

**ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI
BOLOGNA**

DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE AGRO-ALIMENTARI

CAMPUS DI CESENA

LAUREA MAGISTRALE IN

SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

**STUDIO DI SHELF-LIFE DI TARALLI CON MISCELE LIPIDICHE
DIVERSE**

Tesi in

69163 Modificazioni chimiche e analisi degli alimenti

Relatrice:

Prof.ssa Federica Pasini

Correlatore:

Dott. Cesare Ravagli

Candidata: Federica Grifa

Matricola N° 925848

Anno Accademico 2020/2021

INDICE

1	SCOPO DELLA TESI	2
2	INTRODUZIONE.....	4
2.1	PRODOTTI AGROALIMENTARI TRADIZIONALI.....	5
2.2	I TARALLI	8
2.2.1	IL PROCESSO PRODUTTIVO DEI TARALLI.....	9
2.2.2	IL CONSUMO DEI TARALLI	11
2.2.3	CARATTERISTICHE CHIMICO-FISICHE DEI LIPIDI.....	12
2.3	SHELF LIFE DEI TARALLI	23
2.3.1	OSSIDAZIONE LIPIDICA	24
3	MATERIALI E METODI.....	31
3.1	PROTOCOLLO SPERIMENTALE.....	32
3.2	ESTRAZIONE LIPIDICA: METODO SOXHLET	35
3.3	VALUTAZIONE DEL NUMERO DI PEROSSIDO (SHANTHA N.C. E DECKER E.A., 1994) 37	
3.4	DETERMINAZIONE DEI COMPOSTI VOLATILI: SPME-GC-MS	40
3.5	OXITEST®	42
3.6	ANALISI STATISTICA.....	43
4	RISULTATI E DISCUSSIONI	44
4.1	VALUTAZIONE DEL NUMERO DI PEROSSIDO	46
4.2	DETERMINAZIONE DEI COMPOSTI VOLATILI: ESANALE.....	51
4.3	TEST DI OSSIDAZIONE ACCELERATA CON OXITEST®	56
5	CONCLUSIONI	61
6	APPENDICE.....	64
7	BIBLIOGRAFIA.....	68

1 SCOPO DELLA TESI

Da molti studi svolti negli ultimi decenni emerge il profilo di un consumatore sempre più informato e sensibile, che ricerca prodotti innovativi e *healty*. Questi sono stati definiti “consumatori 4.0”, perché non acquistano più solo prodotti certificati ma sono sempre più attenti alle loro scelte di acquisto, sia per il loro benessere fisico che per quello del pianeta. La consapevolezza nei riguardi della qualità ha creato aspettative sempre maggiori per alimenti caratterizzati da elevati standard di qualità e sicurezza. La qualità alimentare rappresenta infatti, l'insieme delle caratteristiche di un prodotto in grado di soddisfare le esigenze dei consumatori. Il consumatore di oggi è un “misto di antico e contemporaneo, è un consumatore post-moderno” che sta ribaltando il proprio rapporto con il consumo.

Durante il periodo di pandemia questo aspetto si è fatto più forte, perché lo stare a casa ha portato ad un aumento dei consumi di alimenti a lunga conservazione. Uno dei settori particolarmente interessati è stato quello dei prodotti da forno, infatti, i consumatori hanno preferito i sostituti del pane al pane fresco; in particolar modo, questo incremento ha interessato gli snack salati e tra questi anche i taralli.

I taralli sono uno dei prodotti tipici della regione Puglia, particolari per la loro semplicità di produzione. Proprio per queste loro caratteristiche, spesso i taralli non sono percepiti dai consumatori come prodotti “grassi”, d'altra parte però, apportano alla dieta una consistente quantità di lipidi, in quanto nella loro ricetta è previsto l'utilizzo di una quantità discreta di olio extravergine di oliva (EVO).

In virtù di queste considerazioni, il principale scopo di questo lavoro di tesi è stato quello di produrre e valutare taralli ottenuti con miscele lipidiche differenti, diverse dal solo olio EVO che, se da un lato ha proprietà nutrizionali importanti e uniche, dall'altro è molto suscettibile all'ossidazione lipidica che può portare alla formazione di *off-flavour* e ridurre così la shelf life del prodotto e l'accettabilità da parte del consumatore.

2 INTRODUZIONE

2.1 PRODOTTI AGROALIMENTARI TRADIZIONALI



Figura 1 marchio dei PAT

Con il termine “Prodotti Agroalimentari Tradizionali - PAT” si intendono quei prodotti «le cui metodiche di lavorazione, conservazione e stagionatura risultano consolidate nel tempo» (*art. 1, comma 1, D.M. 8 settembre 1999, n. 350*) e «sono praticate sul proprio territorio in maniera omogenea e secondo regole tradizionali e protratte nel tempo, comunque per un periodo non inferiore ai venticinque anni» (*art. 1, comma 2, D.M. 8 settembre 1999, n. 350*).

In Italia l’elenco di questi prodotti tradizionali è stato stilato dal MiPAAF (Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali) e viene continuamente aggiornato. Attualmente le PAT in Italia sono 5.128 e la regione che possiede più PAT è la Campania con circa 569 alimenti a denominazione PAT (*Gazzetta Ufficiale Della Repubblica Italiana, 2008*).

I prodotti agroalimentari tradizionali sono prodotti di nicchia di mercato rispetto ad un prodotto a marchio DOP o IGP, in quanto la PAT non è una certificazione riconosciuta a livello europeo ma, è nata per risaltare un alimento che per almeno 25 anni ha subito gli stessi metodi di lavorazione, produzione, conservazione e stagionatura in tutto il territorio interessato, secondo delle regole tradizionali. Questi alimenti sono un vero e proprio biglietto da visita per il paese interessato, rappresentando piccole realtà dell’agricoltura italiana. Infatti, per la realizzazione di tali alimenti vengono utilizzate materie prime di particolare pregio, fortemente legate alla tradizione produttiva locale e artigianale, nelle quali il processo produttivo conferisce delle peculiarità ancorate al territorio. Questi prodotti sono il risultato di aziende medio-piccole, a filiera corta, le quali si impegnano a prestare maggior attenzione per dettagli e per la storicità del processo produttivo.

In seguito alla globalizzazione e standardizzazione degli alimenti sono sempre più i consumatori che stanno riscoprendo le tradizioni locali (Caponio *et al.*, 2009), infatti, proprio in seguito a questa necessità, il mercato italiano ha sentito l'esigenza di dover distinguere gli alimenti che sottolineano il legame con il territorio, attraverso la dicitura PAT.

Oggi, viviamo nell'era del "politeismo alimentare" (De Rita e Censis, 2010), fatto di mescolanze etniche, provenienza diversa dei prodotti e relative diete alimentari. L'esigenza di voler esaltare gli alimenti tradizionali di uno specifico territorio è nata per diversi motivi. Il primo fra tutti è stato l'introduzione di ricette e materie prime all'interno delle nostre diete che prima erano sconosciute (sushi, kebab, avocado, frutta esotica, ecc.) e che hanno avuto sempre un maggiore consenso da parte dei consumatori tanto da modificarne gusti e abitudini; il secondo motivo è stato lo spopolamento dei fast food nel mondo e in Italia, fortemente approvato dal consumatore, in quanto i ritmi lavorativi sono aumentati, la vita è diventata sempre più frenetica e il consumatore va sempre alla ricerca di soluzioni più veloci; un altro motivo che ha un po' depistato il consumatore dalla "genuinità" del prodotto alimentare è stato l'introduzione e sviluppo di nuove tecnologie che ci permettono di avere la disponibilità di una materia prima per l'intero anno, senza dover sottostare al passaggio delle stagioni (es. il pomodoro tutto l'anno) (Renna, *et al.* 2018).

Ai motivi sopra riportati, va aggiunto un ulteriore fattore che ha spinto l'introduzione delle PAT, l'innunerevole serie di scandali alimentari che si sono susseguiti, come l'infezione aviaria, la febbre suina, la mucca pazza, ecc.

Tutti questi motivi hanno spinto la società del consumo a rifugiarsi nel locale, nel tipico alla riscoperta di culture, sapori e credenze che fino a pochi decenni fa sembravano essersi persi. Per quello che riguarda il comparto agroalimentare si fa sempre maggiore attenzione a produzione tipiche e qualità certificata nei confronti delle parti interessate.

“È generalmente riconosciuto che i prodotti tipici rappresentano la parte più attrattiva del nostro sistema agroalimentare, dunque in grado di operare come baluardo contro l'invasione di alimenti a basso costo e, più in generale, di sostenere l'intera produzione agricola e agroalimentare nazionale” (Arfini e Belletti, 2010).

Oggi il consumatore è molto attento, anzi pretende che in etichetta vengano evidenziate eventuali tipicità del prodotto, con conseguente notevole aumento di consumo di questi alimenti.

I Prodotti Agroalimentari Tradizionali Italiani sono classificati in diverse categorie: latticini, prodotti a base carne, cereali, frutta e verdura, prodotti da forno e pasticceria e bevande alcoliche. I *Taralli*, matrice alimentare analizzata nel mio lavoro di tesi, rientrano nella categoria dei prodotti da forno. Questi snack sono tipici della Puglia, che ad oggi, secondo la Gazzetta Ufficiale Italiana, detiene 311 PAT.

2.2 I TARALLI



Figura 2 Taralli pugliesi

I *Taralli* sono comuni spuntini salati tipici della cucina italiana, spesso aromatizzati con spezie, cipolla o sale. Negli ultimi anni i taralli sono diventati popolari in tutto il mondo come snack salato o sostituti del pane. Sotto il punto di vista merceologico fanno parte della categoria “prodotti da forno” che di fatto è una categoria molto eterogenea di prodotti, classificabili sia per aspetti tecnologici che merceologici. Ad accumunare questi prodotti sono gli ingredienti di base: farina, acqua e agente lievitante (Cabras, 2004).

I *Taralli* sono alimenti tipici del sud Italia, precisamente originari della regione Puglia. La storia di questo prodotto risale all’incirca al ‘400, nel periodo in cui le regioni meridionali si ritrovarono ad affrontare una carestia. Secondo una leggenda, è stata una madre di famiglia ad aver impastato i primi taralli della storia, la quale con i pochi ingredienti che aveva in casa, olio d’oliva, farina, sale e vino, dovette improvvisare una ricetta per sfamare i propri figli. Dopo aver impastato, fece delle striscioline e le chiuse ad anello, le lasciò riposare e infine le mise in forno, così ottenne quelli che oggi chiamiamo “*Taralli*”.

L'origine del loro nome non è ancora ben nota, per molti è da ricercare nel termine latino “*torrère*” che significa abbrustolire, per via del loro aspetto croccante e leggermente bruno. Secondo altri, potrebbe derivare dal termine italico “tar”, ossia avvolgere o dal termine francese “*danal*” con cui si intende pane rotondo, dovuto appunto alla sua forma rotondeggiante (Caponio *et al.*, 2009).

I *Taralli* italiani sono dei sostituti del pane e caratterizzati da una forma ad anello e una consistenza friabile e croccante, con un diametro che va da 2-3 cm a circa 9-10 cm e con uno spessore che va da 7-8 mm a 1,5 cm (Caponio *et al.*, 2009). Questi prodotti sono il risultato dell'impasto di farina, acqua, sale, olio vegetale (o un altro grasso), e talvolta, con aggiunta di vino. La tecnologia di elaborazione prevede inizialmente una breve bollitura, necessaria per impedire la lievitazione prima della cottura in forno e conferisce un aspetto lucido in superficie. Oggigiorno, a livello industriale la tecnologia di produzione dei taralli può ricorrere all'utilizzo di un macchinario specifico chiamato “tarallatrice” (Barbieri *et al.*, 2018), una macchina che taglia e arrotola strisce di pasta e le fa entrare in tubi mobili, i quali muovendosi danno all'impasto una forma tonda con un foro al centro, di circa 3 cm di diametro e 8 mm di spessore.

2.2.1 IL PROCESSO PRODUTTIVO DEI TARALLI

L'ingrediente principale nella formulazione dei Taralli è la farina: “*È denominata farina di grano tenero o semplicemente farina, il prodotto ottenuto dalla macinazione e conseguente abburattamento del grano tenero liberato dalle sostanze estranee e dalle impurità*” (art. 1 DPR

187, 2001). La materia prima da cui si ricava la farina è il frumento, nello specifico dal genere “*Triticum*” uno dei grani più antichi e, in particolare, la farina di grano tenero è il prodotto che si ottiene dalla macinazione della specie *Triticum aestivum*.

La struttura anatomica della cariosside di frumento è costituita principalmente da amido (70%), proteine (10-15%) e componenti minori come zuccheri riducenti, pentosani, lipidi,

cellulosa, sali minerali e vitamine (W. Zhou, 2014). La componente più importante, soprattutto per il suo potere tecnologico è quella proteica. Le proteine del frumento le possiamo classificare principalmente in proteine solubili, albumine e globuline, e insolubile, gliadine e glutenine; queste ultime, legandosi tra loro con ponti disolfuro, costituiscono la base strutturale del glutine (Osborne *et al.*, 2022). Il glutine (Figura 3) è un complesso proteico costituito per il 75-85% da proteine (gliadine e glutenine), 5-7% da lipidi, 5-10% da amido e 5-8% da acqua; le proteine si organizzano in questa struttura attraverso legami covalenti e interazioni idrofobiche che donano plasticità ed elasticità all'impasto (Cabras, 2004).

