuli di grasso del latte, circondato dalla membrana dei globuli di grasso del latte che funge da emulsionante ed inoltre stabilizza i globuli di grasso abbassando la tensione superficiale e proteggendo il grasso dalle azioni chimiche come idrolisi e ossidazione (*Rønholt et al., 2013*).

Però all'interno del burro solo un numero limitato di globuli di grasso di latte sono ancora presenti alla fine del processo di lavorazione, questo perché dipende fortemente dalla procedura di maturazione della crema e dalle condizioni di lavoro (*Juriaanse & Heertje, 1988*).

Oltre alle caratteristiche precedentemente viste, che rendono i biscotti più stabili all'ossidazione lipidica rispetto ai taralli, vediamo come anche i prodotti della reazione di Maillard incidano notevolmente sulla shelf-life dei prodotti.

L'interazione tra uno zucchero riducente e un amminoacido, un peptide o una proteina è conosciuta come reazione di Maillard. La glicosilazione o glicazione è un'importante reazione che induce un legame covalente tra gli zuccheri e i gruppi  $\alpha$  o  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub> di amminoacidi e proteine per formare proteine glicate (Benjakul et al., 2004). La reazione di Maillard è influenzata da molti fattori, tra cui la concentrazione di reagente, la temperatura, il tempo, il pH iniziale e l'attività dell'acqua (Benjakul et al., 2004). La reazione di Maillard produce una varietà di prodotti intermedi e pigmenti, ovvero le melanoidine; prodotti della reazione di Maillard (MRP) hanno mostrato attività antiossidante attraverso la donazione di elettroni e l'eliminazione dei radicali (Benjakul et al., 2004).

Infatti, vediamo come prendendo in considerazione il campione B4 e il campione T1, entrambe composte in matrice lipidica da solo olio di girasole alto oleico; il primo ha un periodo di induzione (IP) notevolmente maggiore rispetto a T1. Questo è dato dalla presenza di scorza di limone con naturali proprietà antiossidanti e dall'elevato contenuto in zuccheri riducenti e proteine che favoriscono la reazione di Maillard generando composti che incrementano la stabilità a reazioni di ossidazione lipidica dei campioni in oggetto.

# CAPITOLO 5

## CONCLUSIONE

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è quello di valutare la stabilità ossidativa lungo la shelf-life, di matrici lipidiche contenute all'interno di taralli e biscotti a diversa formulazione.

Per poter valutare come la diversa composizione in matrice lipidica e anche le interazioni con gli ingredienti propri di ogni singolo campione possa influenzare la conservabilità di taralli e biscotti, sono stati effettuati dei test ad ossidazione accelerata, tramite l'uso dello strumento OXITEST<sup>®</sup>, che sottopone i campioni ad uno stress ossidativo a determinate condizioni di processo, ovvero temperatura di 90°C e pressione parziale di ossigeno di 6 bar.

Dall'analisi dei dati ottenuti è possibile concludere che i diversi campioni mostrano diversa stabilità all'ossidazione lipidica secondo la propria composizione in oli e/o grassi e gli ingredienti in essi contenuti.

Infatti, i biscotti mostravano un periodo di induzione maggiore rispetto ai taralli, probabilmente dovuto alla presenza, oltre ad oli e grassi, di scorza di limone che presenta elevate proprietà antiossidanti, ma a causa della loro maggiore complessità rispetto ai taralli presenta però un valore di deviazione standard significativamente maggiore.

L'alta stabilità del campione B1 (94,18), essendo composto interamente da burro, è data dall'alta percentuale di acidi grassi saturi. La stabilità del campione B2 (92,23), essendo composto da EVO e burro, è data dall'elevata presenza di acidi grassi saturi nel burro e da sostanze antiossidanti naturali presenti nell'EVO.

L'alta stabilità dei campioni di biscotti contenenti burro (ovvero B1 e B2) è attribuibile anche alla specifica struttura del grasso del latte. Infatti, il burro svolge un ruolo importante anche nella protezione ai fenomeni degradativi, come l'ossidazione, grazie alla presenza di grasso in forma globulare.

Il problema però è dato dal fatto che la composizione della membrana dei globuli di grasso nel latte può essere modificata da vari fattori come la lavorazione (principalmente omogeneizzazione), fattori ambientali, fattori derivanti dagli animali e dieta; anche se esiste ancora, a seguito della lavorazione,

una frazione lipidica in forma globulare che risulta particolarmente protetta da fenomeni ossidativi, ed è perciò anche per questo che il burro ha una stabilità ossidativa molto elevata.