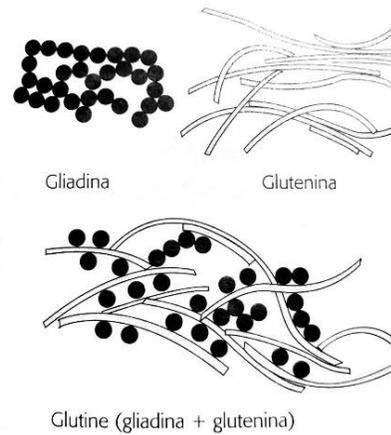


Figura 3 Principi di chimica degli alimenti (Zanichelli, 2016)

In linea generale, la ricetta dei taralli prevede per 1 Kg di farina l'utilizzo di 0.4 L di acqua, 0.2 L di olio EVO, 0.02 Kg di sale, inoltre, possono essere aggiunte spezie (0.005 Kg) (Caponio *et al.*, 2011). A livello di produzione industriale, gli ingredienti vengono poi impastati per circa 25 minuti mediante un'impastatrice a spirale. L'energia esercitata nell'impastamento di acqua e farina favorisce la formazione della struttura glutinica (Cappelli, Vannucchi, 2005); la presenza di glutine è importante per la resa dell'impasto in quanto dona elasticità e plasticità. Una volta ottenuto l'impasto lo si lascia riposare per circa 45 minuti (Caponio *et al.*, 2009), dopo viene sezionato e posto all'interno di una macchina tarallo-formatrice automatica che attraverso diversi tipi di estrusori permette la formazione di striscioline di pasta liscia, uniformi e sottili che in seguito vengono tagliate, arrotolate e inserite all'interno di tubi mobili che danno la tipica forma circolare al tarallo (circa 3 cm di diametro e 8 mm di spessore). I *Taralli* una volta usciti dalla tarallatrice vengono bolliti per un minuto circa, poi vengono posti su una griglia e lasciati a temperatura ambiente per 30 minuti, per favorire l'asciugatura superficiale. Successivamente, si procede con la cottura in forni a tunnel ad aria a 230°C per 20 minuti (Caponio *et al.*, 2009). Una volta ultimata la cottura, i taralli vengono lasciati raffreddare a temperatura ambiente per un breve periodo, dopodiché si procede al confezionamento per mezzo di macchine confezionatrici.

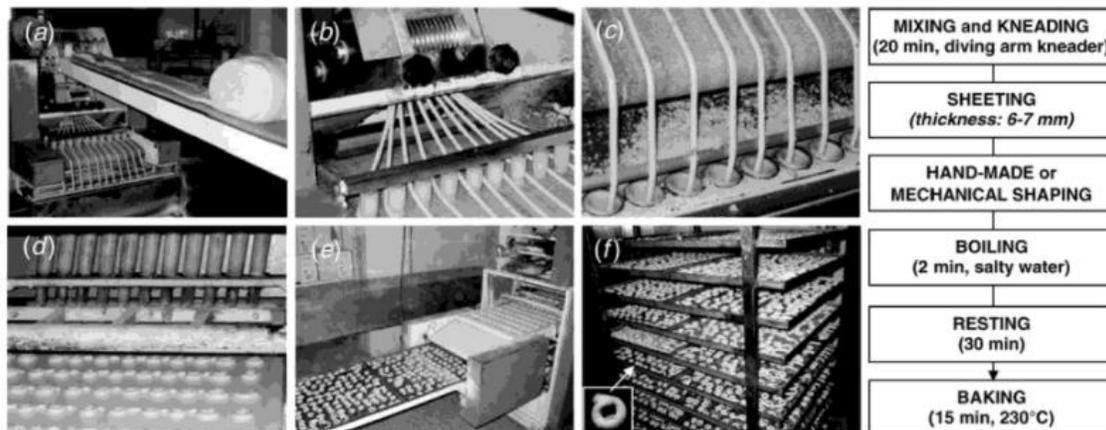


Figure 17.30 The manufacture of taralli: sheeted dough (a); taralli shaping machine (b); entrance into moving tubes (c); outgoing dough in the characteristic circular shapes (d); taralli entrance into boiling water (e); taralli drying phase before baking in a rotary oven (f). (Courtesy of Panificio Di Gesù, Italy).

Figura 4 Processo produttivo industriale dei taralli

2.2.2 IL CONSUMO DEI TARALLI

In Italia circa 9 italiani su 10 non riescono a fare a meno di un piccolo fuori pasto; infatti, si registra un incremento del 10% su base annua per l'acquisto di prodotti appartenenti alla categoria "snack". Secondo un'intervista fatta per la rivista "Food mania", gli italiani concentrano i loro spuntini principalmente a metà mattina (38%) e metà pomeriggio (58%), preferendo gli snack salati a quelli dolci.

Da una indagine svolta dall' "Osservatorio Food & Doxa-BVA", risulta che il 55% dei soggetti intervistati preferisca la bakery salata; infatti, nel 2020 gli italiani hanno speso quasi 1.5 miliardi di euro in sostituti del pane.

Tra le preferenze degli italiani, come possibili spuntini, al primo posto troviamo frutta e verdura, al secondo posto i sostituti del pane, come i taralli, e, infine, gli yogurt. In base alle ricerche effettuate durante il periodo di pandemia Covid-19, che ha costretto la popolazione a restare a casa e ad abituarsi allo smart working, le necessità dei lavoratori sono cambiate, ricercando oggi delle soluzioni più semplici, veloci e durature. In particolare, questa condizione ha portato i consumatori all'utilizzo di sostituti del pane, al posto del pane fresco, durante i pasti principali. Per quanto riguarda la vendita dei taralli c'è stato un incremento

del fatturato di 64.8 milioni di euro. Questa nuova tendenza ha spinto la distribuzione moderna (Conad, Coop, Esselunga, Lidl, ecc.) ad ampliare gli spazi dedicati al settore dei sostituti del pane. Inoltre, il 49% dei consumatori apprezza il fatto che questi alimenti sono confezionati in monoporzioni e quindi molto pratici per il consumo in strada.

La ricerca attesta anche che il 26% del campione risulta composto da donne che consumano snack ogni giorno fuori dei pasti, contro il 21% degli uomini (ANSA).

A seguito di queste tendenze e quindi anche dell'aumento del consumo dei taralli, è nata la necessità di approfondire maggiormente le caratteristiche chimiche e nutrizionali di questi alimenti. L'attenzione si è focalizzata in particolar modo sulla frazione lipidica di questi prodotti, mediante la determinazione del contenuto in grassi e la loro resistenza all'ossidazione (Caponio *et al.*, 2009)

2.2.3 CARATTERISTICHE CHIMICO-FISICHE DEI LIPIDI

I lipidi (dal greco *lipos* = grasso) sono un gruppo di sostanze piuttosto eterogeneo. I principali costituenti dei lipidi sono il carbonio e l'idrogeno e in misura minore l'ossigeno. Questi, hanno un'elevata insolubilità in acqua e sono solubili in solventi apolari.

In natura la funzione principale dei lipidi è quella di riserva ma, questi possono assumere diverse funzioni anche in base alla loro struttura. Infatti, li possiamo classificare in lipidi di deposito come i trigliceridi, oppure lipidi cellulari come fosfolipidi, glicolipidi e colesterolo. Da un punto di vista chimico i lipidi vengono classificati in:

- saponificabili, caratterizzati da una o più molecole di acidi grassi, che per idrolisi alcalina si staccano sotto forma di saponi (sali alcalini degli acidi grassi)
- insaponificabili, che non contengono acidi grassi e non sono idrolizzabili.

I triacilgliceroli (o trigliceridi) sono esteri del glicerolo con acidi grassi e a caratterizzare il loro nome sono le tre catene di acidi grassi che si legano al glicerolo; nel caso in cui invece

le catene siano due ci troveremo in presenza di diacilgliceroli; nel caso ce ne fosse una abbiamo i monoacilgliceridi.

Le caratteristiche chimico-fisiche dei gliceridi dipendono dalle catene di acidi grassi che li compongono. Gli acidi grassi sono catene alifatiche monocarbossiliche da 4 a 36 atomi di carbonio e si possono classificare in base al numero di doppi legami che si istaurano nella catena carboniosa. Gli acidi grassi che non presentano doppi legami si dicono saturi e prevalgono nel mondo animale, i più comuni sono palmitico (C16:0) e stearico (C18:0); mentre gli acidi grassi insaturi presentano dei doppi legami e li ritroviamo prevalentemente nei vegetali e negli animali che vivono a basse temperature. Gli acidi grassi insaturi in base alla quantità di doppi legami presenti si dividono in monoinsaturi (MUFA) con un solo doppio legame e in polinsaturi (PUFA) con due o più doppi legami. La presenza di doppi legami determina una caratteristica fondamentale per i grassi, ovvero il punto di fusione; gli acidi grassi insaturi hanno una temperatura di fusione più bassa rispetto a quelli saturi. Questo spiega perché in ambito alimentare vengono utilizzati maggiormente i lipidi di origine vegetale.

Inoltre, la presenza di doppi legami determina la formazione di isomeri geometrici. Negli acidi grassi insaturi prevalgono gli isomeri *cis* rispetto ai *trans*, questo a livello nutrizionale è importante perché le forme *cis* possono essere facilmente metabolizzate dall'organismo umano, invece, gli isomeri *trans* vengono metabolizzati più lentamente e in alcuni casi sono riconosciuti responsabili dell'insorgenza di alcune malattie come il diabete e il colesterolo (Cappelli , Vannucchi 2005).

Di notevole importanza sono gli acidi grassi che vengono definiti "essenziali", in quanto questi non possono essere sintetizzati dall'organismo umano a partire dall'acetil-CoA ma devono essere introdotti con la dieta. Fanno parte di questa categoria l'acido linoleico (C18:2, *n*-6) e l'acido α -linolenico (C18:3, *n*-3). Questi sono distinti in ω -6 e ω -3, che indicano la posizione del primo doppio legame quando la numerazione della catena carboniosa parte dal primo carbossile. Gli acidi grassi ω -3 sono tipici del mondo acquatico, infatti, le principali fonti alimentari sono alcuni pesci; gli ω -6 sono tipici del mondo vegetale e una delle principali fonti alimentari è l'olio EVO (Cabras 2004).

Gli acidi grassi essenziali sono indispensabili per la struttura delle membrane biologiche; sono i precursori degli eicosanoidi, mediatori chimici a livello cellulare; inoltre, regolano i lipidi ematici come il colesterolo svolgendo un'azione preventiva nei confronti dell'aterosclerosi (Cappelli , Vannucchi, 2005).

2.2.3.1 Ruolo dei lipidi nei prodotti da forno

Il contenuto dei lipidi nei prodotti da forno, come taralli, cracker, grissini ecc., può variare dal 15 al 20% del totale, mentre per i dolci la quantità lipidica può arrivare fino al 30%.

Il contenuto lipidico è così importante per questi alimenti in quanto aumenta la resa tecnologica e le proprietà gustative del prodotto finale. Le funzioni tecnologiche dei grassi nei prodotti da forno sono dovute alla formazione del “*lipid binding*”, fenomeno che avviene in seguito all'idratazione delle farine fino a quando l'impasto non raggiunge livelli di umidità pari al 36-40%, che, conseguentemente alla fase di impastamento, favorisce la formazione di legami tra i componenti. Le funzioni tecnologiche, inoltre, sono caratterizzate dalla capacità tensioattiva dei grassi data dalla presenza di lipidi polari, i quali hanno una struttura chimica anfifilica, costituita da gruppi idrofobici che legano molecole non polari e da gruppi idrofilici capaci di instaurare legami con molecole polari (Cabras; 2004). Proprio questa struttura potrebbe spiegare i tre meccanismi attribuiti ai lipidi negli impasti, come segue:

- Formazione di complessi tra lipidi e altri costituenti nell'impasto (proteine e amido). I lipidi polari si legano idrofobicamente alla glutenina e idrofilicamente all'amido. La struttura ritarda il processo di raffermamento (Figura 4);
- Stabilizzazione della struttura liquido-gas nell'impasto dove i grassi solidi presentano maggiori proprietà tensioattive rispetto ai liquidi;

- Formazioni di dispersioni acquose, dove i lipidi si organizzano nella formazione di micelle, contribuendo così alla formazione di un impasto lievitato e in grado di trattenere gas (Figura 6).

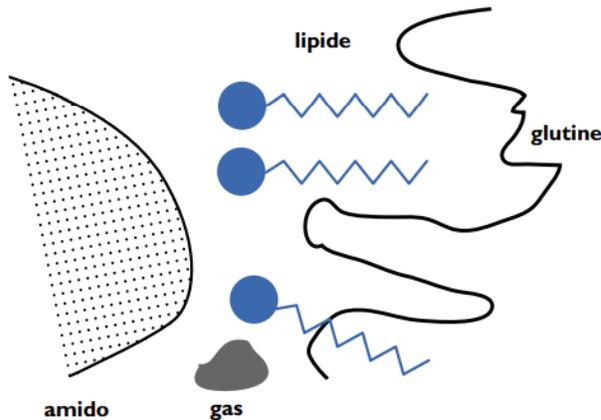


Figura 6 Rappresentazione del complesso glutine-lipide-amido (L. Conte, 2003)

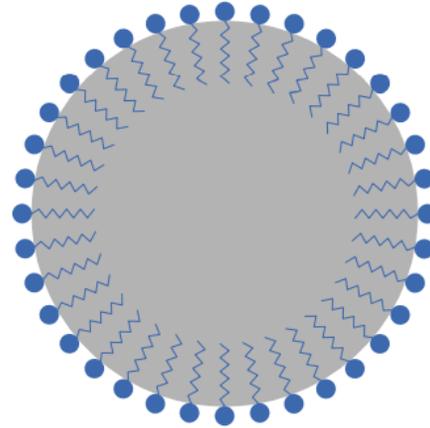


Figura 5 Rappresentazione schematica di una dispersione acquosa. (L. Conte, 2003)

Queste funzioni sono dovute sia ai lipidi endogeni presenti nelle farine sia a quelli che vengono aggiunti come ingredienti. In generale i grassi sono indispensabili per conferire caratteristiche sensoriali specifiche all'alimento, intervenendo principalmente su aroma, aspetto, morbidezza, croccantezza e lubrificazione al palato (Cabras; 2004).

Essi possono anche agire come precursori del sapore e modulatori del rilascio di sapore (Giarnetti *et al.*, 2012), possono svolgere l'attività di shortening, cioè la capacità di indebolire o accorciare la struttura dei composti che costituiscono il prodotto da forno, attraverso la lubrificazione, conferendo, così, alla matrice alimentare tenerezza, sapore, corposità e accorciamento alla rete del glutine. Lo shortening spesso viene associato a grassi solidi vegetali o animali, ad esempio burro di cacao, burro di cocco o lardo donando all'impasto semplicità di manipolazione e durata di conservazione prolungata.

Poiché i grassi sono composti da un'ampia varietà di trigliceridi, non possiedono una sola temperatura di fusione o solidificazione ma presentano un range di temperature; questa condizione li porta ad assumere un comportamento diverso se sottoposti a diverse condizioni di cristallizzazione. La cristallizzazione nei sistemi grassi si riferisce alla transizione di fase

da un olio liquido, dove le molecole sono in movimento casuale, ad un grasso solido cristallino caratterizzato da molecole strettamente impacchettate e ordinate. Questa transizione è una serie progressiva di eventi che iniziano con il sotto-raffreddamento del grasso fuso (Cauvain e Young, 2007), seguito da nucleazione, crescita dei cristalli e, infine, maturazione della rete di cristalli del grasso risultante. Durante la cottura i cristalli di grasso si sciolgono e interagiscono con le proteine del glutine conferendo così caratteristiche particolari (Colonna *et al.*, 2013).

In uno studio condotto da Renzyaeva (2013) è stato osservato che più insaturo è il grasso usato, e più complessi sono i composti formati con le proteine delle farine, rendendo il glutine più elastico e meno viscoso/adesivo, migliorando così la ritenzione dei gas e di conseguenza la morbidezza dell'impasto. Le bolle di gas possono espandersi di più grazie alla maggiore elasticità, anche se la loro stabilità e omogeneità sono correlate all'azione della parte solida della matrice grassa, questo perché i cristalli solidi si allineano all'interfaccia tra la bolla e la fase liquida, aumentando la stabilità soprattutto nelle prime fasi della cottura, quando sono ancora presenti parti cristalline. Durante le fasi successive della cottura le proteine denaturano, l'amido gelatinizza e l'umidità esce dal sistema provocando l'indurimento delle bolle appena formate trasformando la struttura in una spugna morbida, in queste fasi la dimensione dei cristalli solidi è importante, in quanto più fini sono e più è efficiente questa trasformazione (Manley, 1998).

2.2.3.2 Caratteristiche dei grassi utilizzati nei prodotti da forno

La scelta del grasso dei prodotti da forno, e quindi anche per la preparazione dei taralli, risulta essere fondamentale al fine di conferire al prodotto specifiche proprietà reologiche e per la stabilizzazione dell'alimento nei confronti dell'ossidazione ma anche per accontentare le esigenze nutrizionali richieste dai consumatori (Giarnetti *et al.*, 2012). In Tabella 1 sono riportate le principali matrici lipidiche che vengono utilizzate nella produzione di prodotti da forno, ognuna delle quali conferisce all'alimento particolari caratteristiche reologiche, sensoriali e nutrizionali.

Lipide	Caratteristiche principali
Burro	Profilo aromatico caratteristico; elevata lavorabilità dell'impasto senza formazione di grumi; elevata capacità di inglobare aria durante l'impastamento con conseguente possibilità di ottenere prodotti lievitati senza aggiunta di agenti lievitanti; parzialmente solido alla temperatura di impastamento; elevata stabilità nei confronti di reazioni ossidative
Strutto	Elevata lavorabilità analoga a quella del burro
Oli vegetali idrogenati	Elevata lavorabilità analoga a quella del burro; assenza di colesterolo
Margarine (emulsioni di acqua in oli idrogenati contenenti emulsionanti)	Come grassi idrogenati
Olio di oliva	Elevata lavorabilità dell'impasto senza formazione di grumi; impiego consigliato nella preparazione di prodotti da forno croccanti; valore nutrizionale elevato; maggiore suscettibilità all'ossidazione rispetto ai grassi solidi

Tabella 1 Principali sostanze grasse utilizzate nella preparazione di prodotti da forno (Conte, 2003).



Figura 7 Olio Extravergine d'oliva

Nei taralli, prodotto alimentare oggetto di studio, la fonte lipidica utilizzata secondo la tradizione è l'**olio EVO**. Questa fonte lipidica, oltre ad essere l'ingrediente di base della cucina mediterranea è apprezzata per le sue proprietà nutrizionali e salutistiche, in quanto è caratterizzata da un contenuto in acidi grassi monoinsaturi (MUFA) superiore a qualsiasi altro olio vegetale, conferendo al prodotto una maggiore digeribilità e stabilità ossidativa durante la cottura e la conservazione.

Infatti, il 42% degli acidi grassi dell'olio EVO sono rappresentati dall'acido oleico, acido monoinsaturo che quindi lo rende più stabile all'ossidazione rispetto agli altri oli vegetali

maggiormente ricchi in acidi grassi polinsaturi. L'EVO presenta, inoltre, piccole quantità di acido linoleico e linolenico, entrambi acidi grassi essenziali importanti da un punto di vista nutrizionale (Cabras, 2004) ed ha un alto potenziale antiossidante dovuto all'elevato livello di composti fenolici presenti nella sua composizione, tra cui acidi fenolici, alcoli fenilici, idrossi-isocromi e flavonoidi presenti in piccole quantità rispetto ai secoiridoidi e i lignani che sono, invece, i principali composti presenti; questo spiega in parte la maggiore resistenza dell'olio extravergine d'oliva all'ossidazione lipidica. Durante la cottura, i composti fenolici migrano verso la parte acquosa e poi si degradano in molecole più semplici svolgendo un'azione protettiva nei confronti dell'ossidazione dei trigliceridi ed è stato dimostrato che esercitano effetti protettivi anche nei confronti dell'acrilammide che si forma durante i processi di cottura negli alimenti, specificatamente attribuita alla presenza di orto-difenoli (Napolitano *et al.*, 2008).

L'olio agisce sia come lubrificante che come solubilizzante per le molecole che costituiscono la matrice alimentare, specie quelle lipofile. In particolare, questo olio non è indicato per la frittura, nonostante l'elevata presenza di antiossidanti naturali come l'idrossitirosole (principale composto fenolico con attività di antiossidante) e i suoi derivati che, se sottoposti ad elevate temperature per molto tempo si degradano. Il suo utilizzo è sconsigliato anche nell'abito della pasticceria a causa della sua forte componente volatile, in quanto altera il profilo aromatico di alcuni alimenti (Cassileth, 2011). È anche vero, però, che l'olio EVO nei prodotti da forno porta ad una diminuzione della polimerizzazione di tipo ossidativo di alcuni composti fonte di oligopolimeri dei triacilgliceroli e isomeri che sono nutrizionalmente indesiderabili (Caponio, *et al.*, 2013).

Altri oli utilizzati e apprezzati nella formulazione dei prodotti da forno sono l'olio di girasole, l'olio di colza e l'olio di nocciola che, seppur non come nell'olio extravergine di oliva, presentano quantitativi importanti di MUFA. Questi oli, oltre ad avere una stabilità ossidativa apprezzabile grazie alla loro componente acidica, a differenza dell'EVO, conferiscono aroma e sapore neutri che li rende quindi utilizzabili per la produzione di molti prodotti alimentari



Figura 8 Olio di girasole

(Gutiérrez-Luna, *et al.*, 2020). Per quanto riguarda l'**olio di girasole**, esso viene estratto dai semi dell'*Helianthus annuus L.* ossia una pianta appartenente alla famiglia delle Compositae e che contiene un elevato quantitativo di vitamina E, anche se in parte viene persa durante i processi di raffinazione. L'olio di girasole è caratterizzato da percentuali elevate di acidi grassi insaturi, in particolare acido linoleico che può raggiungere una concentrazione pari al 55-69% e che è noto per le proprietà ipocolesterolemizzanti ed è ricco di acidi grassi omega 6. A causa dell'elevata concentrazione di acidi grassi polinsaturi, esso risulta più suscettibile all'irrancidimento e a fenomeni di perossidazione lipidica durante i processi di cottura e conservazione. Questo fatto ha portato ad affinare tecniche di selezione, coltivazione e mutazione spontanea o indotta per ottenere nuove varietà con percentuali di acido oleico molto più elevate: il così detto "**olio di girasole alto oleico**", caratterizzato da un contenuto di acido oleico tra il 75% e il 90%, maggiore rispetto all'olio di girasole tal quale (circa 20%). L'olio di girasole alto oleico possiede elevati livelli di γ e δ tocoferolo che rendono quest'olio più stabile all'ossidazione ad elevate temperature ed è caratterizzato da un particolare gusto neutro che non altera il profilo sensoriale degli alimenti che lo contengono (Cassileth, 2011). Per queste caratteristiche compositive, l'olio di girasole alto oleico è un ottimo olio per cotture in quanto viene dichiarato stabile a temperature superiori ai 200 °C.

Oggi giorno, ampio utilizzo trovano anche alcuni olii tropicali e per i prodotti da forno si utilizzano soprattutto olio di palma, olio di cocco e olio di palmisti. Come riportato in Tabella 2, questi oli, a differenza di altri oli vegetali, contengono una notevole quantità di grassi saturi, come l'acido laurico, miristico e palmitico, addirittura in percentuali superiori a quelle riportate da grassi di origine animale come il burro e lo strutto.

matrice grassa	acidi grassi saturi
Olio di cocco	87%
Olio di girasole alto oleico	11%
Olio di riso	20%
Olio d'oliva	16%

Tabella 2 acidi grassi saturi presenti nelle matrici lipidiche (Conte, 2003)



Figura 9 Olio di cocco

Un grasso tropicale molto usato nella preparazione di prodotti da forno è l'**olio di cocco** che deriva da una pianta appartenente alla famiglia delle Palmaceae. Il grasso (63-70%) viene estratto dalla polpa del frutto che viene essiccata ottenendo la cosiddetta “copra”. Per il suo utilizzo, l'industria alimentare impone diversi livelli di raffinazione al fine di renderlo inodore, insapore e incolore (Miniello e Diaferio,2015).

È un olio particolarmente ricco di acidi grassi saturi a basso peso molecolare e in particolare in acido laurico (circa il 50% degli acidi grassi presenti) e viene quindi inserito nel gruppo dei cosiddetti “grassi laurici”, insieme all'olio di palma e all'olio di palmisti. Poiché più del 90% degli acidi grassi dell'olio di cocco sono saturi, è un grasso altamente resistente all'irrancidimento e capace di conferire notevoli aspetti tecnologici all'alimento; pertanto, è consigliato per cotture e frittture in abito domestico ma fortemente sconsigliato per le frittture in abito industriale in quanto è ricco di acido laurico e altri acidi con meno di 14 atomi di carbonio ed è stato studiato che l'uso- di olii ricchi di acido laurico ad un intervallo di temperature di 180-200 °C provocano una frittura insoddisfacente; il punto di fumo dell'olio di cocco è intorno ai 176°C (Cassileth, 2011). Tra gli oli vegetali, l'olio di cocco è il più ricco in trigliceridi a media catena (C6, C8 e C10) e per tale motivo è uno dei principali componenti di formulati per bambini e alimenti a scopo medicale per le persone che non assorbono acidi grassi a lunga catena. Oltre al laurico, acido grasso principale, contiene anche quantità significative di acido caprilico e caproico e la componente insaponificabile è costituita principalmente da tocoferoli, steroli e

squalene ma, di questi, solo i tocoferoli contribuiscono alla stabilità ossidativa (Shahidi, 2005).



Figura 10 Olio di riso

Un altro grasso alimentare globalmente non molto diffuso ma sempre più richiesto per alcune sue caratteristiche compositive e nutrizionali è l'**olio di riso**, o più precisamente l'olio di pula di riso. Questo olio vegetale viene estratto dal germe del riso (*Oryza Sativa L.*) e contiene circa il 40% di acido oleico e il 40% di acido linoleico, ai quali segue l'acido palmitico con un 17%. Una particolarità di questo olio è l'elevata concentrazione di tocoferoli (vitamina E) e la presenza di γ -orizanolo, costituito da una miscela di esteri dell'acido ferulico con steroli vegetali e alcoli triterpenici, composti che caratterizzano la componente insaponificabile dell'olio (Yi *et al.*, 2021); numerosi studi attribuiscono a queste sostanze diversi effetti benefici, tra i quali quello di abbassare il contenuto di colesterolo e di trigliceridi nel sangue. L'olio di riso evidenzia un sapore delicato ed una notevole stabilità alle alte temperature che lo rendono adatto per metodi di cottura come cibi saltati in padella e frittiture in quanto il suo punto di fumo è intorno ai 240 °C. Molti ricercatori hanno affermato che l'olio di riso è adatto per lo sviluppo di molti prodotti da forno, perché migliora sia le proprietà sensoriali che funzionali del prodotto, come il colore, la capacità emulsionante e schiumogena e favorisce l'assorbimento di acqua e grasso nelle matrici alimentari. È un olio ricco in sostanze antiossidanti e in diversi studi hanno dimostrato che la sostituzione di burro con olio di riso produce prodotti da forno di qualità superiore in termini di proprietà organolettiche e di conservabilità (Cassileth, 2011). In genere l'olio di riso subisce un frazionamento, questa è una tecnica che permette all'olio di subire una parziale cristallizzazione e dopo di che le frazioni, solida (stearina) e liquida (oleina), vengono filtrate o centrifugate (Yi, *et al.*, 2021); per tale motivo l'olio ha un ampio range di temperature di fusione.

Ovviamente le matrici grasse usate nei prodotti da forno sono molteplici, scelte in funzione di svariati parametri sensoriali, nutrizionali e reologici ma anche di tradizione e di shelf life.

In questo specifico studio, dopo una valutazione di diverse miscele di grasso alternative all'EVO, si è deciso di approfondire la shelf life solo di alcune di esse, in quanto ritenute valide alternative della frazione lipidica dei taralli tradizionali.