Per quanto riguarda il campione B5, composto da olio di cocco e olio di girasole, l'elevata stabilità (95,05), è attribuibile all'alto contenuto di acidi grassi saturi all'interno dell'olio di cocco e da sostanze antiossidanti quali tocoferoli e polifenoli nell'olio di girasole.

Per quanto riguarda i taralli, il campione con maggiore resistenza ai processi ossidativi è il campione T3 (40,39), ottenuto con EVO e olio di riso, il quale presenta naturalmente alti livelli di sostanze antiossidanti come tocoferoli e  $\gamma$ -orizanolo.

Per concludere possiamo quindi dire che la stabilità ossidativa dei diversi campioni di taralli e biscotti dipende sia dalla composizione di oli/grassi sia dalla presenza di ulteriori ingredienti. Non è da escludere, poi, un contributo in termini di antiossidazione dei prodotti della reazione di Maillard: nei biscotti, infatti sia la componente di zuccheri riducenti che quella proteica sono rilevanti e quindi le condizioni di sviluppo di tale reazione può portare un contributo alla resistenza all'ossidazione. Si osserva infatti che nel B4 come nel T1 la frazione lipidica (uovo a parte) è data interamente da girasole alto oleico, ma il tempo OXITEST® (IP) è molto differente.

Infatti, nel caso dei taralli la stabilità ossidativa è influenzata dalla composizione in acidi grassi di oli e grassi presenti negli alimenti in oggetto e dalla presenza di sostanze antiossidanti naturalmente presenti; mentre nel caso dei biscotti, abbiamo anche la presenza di prodotti derivanti dalla reazione di Maillard e scorza di limone che contribuiscono entrambi ad aumentare la resistenza a fenomeni ossidativi.

# CAPITOLO 6

## BIBLIOGRAFIA

- Bobe, G., Hammond, E. G., Freeman, A. E., Lindberg, G. L., & Beitz, D. C. (2003). Texture of butter from cows with different milk fatty acid compositions. *Journal of Dairy Science*, 86(10), 3122-3127.
- Brown, W. H., Iverson, B. L., Foote, C. S., & Anslyn, E. V. (2015). Lipidi. Chapter 24, pp. 1049 – 1075. In: *Chimica organica*. EdiSES, Napoli.
- Capella, P., Fedeli, E., Bonaga, G., & Lercker, G. (1997). *Manuale degli oli e dei grassi*. Tecniche nuove.
- Cappelli, P., Vannucchi, V. (2015). Lipidi. Chapter 1, pp. 3 – 21. In: *Principi di chimica degli alimenti*. Zanichelli, Bologna.
- Cappelli, P., Vannucchi, V. (2015). Sostanze che derivano dalle trasformazioni dei principi nutritivi. Chapter 7, pp. 133 – 152. In: *Principi di chimica degli alimenti*. Zanichelli, Bologna.
- Cappelli, P., Vannucchi, V. (2015). Additivi alimentari. Chapter 10, pp. 197 – 223. In: *Principi di chimica degli alimenti*. Zanichelli, Bologna.
- Caruso, M. C., Galgano, F., Colangelo, M. A., Condelli, N., Scarpa, T., Tolve, R., & Favati, F. (2017). Evaluation of the oxidative stability of bakery products by OXITEST method and sensory analysis. *European Food Research and Technology*, 243(7), 1183-1191.
- Conte, L. (2004). Lipidi. Chapter 3, pp.41 – 68. In: *Chimica degli alimenti*, Eds Cabras P., Martelli A., Piccin, Padova.
- Fedeli, E., Bonaga, G., & Lercker, G. (1997). *Manuale degli oli e dei grassi*. Tecniche nuove.
- Frankel, E. N. (2014). *Lipid oxidation*. Elsevier.
- Gliszczynska-Swiglo, A., Sikorska, E., Khmelinskii, I., & Sikorski, M. (2007). Tocopherol content in edible plant oils. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 57(4 [A]), 157-161.
- Goufo, P., & Trindade, H. (2014). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols,  $\gamma$ -oryzanol, and phytic acid. *Food science & nutrition*, 2(2), 75-104.
- Herrera, M. D., Pérez-Guerrero, C., Marhuenda, E., & Ruiz-Gutiérrez, V. (2001). Effects of dietary oleic-rich oils (virgin olive and high-oleic-acid sunflower) on vascular reactivity in

- Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *British Journal of Nutrition*, 86(3), 349-357.
- Janu, C., Kumar, D. S., Reshma, M. V., Jayamurthy, P., Sundaresan, A., & Nisha, P. (2014). Comparative study on the total phenolic content and radical scavenging activity of common edible vegetable oils. *Journal of food biochemistry*, 38(1), 38-49.
  - Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M. C., & Piu, L. (2005). Antioxidant activity of gamma-oryzanol: mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. *International journal of pharmaceutics*, 299(1-2), 146-154.
  - Juriaanse, A. C., & Heertje, I. (1988). Microstructure of shortenings, margarine and butter—a review. *Food Structure*, 7(2), 8.
  - Mba, O. I., Dumont, M. J., & Ngadi, M. (2015). Palm oil: Processing, characterization and utilization in the food industry—A review. *Food bioscience*, 10, 26-41.
  - Méndez-Cid, F. J., Centeno, J. A., Martínez, S., & Carballo, J. (2017). Changes in the chemical and physical characteristics of cow's milk butter during storage: Effects of temperature and addition of salt. *Journal of Food Composition and Analysis*, 63, 121-132.
  - Most, M. M., Tulley, R., Morales, S., & Lefevre, M. (2005). Rice bran oil, not fiber, lowers cholesterol in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 64-68.
  - Murkovic, M. (2003). Phenolic Compounds: Occurrence, Classes, and Analysis. *Encyclopedia of Food and Health*, 4507 – 4514.
  - Omar, S. H. (2010). Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Scientia pharmaceutica*, 78(2), 133-154.
  - Pham, L. J. (2016). Coconut (cocos nucifera). In *Industrial Oil Crops* (pp. 231-242). AOCS Press.
  - Ramos, M. J., Fernández, C. M., Casas, A., Rodríguez, L., & Pérez, Á. (2009). Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. *Bioresource technology*, 100(1), 261-268.
  - Riciputi, Y., & Caboni, M. F. (2017). Assessing oil oxidative stability in Tarallini by OXITEST®. *Italian Journal of Food Science*, 29(1), 63.
  - Rodríguez, J. C., Gómez, D., Pacetti, D., Nunez, O., Gagliardi, R., Frega, N. G., ... & Lucci, P. (2016). Effects of the fruit ripening stage on antioxidant capacity, total phenolics, and polyphenolic composition of crude palm oil from interspecific hybrid *Elaeis oleifera* × *Elaeis guineensis*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(4), 852-859.

- Rodriguez-Estrada, M. T., Paciulli, M., Cerretani, L., & Chiavaro, E. (2017). Production of Vegetable Oils from Fruits, Oilseeds, and Beans: Conventional Processing and Industry Techniques. In *Edible Oils* (pp. 1-34). CRC Press.
- Rønholt, S., Mortensen, K., & Knudsen, J. C. (2013). The effective factors on the structure of butter and other milk fat-based products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(5), 468-482.
- Salas, J. J., Bootello, M. A., & Garcés, R. (2015). Food uses of sunflower oils. In *Sunflower* (pp. 441-464). AOCS Press.
- Sargent, J. R., Tocher, D. R., & Bell, J. G. (2003). The lipids. In *Fish nutrition* (pp. 181-257). Academic Press.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical society reviews*, 39(11), 4067-4079.
- Singh, S., & Immanuel, G. (2014). Extraction of antioxidants from fruit peels and its utilization in paneer. *Journal of Food Processing & Technology*, 5(7), 1.
- Verardo, V., Gómez-Caravaca, A. M., Gori, A., Losi, G., & Caboni, M. F. (2013). Bioactive lipids in the butter production chain from Parmigiano Reggiano cheese area. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(14), 3625-3633.
- Verardo, V., Riciputi, Y., Trivisonno, M. C., Marconi, E., & Caboni, M. F. (2010). Effect of the addition of air-classified barley flours on the lipid stability of bakery products. *European Food Research and Technology*, 231(2), 309-319.
- Warner, K., Vick, B., Kleingartner, L., Isaak, R., & Doroff, K. (2003, January). Compositions of sunflower, Nusun (mid-oleic sunflower) and high-oleic sunflower oils. In *Proc. Sunflower Res. Workshop, Fargo, ND* (pp. 16-17). National Sunflower Assoc. Mandan, ND.

### **Siti consultati**

[www.pacinimedicina.it](http://www.pacinimedicina.it)

[www.velp.com](http://www.velp.com)