2.3 SHELF LIFE DEI TARALLI

La durata di conservazione è una caratteristica importante di tutti gli alimenti, comprese le materie prime, gli ingredienti e i semilavorati. Ogni prodotto ha una sua shelf life e tutti i soggetti coinvolti nella filiera alimentare dovrebbero esserne consapevoli. In termini generali, la shelf life è definita come un periodo di tempo finito dopo la produzione, durante il quale il prodotto alimentare mantiene un livello di qualità richiesto in condizioni di conservazione ben definite (Barden and Decker, 2013). Questo livello di qualità discrimina i prodotti ancora accettabili per il consumo da quelli non più accettabili. La valutazione della durata di conservazione degli alimenti non solo ha sempre rappresentato una sfida entusiasmante per gli scienziati del settore alimentare, ma è anche un processo vitale per le aziende alimentari per mantenere la reputazione del proprio marchio sul mercato (Calligaris *et al.*, 2008).

Il degrado qualitativo dei prodotti da forno durante il loro periodo di conservazione è caratterizzato principalmente da due eventi: ***perdita di croccantezza e ossidazione lipidica***. Il primo fenomeno è tipico nei prodotti a bassa umidità come i taralli, soggetti a perdita di croccantezza e sensibili agli scambi di vapore acqueo (umidità) e alle reazioni dell'ossigeno. L'esposizione prolungata di questi alimenti alle condizioni ambientali di stoccaggio porta all'assorbimento di acqua dall'atmosfera nella matrice del prodotto, facendogli perdere la croccantezza e di conseguenza rendendolo meno accettabile dal consumatore. Il livello di umidità critico per la perdita di croccantezza varia tra il 4-6% (Zhou, 2014).

Il secondo fenomeno è favorito dalla presenza di ossigeno, temperatura e luce (Calligaris *et al.*, 2008, Verardo *et al.* 2010; Riciputi e Caboni 2017)). Un aspetto importante che influenza la shelf life di un prodotto è sicuramente la qualità e il tipo di materia prima utilizzata. Per prodotti da forno come i taralli, i grassi svolgono un ruolo importante in tal senso in quanto possono essere causa di irrancidimento dovuto a fenomeni di ossidazione che possono prendere il via durante i trattamenti termici quali cottura, frittura, tostatura o il periodo di conservazione in condizioni non ottimali.

2.3.1 OSSIDAZIONE LIPIDICA

L'ossidazione lipidica può influenzare la qualità di un alimento ricco in grassi, come taralli, biscotti e snack, favorendo la formazione di *off-flavors* e riducendo in parte anche il valore nutrizionale del prodotto (Calligaris *et al.*,2008).

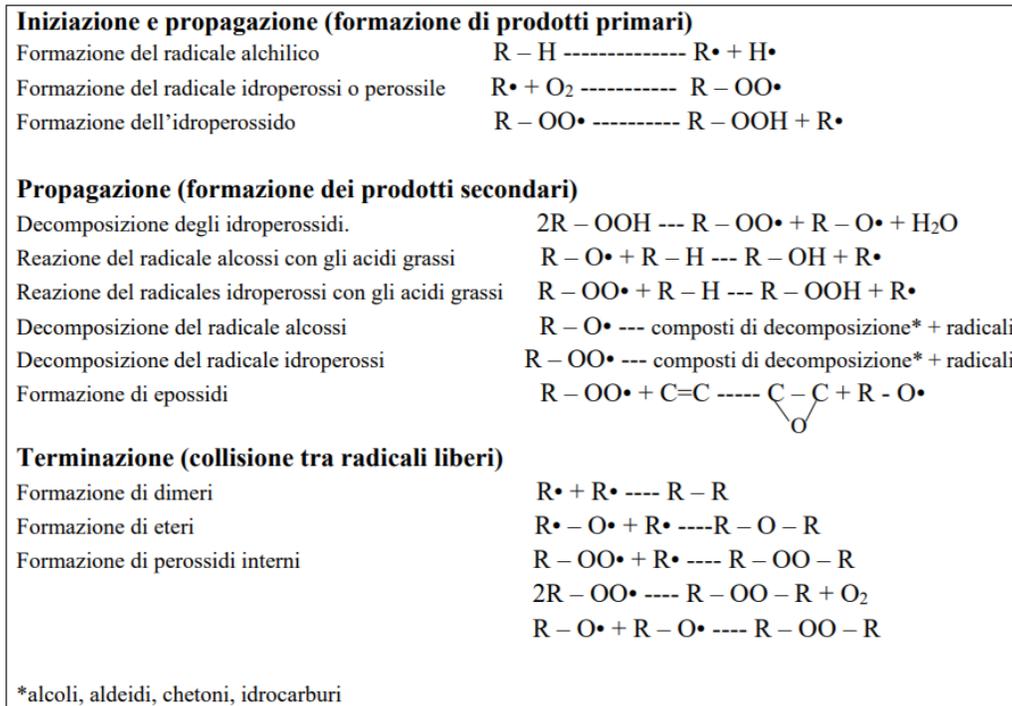


Figura 11 Fasi dell'ossidazione lipidica.(Cappelli P.; Vannucchi, 2005)

La stabilità ossidativa dei grassi può essere espressa come il periodo di tempo necessario per raggiungere il punto critico dell'ossidazione (Choe, *et al.*, 2006). La reazione di autoossidazione lipidica (figura 11) avviene tra l'ossigeno tripletto e i grassi, in particolare a carico degli acidi grassi insaturi (acidi oleico, linoleico, linolenico) (Cabras, 2004) e questo accade con il susseguirsi di tre fasi principali. La prima viene chiamata fase di iniziazione dove ha luogo la formazione di radicali liberi (R) attraverso il distacco di un atomo di idrogeno dal substrato lipidico, attribuita all'azione del calore, alla presenza di metalli catalizzatori, ecc.; in seguito si ha la seconda fase detta di propagazione, durante la quale si hanno delle reazioni che permettono la formazione di nuovi radicali e idroperossidi, prodotti primari dell'ossidazione; la decomposizione di questi genera altri radicali: idroperossi

($\text{ROO}\cdot$) e l'alcoxi ($\text{RO}\cdot$) da cui si ottengono i composti secondari dell'ossidazione, ovvero, idrocarburi, esteri aldeidi, chetoni, alcoli, acidi, epossidi, ecc. molti di questi sono composti volatili responsabili dell'odore di rancido. Infine, avviene la fase di terminazione dove tutti i radicali liberi si trasformano in specie neutre stabili (Cabras, 2004). L'ossidazione lipidica è una reazione auto-catalitica, una volta innescata non è possibile fermarla ma, si può solo ridurre la velocità.

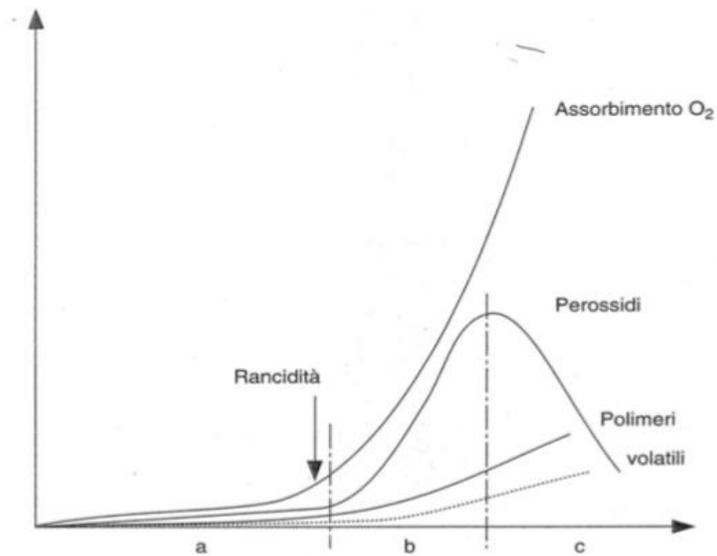


Figura 12 Andamento tipico dei principali parametri relativi all'ossidazione lipidica. a) Induzione; b) propagazione; c) terminazione (Fedeli et al., 1997)

I lipidi possono andare incontro anche ad una rancidità idrolitica. Questa reazione avviene a carico dei lipidi in presenza di acqua ed è catalizzata da lipasi, le quali possono essere già presenti nell'alimento oppure possono essere rilasciate da microrganismi (Conte, 2003). Nei trigliceridi avviene l'idrolisi dei legami esteri che legano il glicerolo al rispettivo acido grasso, che porta al rilascio di quest'ultimo, una maggiore concentrazione di acidi grassi liberi porta ad un abbassamento del pH e conseguente peggioramento delle caratteristiche organolettiche. Questa condizione è favorita dalla presenza di lipolisi e lipossigenasi e da elevati livelli di umidità.

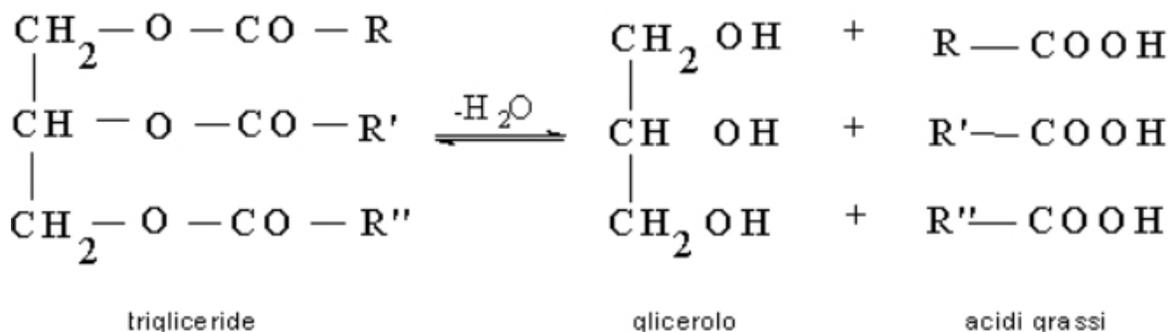


Figura 13 Irrancidimento idrolitico di un trigliceride. Anapoo.it

Lo sviluppo di *off-flavours* in seguito a rancidità idrolitica è importante negli olii e grassi che contengono acidi grassi con un numero di atomi di carbonio inferiori a 16. Tra le sostanze grasse con acidi grassi a corta catena troviamo per esempio il burro, l'olio di cocco e l'olio di palmisto (Conte, 2003).

La formulazione di un alimento e in particolare la scelta del grasso da utilizzare avrà una forte influenza sulla sua qualità e shelf life. Lo sviluppo di rancidità lipidica in un alimento è compromesso dall'interazione dei prodotti dell'ossidazione lipidica con carboidrati, proteine e prodotti della reazione di Maillard (Frankel, 1984). È quindi molto importante valutare la qualità di un alimento attraverso la determinazione di alcuni parametri strettamente legati all'ossidazione lipidica della frazione grassa presente nel prodotto. Tra questi, importante è la valutazione dello sviluppo dei perossidi e di alcune sostanze volatili che possono essere causa della comparsa di aromi e odori sgradevoli.

2.3.1.1 Perossidi

I perossidi sono composti dove l'ossigeno impegna uno dei suoi due elettroni per legarsi ad un altro atomo di ossigeno. Sono i prodotti primari dell'ossidazione lipidica, si formano ad opera dell'ossigeno e per azioni di alcuni enzimi specifici presenti nel frutto, le lipossidasi, che, quando entrano in contatto con l'olio, a seguito di lesioni cellulari, ossidano gli acidi grassi; inoltre, questi possono degradarsi ulteriormente in prodotti ossidativi secondari, quali alcoli, aldeidi e chetoni (Manzocco *et al.*, 2020).

La produzione e la decomposizione dei perossidi sono influenzate da molti fattori, come l'ossigeno, la composizione degli acidi grassi e la temperatura. Una grande quantità di ossigeno può essere dissolta nell'olio quando la pressione parziale dell'ossigeno nello spazio di testa della confezione è elevata e l'ossidazione dell'olio aumenta con la concentrazione di ossigeno solubile. Inoltre, i catalizzatori metallici possono accelerare la loro decomposizione (Zhang *et al.*, 2021).

I perossidi sono inodore e insapore, per cui non percepibili a livello organolettico ma, essendo molto instabili, si decompongono facilmente dando luogo alla formazione di aldeidi e chetoni, responsabili del difetto di rancido. Un elevato numero di perossido evidenzia un processo di ossidazione già avviato, irreversibile. Il contenuto in perossidi, espresso come numero di milli-equivalenti di ossigeno per chilo di olio (meq O₂/kg), indica il grado di ossidazione primaria dell'olio, cioè la sua tendenza a irrancidire (Manzocco *et al.*, 2020). Infatti, in molti studi viene valutato questo indice al fine di monitorare la qualità chimica e sensoriale di prodotti ricchi in lipidi, soprattutto durante la conservazione degli alimenti (Calligaris *et al.*, 2008).

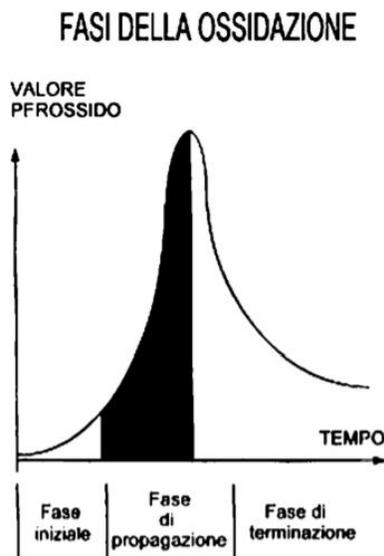


Figura 14 formazione di perossidi durante l'ossidazione lipidica (Quarantelli A *et al.*, 2003)

Nel prodotto finito la concentrazione di perossidi può dipendere anche dal livello di perossidi presenti già nell'olio o grasso utilizzato come ingrediente, dove l'evoluzione di questi

prodotti è spinta dall'interazione dei fenomeni che si verificano durante la cottura dell'impasto e durante la lavorazione, come la disponibilità di ossigeno durante la lievitazione e la temperatura di cottura. Per questo motivo, è importante utilizzare un olio con un basso grado di ossidazione. Quando, invece, l'ingrediente lipidico è caratterizzato da un livello di ossidazione elevato, nella matrice si accumula un numero considerevole di prodotti primari e secondari (Manzocco *et al.*, 2020).

2.3.1.2 Composti Volatili

Come sopra riportato, l'ossidazione lipidica porta alla formazione di radicali liberi e perossidi, la cui decomposizione dà spesso origine a diversi composti volatili, molti dei quali sono responsabili di aromi sgradevoli che causano una perdita di qualità dell'alimento e la non accettabilità da parte del consumatore (Giarnetti *et al.*, 2012).

I composti volatili derivanti dall'ossidazione degli olii durante il periodo di stoccaggio dei prodotti da forno si formano, si degradano e/o reagiscono con altri volatili (Pangloli *et al.*, 2002). Nel momento in cui il tasso di formazione di questi composti aumenta rispetto al tasso di scomparsa, la presenza dei composti volatili si concentrerà nello spazio di testa della confezione.

I composti volatili più significativi che si generano dall'ossidazione dei lipidi sono le aldeidi, la cui formazione dipende dall'acido grasso soggetto ad ossidazione. Il principale aldeide che si forma dall'ossidazione dell'acido linoleico è l'esanale, da sempre considerato un importante marker rappresentativo dello stato di irrancidimento ossidativo di un alimento (Durante *et al.*, 2019). È il primo aldeide volatile che si forma dalla degradazione del 13-OOH-linoleato sia per autossidazione lipidica che per via enzimatica mediante l'azione della lipossigenasi ed è molto frequente nei prodotti da forno. La lipossigenasi ha la caratteristica di catalizzare in maniera preferenziale la formazione degli idroperossidi in posizione 13-OOH, che a seguito dell'azione sequenziale dell'idroperossido-liasi si decompongono dando origine a composti aldeidici a sei atomi di carbonio, tra cui l'esanale. Spesso l'odore di questa aldeide viene descritto come "erboso" e contribuisce agli odori sgradevoli indesiderati creati

durante l'ossidazione lipidica (Goodridge *et al.*, 2003). La presenza di esanale nei prodotti da forno è molto diffusa, perché questo, come è stato già detto, è un composto che si origina dall'ossidazione dell'acido linoleico, acido grasso essenziale molto frequente nella composizione lipidica di diversi olii; si forma già durante la cottura in forno degli alimenti che avviene sui 200 °C e che tende ad aumentare nel tempo in alimenti ricchi in grasso, pertanto, questo aldeide è molto ricercato per valutare i livelli di ossidazione degli olii nei prodotti da forno.

Da diversi studi condotti sull'analisi della componente volatile nei taralli è stato osservato che i principali composti che si formano dall'ossidazione dell'acido linoleico sono acetaldeide ed esanale mentre 2,4-decadienale è il composto che si ottiene dall'ossidazione dell'acido linolenico (Maire *et al.*, 2013)

In uno studio svolto da Caponio (2011) si è testata la possibilità di sostituire l'utilizzo di oli raffinati comunemente usati per la preparazione dei taralli con l'olio EVO, salvaguardando le caratteristiche organolettiche e sensoriali del prodotto. I campioni analizzati erano taralli a due diverse composizioni lipidiche: olio EVO e olio di palma raffinato. I campioni sono stati sottoposti all'analisi dei composti volatili per valutare meglio l'influenza dei fenomeni ossidativi legati sia al processo tecnologico che ai tempi di conservazione. La valutazione del livello ossidativo è stata fatta prendendo in esame alcuni composti che derivano dalla decomposizione degli idroperossidi che si formano dai principali acidi grassi: acido oleico, linoleico e linolenico. L'analisi SPME/GC-MS della frazione volatile dei taralli preparati con olio extra vergine di oliva e con olio di palma raffinato ha permesso di identificare 25 composti volatili, focalizzandosi su esanale e acetaldeide che derivano dalla degradazione di alcuni acidi grassi. Come mostrato in tabella 3 i campioni formulati con olio EVO mostravano valori inferiori rispetto ai taralli formulati con olio di palma raffinato, sottolineando la maggiore resistenza all'ossidazione dell'EVO e quindi la possibilità di ottenere taralli di qualità superiore.

<i>Analita(µg/g)</i>	<i>Olio EVO</i>	<i>Olio Palma Raffinato</i>
<i>Esanale</i>	1,97 ± 0,08	2,55 ± 0,10
<i>Acetaldeide</i>	1,81 ± 0,05	7,56 ± 0,27

Tabella 3 - Valori medi (µg/g), deviazione standard dei composti volatili riscontrati nei taralli all'olio extra vergine di oliva ed all'olio di palma raffinato (Caponio *et al.*, 2011)

3 MATERIALI E METODI

3.1 PROTOCOLLO SPERIMENTALE

Questo progetto sperimentale di tesi è stato svolto da giugno a settembre 2021 nei laboratori del Campus di Scienze degli Alimenti di Cesena e i campioni oggetto di studio sono stati taralli preparati presso il Dipartimento Agricoltura Ambiente e Alimenti (DiAAA) dell'Università degli Studi del Molise. Questa collaborazione con l'Università del Molise nasce per la partecipazione al progetto “Biotecnologie integrate per l'identità e la competitività delle produzioni e del sistema Oleario italiano” (SOLITALIA) dove sono previsti studi orientati a individuare oli di diversa origine vegetale e animale per la realizzazione di prodotti da forno, valutandone le caratteristiche compositive e tecnologiche. Nello specifico in questa tesi sono stati presi in considerazione tre tipologie di taralli ottenuti con una diversa formulazione lipidica ed è stato valutato il loro stato ossidativo a diversi tempi di shelf life. Nello schema sottostante è riportato il processo produttivo dei taralli esaminati

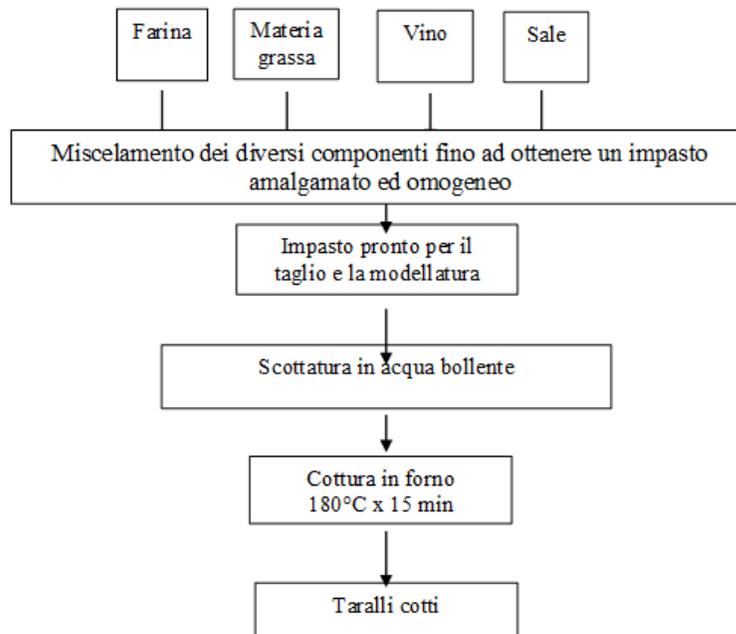


Figura 15 diagramma di flusso della formulazione dei taralli

In particolare, i tre campioni di taralli a diversa formulazione lipidica sono i seguenti:

T0



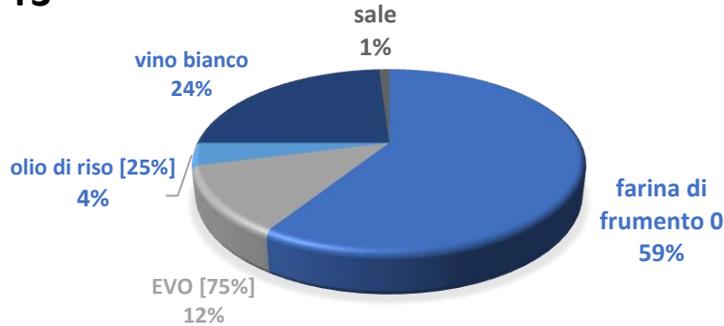
farina di frumento 0

olio EVO [100%]

vino bianco

sale

T3



farina di frumento 0

olio EVO [75%]

olio di riso [25%]

vino bianco

sale

T4



farina di frumento 0

olio di girasole alto oleico [87.5%]

olio di cocco [12.5%]

vino bianco

sale

Lo studio di shelf life di questi taralli è stato effettuato confezionando i campioni in quantità uguali in sacchetti per la cottura sottovuoto e conservandoli a temperatura ambiente (~20 °C). Le analisi sono state svolte sui campioni di taralli a diversi tempi di controllo come riportato in tabella.

Tempo di analisi (giorni)	Conservazione a temperatura ambiente	
	0	16 giugno
7	23 giugno	
14	30 giugno	
21	7 luglio	
28	14 luglio	
35	21 luglio	
42	28 luglio	
50	5 agosto	
75	30 agosto	

Le analisi svolte per la valutazione dello stato ossidativo dei campioni sopra presentati sono state le seguenti:

- valutazione del contenuto dei composti primari dell'ossidazione attraverso l'analisi del numero di perossido (paragrafo 5.2) svolto in seguito alla estrazione della loro componente lipidica con metodo *Soxhlet* (paragrafo 5.1)
- valutazione dei composti secondari dell'ossidazione attraverso una analisi dei composti volatili e nello specifico del contenuto di esanale attraverso la tecnica SPME (Solid Phase Micro Extraction) e successiva iniezione in GC-MS.
- infine, è stato testato lo stato ossidativo di ogni campione attraverso anche l'analisi Oxitest, che consiste in una ossidazione accelerata della matrice tal quale.

3.2 ESTRAZIONE LIPIDICA: METODO SOXHLET



Figura 16 Soxhlet

Solventi e reagenti:

n-esano, iso-propanolo (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Vetreteria utilizzata:

Ditali in cellulosa diametro 2 cm (Behr, Germania), palloni di vetro da 100 mL, spatola, pinze.

Apparecchiature usate

Bilancia analitica (Scaltec, Goettingen, Germania), Soxhlet System HT 1046 Service Unit Tecator (Gemini BV, Apeldoorn, Paesi Bassi), agitatore Mixer Vortex (Usmate (MB) Italia), Rotavapor IKA RV8 (Staufen, Germania).

Procedimento

Sono stati pesati circa 10 grammi di ogni campione macinato in ditali di cellulosa e successivamente posizionati all'interno del Soxhlet. Le piastre riscaldanti sono state portate ad una temperatura di 70 °C e successivamente sono stati posizionati i palloni di vetro da 100 mL, precedentemente pesati, con all'interno 60 mL di n-esano. Il solvente riscaldato sale attraverso il tubo bypass raggiungendo la parte superiore del sistema arrivando al condensatore. Il vapore, a contatto con la serpentina in cui circola acqua fredda, condensa gocciando nel ditale che contiene il campione. Quando il livello di n-esano nella parte in cui è inserito il ditale raggiunge il livello della parte superiore del sifone, il solvente contenente il grasso ricade nel pallone per poi essere nuovamente evaporato. L'estrazione del grasso della matrice alimentare avviene, quindi, per continua evaporazione e condensazione dell'n-esano attraverso i ditali. Dopo circa 120 minuti, i ditali sono stati rimossi e i palloni contenenti il solvente con il grasso disciolto, una volta raffreddati, sono stati portati a secco sottovuoto mediante Rotavapor. Per una completa eliminazione del solvente, i palloni sono stati posti sotto flusso di azoto per alcuni minuti fino a peso costante; per differenza è stato poi valutato anche la quantità di grasso estratta. Infine, il grasso estratto è stato ripreso con 4 mL di n-esano/iso-propanolo 4/1 (v/v) e stoccato a -20°C fino al momento dell'analisi.

3.3 VALUTAZIONE DEL NUMERO DI PEROSSIDO

Il metodo adottato (Shantha N.C. E Decker E.A., 1994) per la determinazione del numero di perossido si basa sulla determinazione degli ioni Fe^{3+} formati per ossidazione degli ioni Fe^{2+} da parte degli idroperossidi in presenza di ammonio tiocianato (NH_4SCN). Gli anioni tiocianato (SCN^-) reagiscono con gli ioni Fe^{3+} per dare un complesso colorato di rosso che può essere determinato per via spettrofotometrica.

Solventi e reagenti

Acido cloridrico, cloroformio, metanolo, perossido di idrogeno sono stati acquistati dalla Merck KGaA (Darmstadt, Germany); cloruro di bario, cloruro ferrico esaidratato, solfato ferroso e ammonio tiocianato (NH_4SCN) acquistati dalla Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), azoto tecnico, acqua bi-distillata prodotta in situ con sistema Elix 10 della Millipore (Billerica, MA, USA).

Vetreteria utilizzata

Spatole, pipette graduate da 1, 5, 10 ml, pipette Pasteur, imbuti in vetro, becker, bacchette di vetro, cuvette di quarzo, bottiglie Sovirel[®] scure da 50 ml.

Apparecchiature utilizzate

Micropipette automatiche da 50 e 200 μl tipo Gilson (California, USA), bilancia analitica Beel Engineering mod. Ultra Mark 205 (Concordia, MO, Italia), spettrofotometro UV 1601 Shimadzu (Kyoto, Japan), agitatore Vortex tipo ZX2 della TecnoLab (Brescia, Italia), piastra riscaldante della Falc Instruments mod. CIR 120 (Treviglio, BG, Italia), centrifuga Beckman Coulter mod. Alega 21R Centrifuge (California, USA), bagno ad ultrasuoni Starsonic 90 Liarre (Bologna, Italia).



Figura 18 campioni con reagenti su cui viene misurata l'assorbanza



Figura 17 spettrofotometro

Procedimento

La metodica prevede la preparazione di due soluzioni che permettono di valutare quantitativamente tali composti di ossidazione.

Soluzione di Fe^{2+} : è stata preparata addizionando lentamente e sotto agitazione magnetica una soluzione acquosa di cloruro di bario diidrato ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$, $c = 0.2g/25ml$) ad una soluzione acquosa di solfato ferroso eptaidrato ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $c = 0.25g/25ml$). Successivamente sono stati aggiunti alla miscela 1.225 ml di acido cloridrico concentrato (HCl , $c = 25\%$ (p/p)) sempre sotto agitazione magnetica. Trascorsi 2 minuti, si è ottenuta una soluzione di ioni Fe^{2+} ed è stata posta $4^\circ C$ per una notte in una bottiglia Sovirel scura, al riparo dalla luce e dalle alte temperature.

Soluzione di tiocianato di ammonio al 30%: sono stati pesati 3g di NH_4SCN direttamente in una bottiglietta Sovirel ambrata e successivamente addizionati di 10 ml di acqua bi-distillata. La soluzione è stata conservata in frigorifero a $4^\circ C$, al riparo da luce e calore.

Dopo la preparazione delle due soluzioni si è proceduto alla determinazione spettrofotometrica sugli estratti lipidici. In una provetta precedentemente pesata sono stati messi 50 mg di sostanza grassa e portati a secco fino a peso costante sotto debole flusso di azoto in blocco riscaldante ($\approx 40^\circ C$); il grasso è stato ripreso con 9.9 ml di miscela cloroformio:metanolo 7:3 (v/v). Dopo aver agitato la provetta per pochi secondi per ottenere una completa solubilizzazione del grasso, sono stati aggiunti 50 μl della soluzione acquosa di tiocianato di ammonio al 30% e 50 μl della soluzione di Fe (II). Previa breve agitazione,

la soluzione è stata posta al riparo dalla luce diretta per 5 minuti. Successivamente, sono state prelevate le provette con la soluzione all'interno che avrà assunto una colorazione che tende al rosso (figura 3) ed è stata misurata l'assorbanza a 500nm in relazione ad un bianco costituito dalla miscela cloroformio:metanolo 7:3 (v/v), addizionata anch'essa dei due reattivi (NH₄SCN al 30% e soluzione di Fe (II)).

La quantificazione dei perossidi, espressi come meq O₂/kg di grasso, è stata effettuata impiegando la seguente formula:

$$\frac{[ABS - ABS_{\text{Bianco}}] - b}{m \times 55,84 \times w}$$

ABS: valore di assorbanza della soluzione letto a 500nm;

ABS_{bianco}: valore di assorbanza di un bianco;

m: pendenza della curva di calibrazione;

b: intercetta della curva di calibrazione;

55.84: peso atomico del ferro;

w: peso del grasso tal quale espresso in g.

Ottenuti i valori di assorbanza di soluzioni di Fe³⁺ contro la quantità di Fe (III) espressa in µg relativi ad ogni campione è stata costruita la curva di calibrazione. Per costruire la curva, in un matraccio da 100 ml, sono stati pesati 100 mg di Fe (III) e addizionati di 12,3 ml di HCl concentrato (c = 25%) più 0,4 ml di perossido di idrogeno (H₂O₂) al 30%. La miscela è stata portata all'ebollizione per 5 minuti per eliminare l'eccesso di H₂O₂ e lasciata raffreddare a temperatura ambiente e poi è stata portata a volume con acqua. La soluzione madre di Fe (III) è stata ottenuta diluendo 500 µl della soluzione acquosa di Fe (III) con cloroformio:metanolo 7:3 (v/v) in un matraccio da 50 ml. Diverse aliquote della soluzione madre di Fe (III) (0; 0.1; 0.5; 2.5; 5 ml) sono state trasferite in provette in vetro da 10 ml e addizionate di cloroformio:metanolo 7:3 (v/v) in modo da ottenere un volume finale di 9,9 ml. Alle soluzioni sono stati addizionati 50 µl di HCl diluito (c = 2,2 mol/L) e 50 µl di soluzione di NH₄SCN al 30% (p/v). Per la lettura dei valori d'assorbanza si è proceduto nello stesso modo descritto per l'indagine spettrofotometrica dei campioni. Ogni punto della curva di calibrazione è stato ripetuto in triplo.

3.4 DETERMINAZIONE DEI COMPOSTI VOLATILI: SPME-GC-MS



Figura 19 GC-MS con autocampionatore SPME per volatili Combi-Pal

Vetreteria utilizzata

Vial ambrate da 10 ml con ghiera metallica a vite e setto in silicone specifiche per l'utilizzo con autocampionatore Combi-Pal.

Apparecchiature varie

Bilancia analitica Beel Engineering mod. Ultra Mark 205 (Monza, Italia).

L'analisi dei composti volatili è stata condotta con un GC-MS Shimadzu Q 2010. La colonna utilizzata era una Restek RTX-WAX (30 mt x 0,25 mm ID, 1 μ m film thickness) (Restek Corporation, Bellefonte, USA). Il metodo utilizzato è stato adattato dal metodo riportato da Purcaro *et al.* (2008).

Si è proceduto pesando 1g di campione macinato in vial ambrate della capacità di 10 ml, appositamente chiuse con ghiera metallica a vite e setto in silicone. La determinazione dei composti volatili è avvenuta sfruttando la tecnica SPME (Solid Phase Micro Extraction) mediante l'utilizzo di un autocampionatore per volatili Combi-Pal, grazie al quale le fasi di pre-condizionamento del campione, esposizione e desorbimento della fibra sono completamente automatizzate, riducendo così al massimo l'errore dovuto all'operatore.

Le condizioni di analisi adottate sono le seguenti:

Condizioni GC:

- Carrier gas (Helium)
- Flusso in colonna: 1 ml/min Split ratio: 1:10
- Temperatura iniettore: 240 °C
- Tempo di corsa: 75,33 minuti

Programmata di temperatura: isoterma iniziale a 40 °C per 10 min, quindi a 200 °C con aumento di 3 °C/min, per poi salire a 240 °C con incremento di 10 °C/min e mantenimento a tale temperatura per 5 minuti.

Condizioni MS:

- Temperatura sorgente: 200 °C
- Temperatura interfaccia: 240 °C
- Range di massa: 30-250 m/z
- Modalità di acquisizione: scan da 3,5 min a 70 min

Condizioni SPME: La fibra SPME era lunga 2 cm x 0,11 µm di diametro, rivestita con divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) 50/30 µm thick (Supelco, Bellefonte, PA, USA).

- Tempo di incubazione: 30 minuti a 40°C
- Tempo di esposizione della fibra: 10 minuti
- Tempo di desorbimento: 7 minuti.

3.5 OXITEST®

Per poter valutare come la diversa formulazione in oli e grassi di taralli potesse influire sulla conservabilità e quindi, sulla shelf-life del prodotto, sono stati effettuati dei test di ossidazione accelerata tramite lo strumento OXITEST®. Lo strumento sottopone il prodotto ad un ambiente di elevato stress ossidativo, elevata temperatura e sovrappressione in modo da rilevare, in tempi brevi, la resistenza dell'alimento all'ossidazione dei grassi in esso contenuti (Riciputi and Caboni, 2017).

Apparecchiature utilizzate

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



Figura 20 OXITEST®.

Procedimento

Per l'analisi della stabilità ossidativa i campioni di taralli macinati sono stati pesati, in doppio, "esattamente circa" 30 gr di campione all'interno dei tre piattini porta campioni, quindi rispettivamente 10g ognuno, il campione è stato leggermente pressato con delle spatole per avere uno strato uniforme all'interno del piattino ed è stato inserito nelle camere di ossidazione dello strumento. Successivamente è stata avviata l'analisi ad una pressione d'ossigeno di 6 bar e ad una temperatura di analisi di 90°C.

La meccanica di funzionamento dell'OXITEST® si basa sulla registrazione, da parte dello strumento, della caduta di pressione all'interno delle camere di ossidazione in funzione della capacità dell'alimento di ossidarsi. Calcola il periodo di induzione (IP) che corrisponde al periodo di tempo misurato in ore necessario per ossidare completamente la componente lipidica presente in un alimento sottoposto a pressione di ossigeno e alta temperatura (tale periodo di tempo, intercorre dall'inizio dell'analisi alla formazione del flesso). Il test termina con la visualizzazione di una curva che presenta il flesso di ossidazione del prodotto in esame e il raggiungimento di un plateau per mezzo dell'apposito software di estrapolazione dei dati. In particolare, il flesso indica la fine della resistenza del campione all'ossidazione lipidica e quindi l'inizio della degradazione dell'alimento.

3.6 ANALISI STATISTICA

Tutte le analisi sono state effettuate in doppio (A e B) ed i risultati sono riportati come media \pm DS. I dati ottenuti sono stati elaborati attraverso l'analisi della varianza (ANOVA). La significatività tra medie ($p \leq 0,05$) è stata determinata utilizzando il test di Tukey.

4 RISULTATI E DISCUSSIONI

Prima di procedere con la valutazione e discussione dei risultati ottenuti dalle analisi svolte sullo studio di shelf life dei taralli oggetto di studio, riportiamo brevemente la loro composizione in acidi grassi (tabella 4), analisi effettuata in un lavoro svolto precedentemente che caratterizzava la frazione lipidica di taralli formulati con diverse miscele di grasso, tra cui i campioni T0 (100% EVO), T3 (EVO 75% e olio di riso 25%) e T4 (olio di girasole alto oleico 87.5% e olio di cocco 12.5%).

Campioni	SFA	MUFA	PUFA
T0	15,28 ± 0,04	75,78 ± 0,04	8,94 ± 0,01
T3	16,78 ± 0,08	68,27 ± 0,36	14,94 ± 0,28
T4	17,34 ± 0,11	72,61 ± 0,16	10,06 ± 0,04

Tabella 4 Valori medi di acidi grassi saturi (SFA), monoinsaturi (MUFA) e polinsaturi (PUFA) per le formulazioni di taralli, espressi in mg di FA/100mg di FAME con relativa deviazione standard

Come previsto dalla letteratura e consultando la tabella 4 si può notare che il campione T0 ha il maggior contenuto di MUFA rispetto agli altri campioni, l'acido grasso monoinsaturo preponderante è l'acido oleico. La stessa situazione la si ritrova nel lavoro svolto da Caponio (2013), dove il campione con il maggior numero di MUFA è quello di taralli preparati con olio EVO (Caponio *et al.*, 2013).

Mentre, il campione T3 è costituito da olio EVO e olio di riso, possiede il maggior numero di PUFA, dovuto alla presenza dell'olio di riso caratterizzato da un'elevata quantità di questi acidi grassi.

Il campione T4 costituito da olio di girasole alto oleico e olio di cocco ha il maggiore numero di SFA, come osservabile in tabella, in quanto l'olio di cocco è costituita dall'87% di acidi grassi saturi (Conte, 2003).

4.1 VALUTAZIONE DEL NUMERO DI PEROSSIDO

La quantificazione dei perossidi è un'analisi, spettrofotometrica, utile per effettuare uno screening rapido dello stato ossidativo di un alimento ed in particolare rappresenta un indice della quantità di prodotti primari di autossidazione degli acidi grassi. I risultati sono stati espressi in meqO₂/kg di grasso.

Campione T0: EVO 100%

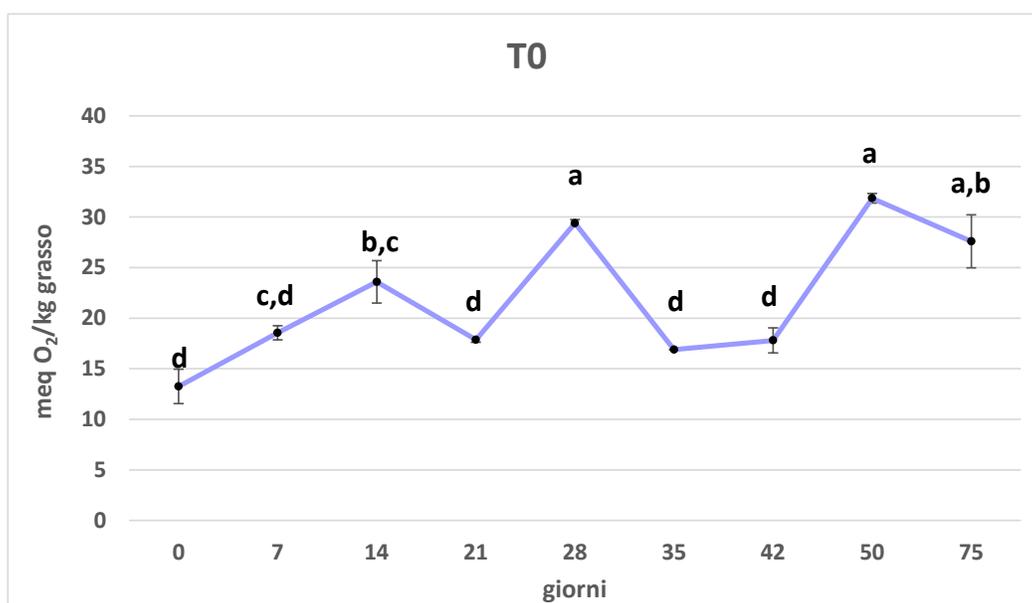


Figura 21 andamento del numero di perossido in funzione del tempo per il campione T0. I valori sono espressi come meqO₂/kg di grasso. I valori nel grafico con lettere diverse per i diversi tempi di shelf life sono significativamente diversi ($p \leq 0,05$).

In appendice 1 e nel grafico riportato sopra (figura 21) possiamo osservare l'andamento dei perossidi del campione tal quale (T0) ai differenti tempi di shef-life. È evidente come l'andamento sia un po' altalenante in quanto la concentrazione dei perossidi sembra inizialmente aumentare fino a 14 giorni di conservazione per poi calare a 21, 35 e 42 gg riportandosi in linea con il valore iniziale. Dopo 28 giorni di conservazione, invece, viene raggiunto un massimo pari a 29,4 meqO₂/kg di grasso che si ripresenta poi al tempo 50 gg e 75 gg, con valori tra loro non significativamente differenti ($p \leq 0,05$). Prima dei 14 gg di

conservazione il campione ha già superato il valore di 20, oltre il quale il grasso è da considerare alterato. Il numero di perossido, però è soggetto alle variazioni che appaiono in questo test perché i perossidi vanno incontro a demolizione e il numero che si registra è la risultante di velocità di formazione e demolizione, essendo che gli idroperossidi sono composti fortemente instabili.

Campione T3: EVO 75% e olio di riso 25%

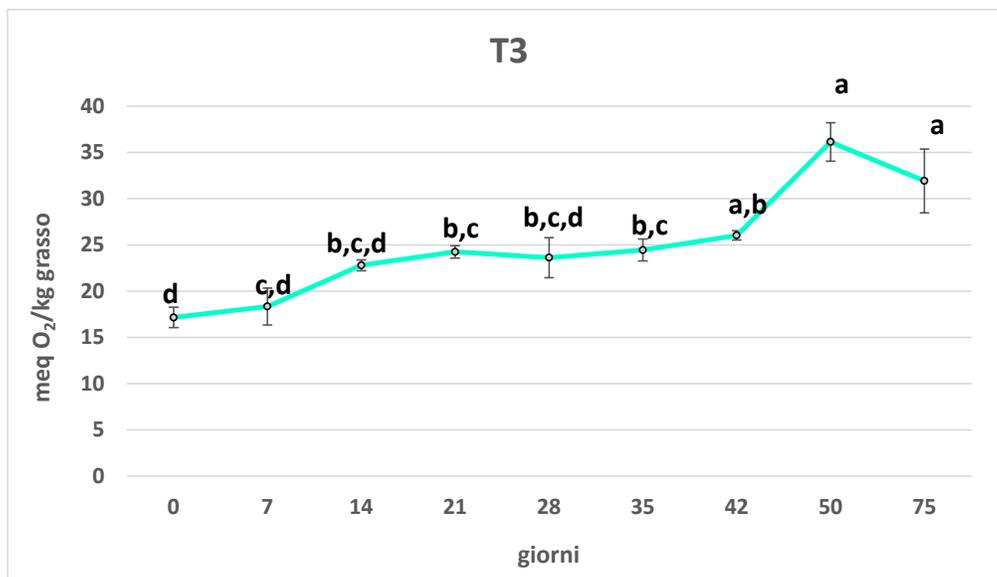


Figura 22 andamento numero di perossidi in funzione del tempo per il campione T3. I valori sono espressi come meqO₂/kg di grasso. Le lettere diverse all'interno di ogni classe sono significativamente differenti ($p \leq 0,05$).

In figura 22 e appendice 1 sono riportati i risultati del numero di perossido del campione T3 formulato con una miscela di EVO e olio di riso. Pur osservando che in questo caso il grafico mostra un andamento più lineare dove il contenuto in perossidi aumenta in maniera molto graduale dal tempo zero al tempo 42gg, il campione supera il valore di 20 a circa 10 gg. Fino a quel momento il numero di perossido non mostra variazioni significative (oscilla in un range tra 22 e 26 meqO₂/kg di grasso), mentre si innalza in maniera più importante al tempo 50 giorni, raggiungendo un valore pari a 36.13 meqO₂/kg di grasso. Anche in questo caso il valore finale a 75gg di shelf life non cambia significativamente dal prelievo precedente.

Campione T4: olio di girasole alto oleico 87.5% e olio di cocco 12.5%

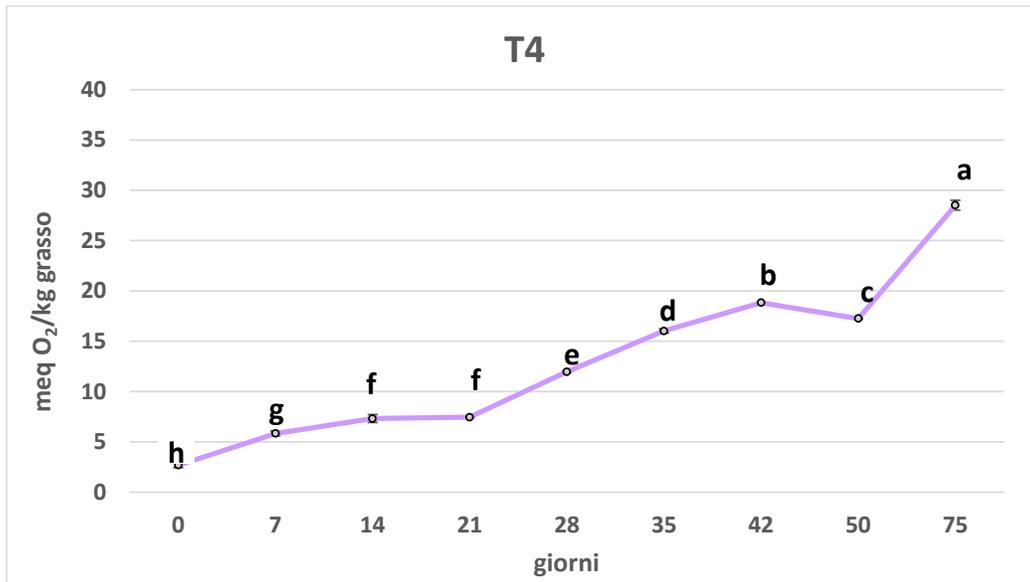


Figura 23 andamento numero di perossidi in funzione del tempo per il campione T4. I valori sono espressi come meqO₂/kg di grasso. Le lettere diverse all'interno di ogni classe sono significativamente differenti ($p \leq 0,05$).

Il campione T4, come si nota bene dalla figura 23 e dall'appendice 1, mantiene valori di perossido entro i limiti di legge, 20 meqO₂/kg grasso, fino a oltre 50 giorni di conservazione. L'andamento crescente è ancora più delineato e chiaro; infatti, in questo caso il numero di perossido aumenta in maniera significativa ($p \leq 0,05$) dal tempo zero al tempo 75gg, passando da un valore di 2.67 meqO₂/kg di olio (0gg) a un valore di 28.51 meqO₂/kg di olio e quindi con un aumento del contenuto di PV di più di 10 volte.

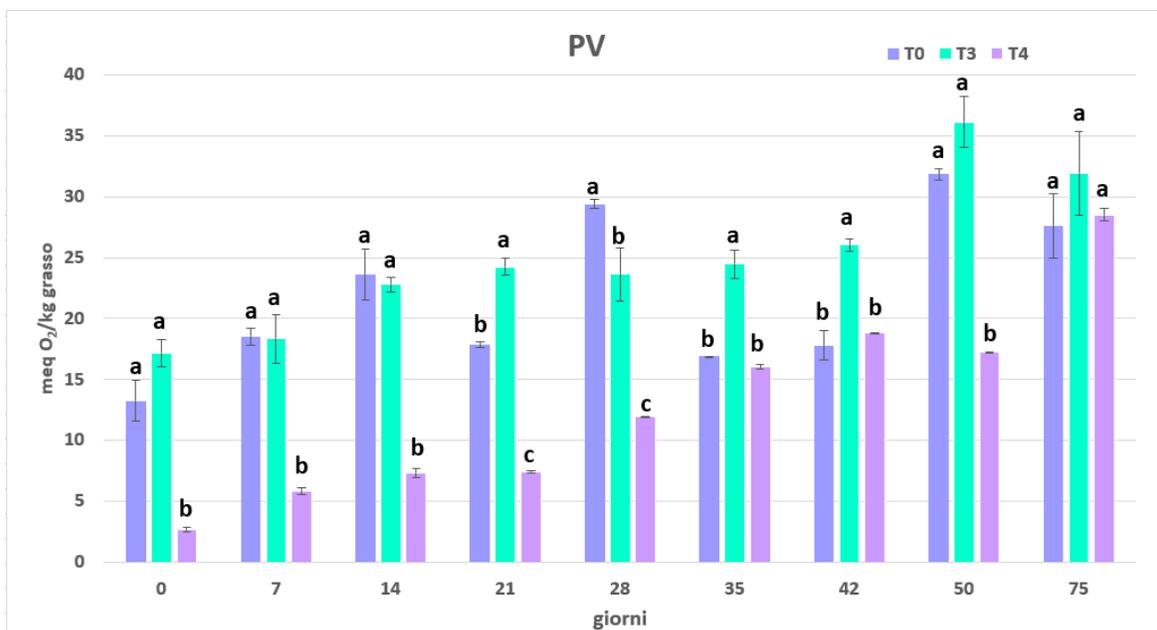


Figura 24 Rappresentazione grafica del numero di perossido dei campioni di taralli T0, T3, T4 ai diversi giorni di shelf life, espresso come meq O₂/kg di grasso. Le barre con lettere diverse all'interno di ogni tempo di shelf life rappresentano valori di PV dei vari taralli significativamente diversi ($p \leq 0,05$).

In Figura 24 è stato riportato il grafico ad istogramma che mette meglio in luce le differenze del contenuto in perossidi tra i tre campioni oggetto di studio per i vari tempi di shelf life analizzati. In primis, possiamo notare facilmente come il campione T4 presenti dei valori significativamente inferiori ($p \leq 0,05$) rispetto agli altri due campioni di taralli, con valori che oscillano da 2.67, del tempo zero, a 17.25 meqO₂/kg di grasso del tempo 50gg. L'ultimo punto di shelf life (75gg), invece, presenta un valore significativamente più alto (28.25 meqO₂/kg di olio), tale da raggiungere quello degli altri due campioni. I campioni T0 e T3, invece, presentano un contenuto in perossidi molto simile tra loro che oscilla rispettivamente da 13.25 a 27.59 meqO₂/kg di grasso e da 17.16 a 31.91 meqO₂/kg di grasso. Questi due taralli presentano discostamenti solo ai tempi 21 e 35 gg dove il campione T3 mostra un PV significativamente maggiore, mentre al tempo 28 la situazione si ribalta e il numero di perossido diminuisce per T3 e aumenta per T0 che presenta un contenuto significativamente più elevato.

È importante considerare che per legge il numero di perossido in un alimento è tollerabile fino ad un massimo di 20 meqO₂/kg di grasso quindi, rapportando questa condizione al

comportamento dei campioni di taralli si può affermare che i due campioni contenenti quantitativi abbondanti di EVO (T0 e T3) partissero da valori già abbastanza alti per superare entrambi il limite di 20 meqO₂/kg di grasso dopo 14 giorni di shelf life a temperatura ambiente. Al contrario, il tarallo T4 costituito da olio di girasole alto oleico per l'87.5% e il restante da olio di cocco, presenta valori significativamente più bassi e sotto il limite di legge per tutti i tempi analizzati, tranne a fine conservazione (75gg) dove raggiunge un contenuto pari a quello degli altri due campioni. Questo andamento sottolinea come, nonostante i bassi valori registrati, il T4 si presenti come il tarallo che in 2 mesi e mezzo subisce una ossidazione più accelerata mostrando un aumento del contenuto in PV di oltre 10 volte rispetto al campione fresco.

Dalla letteratura, in uno studio svolto da Verardo sempre sui taralli si evince una situazione molto simile, dove confrontando i taralli a diversa formulazione lipidica, tra cui un campione formulato con olio EVO e un altro campione formulato con olio di palma raffinato, che potrebbe essere paragonato all'olio di cocco in quanto presentano caratteristiche simili, è emerso che il campione con olio EVO presentava un maggior numero di perossido. Il campione formulato con olio di palma raffinato, quindi, aveva mostrato una maggiore resistenza all'ossidazione lipidica. Anche in questo studio il campione con olio EVO presentava un andamento un po' altalenante del valore di PV con il passare dei giorni (Verardo *et al.* 2010).

Sicuramente, sia nel nostro lavoro che in quello di Verardo, la maggiore resistenza del tarallo formulato con olio di cocco (o olio di palma nel caso di Verardo) è in parte dovuta alla composizione in acidi grassi della frazione lipidica che presenta un contenuto maggiore in SFA. Dall'altro lato, anche il processo di ottenimento degli oli impiegati in formulazione può avere una sua ripercussione, in quanto i taralli T0 e T3, presentando alte percentuali di olio EVO (100% e 75%, rispettivamente), che sappiamo non subire alcun processo di raffinazione, implica da un lato la permanenza di molecole antiossidanti naturalmente presenti (es. tocoferoli e fenoli) ma anche la permanenza di alcuni composti proossidanti (es: acidi grassi liberi, fosfolipidi, metalli presenti in tracce) ed eventuali idroperossidi già presenti.

4.2 DETERMINAZIONE DEI COMPOSTI VOLATILI: ESANALE

Per avere un quadro più completo dell'andamento dell'ossidazione della frazione lipidica dei taralli oggetto di studio, è stata condotta anche un'analisi della componente volatile, i prodotti secondari dell'ossidazione, solitamente aldeidi e chetoni, mediante SPME-GC-MS con auto campionatore CombiPAL. Nello specifico in questo paragrafo verrà valutato il contenuto dell'esanale, in quanto generalmente riconosciuto come uno dei maggiori composti responsabili dell'alterazione dell'aroma. Questo composto, facente parte del gruppo delle aldeidi, si può formare sia durante l'ossidazione, enzimatica o chimica, a partire dall'acido linoleico che dall'autossidazione dell'acido oleico, caratterizzando appunto lo stato ossidativo degli alimenti.

Campione T0: EVO 100%

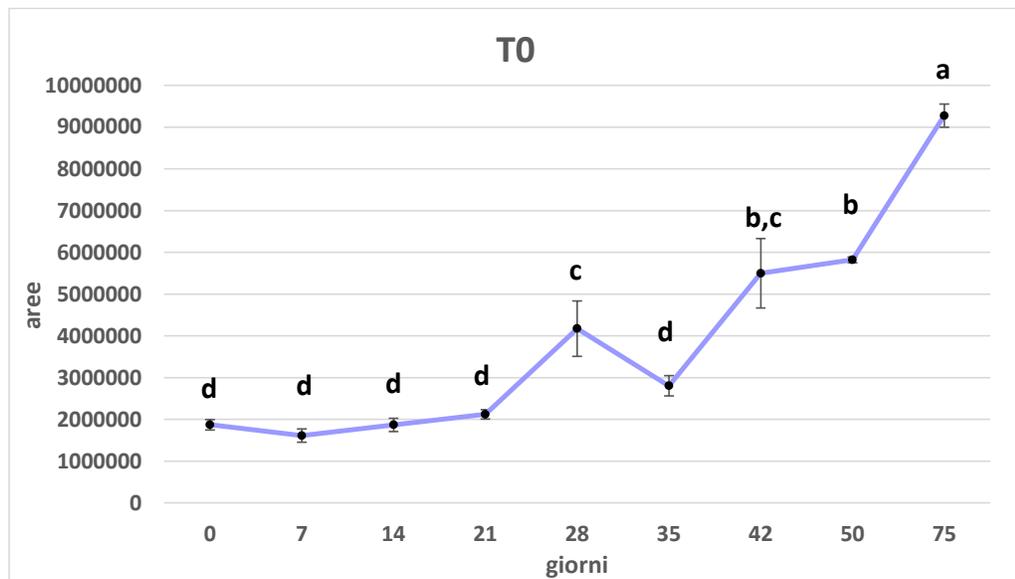


Figura 25 Determinazione dell'esanale nel campione T0. Le barre con lettere diverse all'interno di ogni classe sono significativamente differenti ($p \leq 0,05$).

Ad eccezione del tempo 28 gg, il campione T0 (100%EVO) presenta un trend abbastanza piatto e lineare fino al giorno 35 di shelf life, dove appunto il contenuto di esanale non mostra valori significativamente differenti ($p \leq 0,05$), oscillando da una area di 16.10 ad una di 28.03 $\times 10^5$ (figura 25, appendice 2). A partire dal giorno 42, invece, il contenuto in esanale inizia a subire un incremento repentino e significativo ($p \leq 0,05$), raddoppiando il valore (a 42 e 50 gg) fino a raggiungere il massimo a fine shelf life (75 gg), con un contenuto di esanale pari a 92.74×10^5 e quindi quasi 5 volte più elevato di quello registrato al tempo zero. Lo strano innalzamento del valore al tempo 28gg è in linea con quanto accaduto anche per i perossidi.

Campione T3: EVO 75% e olio di riso 25%

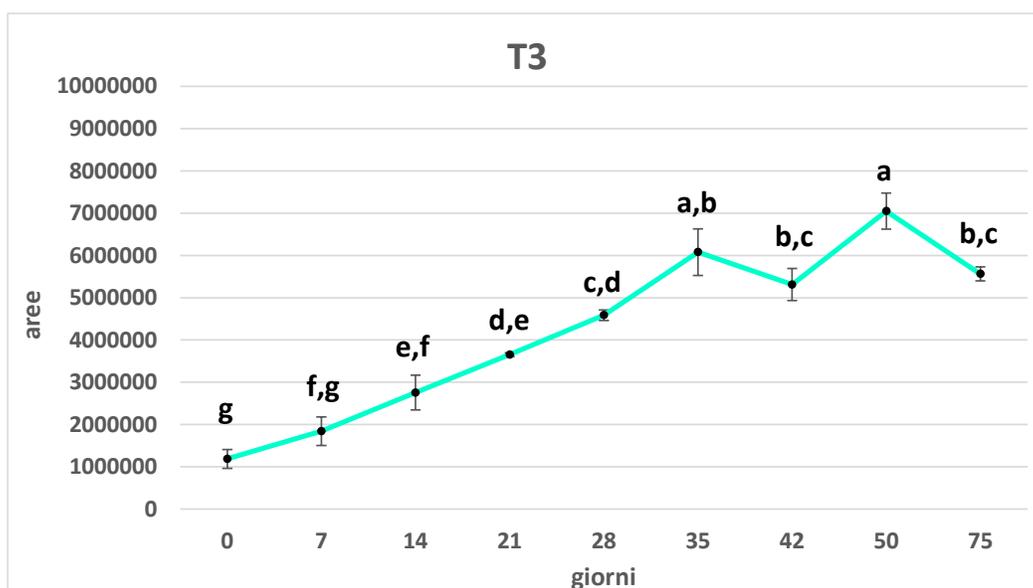


Figura 26 Determinazione dell'esanele nel campione T3. Le barre con lettere diverse all'interno di ogni classe sono significativamente differenti ($p \leq 0,05$).

Per quanto riguarda il campione T3, costituito da olio EVO e olio di riso, si può notare un trend crescente fino al tempo 35gg dove i valori aumentano in maniera graduale e raggiungono un massimo pari a 24.45×10^5 (figura 26 e appendice 2) e significativamente differente ($p \leq 0,05$) dai valori registrati nei tempi di prelievo precedenti. Successivamente si registra un piccolo calo, seppur non significativo, al tempo 42 (23.03×10^5), per poi risalire dopo 50 giorni di conservazione e raggiungere nuovamente una concentrazione massima in linea con il tempo 35gg; infine, a 75gg si ripresenta di nuovo un calo con un valore non

significativamente differente da quello dei 42 giorni di shelf life. Nonostante queste oscillazioni intermedie, anche in questo caso si ha un aumento di oltre 4 volte del contenuto in esanale nel tarallo a fine conservazione rispetto al tempo zero.

Campione T4: olio di girasole alto oleico 87.5% e olio di cocco 12.5%

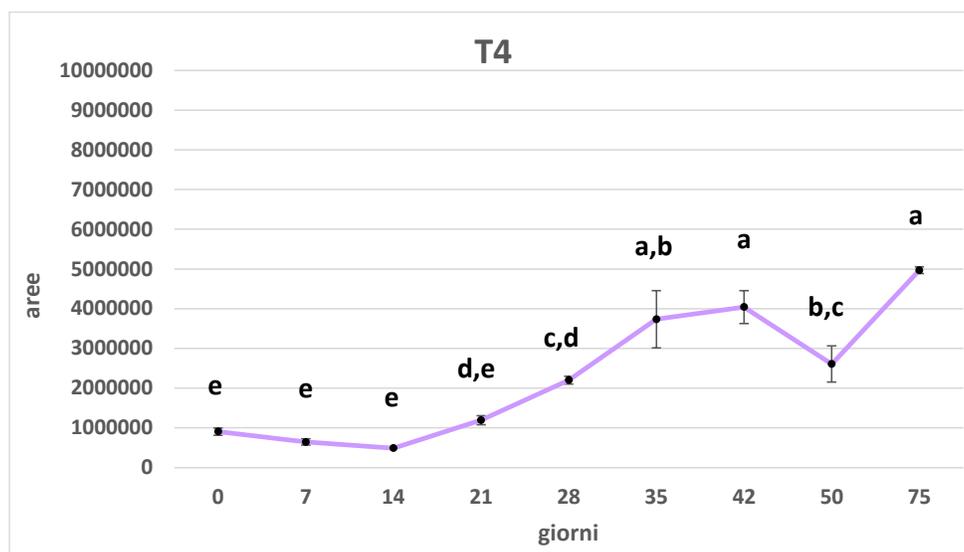


Figura 27 Determinazione dell'esane nel campione T4. Le barre con lettere diverse all'interno di ogni classe sono significativamente differenti ($p \leq 0,05$).

Nel campione T4, formulato con olio di girasole alto oleico e olio di cocco, la quantità di esane presente risulta molto più contenuta e, come visto anche per il T0, si presenta praticamente stabile per le prime tre settimane di conservazione (figura 27 e appendice 2). Dal ventottesimo giorno in poi, il contenuto di esane aumenta in maniera graduale e significativa ($p \leq 0,05$) fino a raggiungere un massimo a 42 gg con un valore pari a 40.40×10^5 . Al tempo 50gg, si registra un calo abbastanza significativo di tale composto, per poi risalire e raggiungere il massimo a fine conservazione (75gg), con un valore pari a 49.68×10^5 . In questo caso la crescita nel tempo di questa molecola è ancora più accentuata in quanto il

valore finale raggiunto è più di 5.5 volte maggiore rispetto al campione di partenza al tempo zero.

Dopo aver analizzato l'andamento del contenuto di esanale nei campioni T0, T3, T4 singolarmente, in figura 28 viene riportato un grafico generale che relaziona e mette meglio in luce i contenuti di esanale dei campioni nei vari tempi di shelf life.

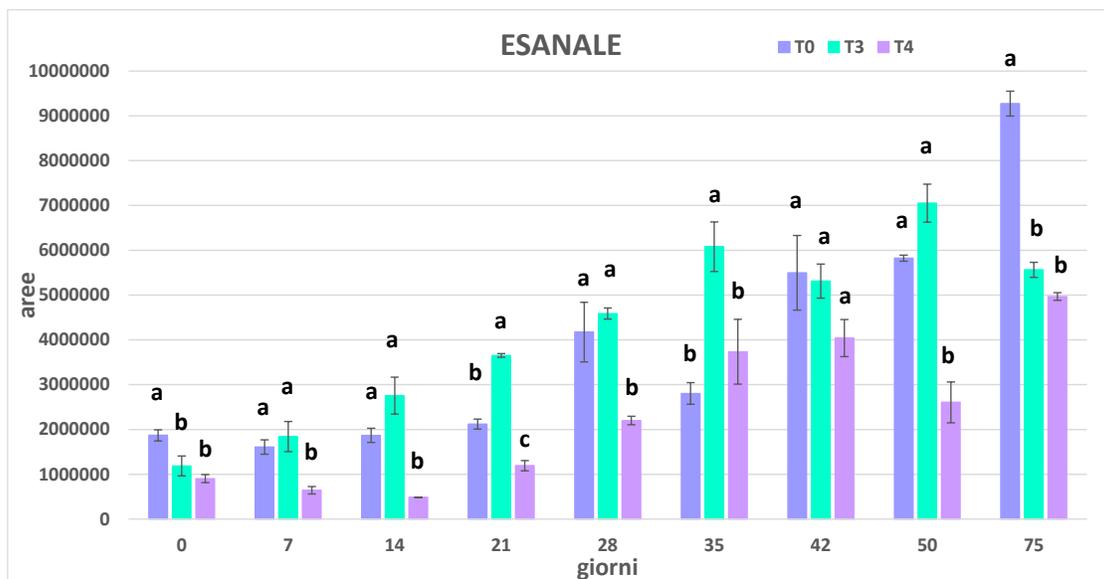


Figura 28 Rappresentazione grafica dell'esanale nei campioni di taralli: T0, T3, T4. Le barre con lettere diverse all'interno di ogni tempo di shelf life rappresentano le aree dei picchi di esanale dei vari taralli significativamente diversi ($p \leq 0,05$).

Per molti tempi (7, 14, 21, 35 e 50gg) si può ritrovare un andamento del tutto simile a quello riscontrato per i PV. Infatti, anche in questo caso (figura 28, appendice 2), il campione T4 formulato con olio di girasole alto oleico e olio di cocco, risulta sempre quello con il più basso contenuto in esanale, a volte con valori significativamente differenti ($p \leq 0,05$) da T0 e T3, a volte no. Il suo andamento parte da un contenuto molto basso di esanale nei primi giorni di shelf-life, in particolare a 14 giorni di conservazione presenta il valore più basso. Anche in questo caso, però, seppur meno marcato che per i PV, il campione T4 mostra un'ossidazione più accelerata raggiungendo infatti valori finali di 5.5 volte maggiori a fine

shelf-life (75gg). Il campione T3, costituito da olio EVO e olio di riso, invece, mostra un contenuto in esanale spesso molto simile al campione T0 anche se con un incremento molto più regolare nel tempo e un calo significativo ($p \leq 0,05$) a fine shelf life. Dall'altro lato, il campione T0 formulato solo con olio EVO, come per i PV, presenta un andamento un po' altalenante rispetto agli altri due campioni che si conclude con un innalzamento significativo a 75 giorni di conservazione e raggiungendo il contenuto massimo pari a 92.74×10^5 che corrisponde anche al valore massimo raggiunto tra tutti e tre i campioni.

Alcuni studi precedenti su tarallini formulati con diverse frazioni lipiche (olio EVO, olio d'oliva, olio di palma raffinato e olio di sansa d'oliva), avevano mostrato come in realtà il campione formulato con EVO riportava un quantitativo di esanale più basso, seguito dal campione formulato con olio di palma (Caponio *et al.*, 2011).

4.3 TEST DI OSSIDAZIONE ACCELERATA CON OXITEST®

Come spiegato e riportato in Materiali e Metodi al paragrafo 3.5, i risultati ottenuti con l'analisi OXITEST sono espressi sotto forma di periodo di induzione (IP) ossia il tempo limite in cui il campione riesce a resistere all'ossidazione forzata prima di andare in contro a decadimento qualitativo, espresso in minuti (min.). I risultati, riportati come IP (min), sono ottenuti usando un metodo a due tangenti.

- Campione T0: EVO 100%

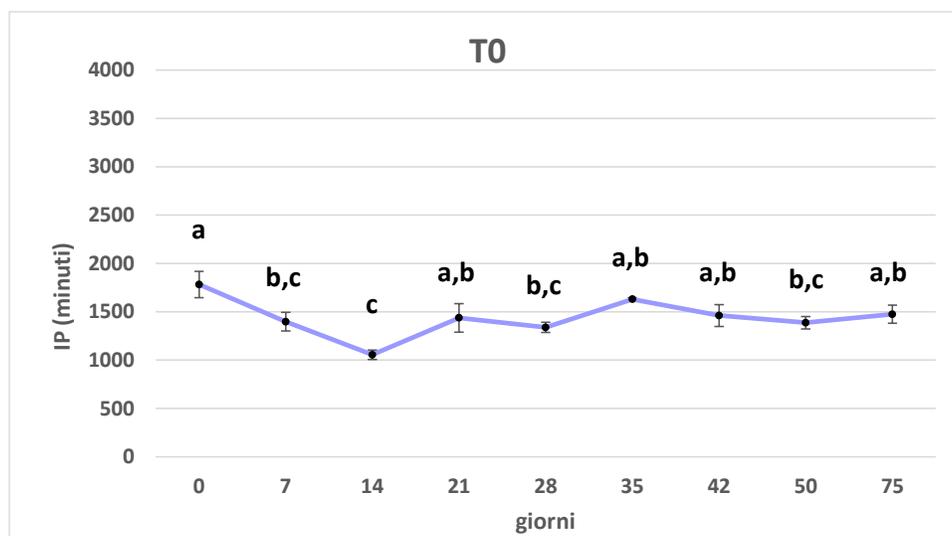


Figura 29 Determinazione dell'IP (min.) nel campione T0. Le barre con lettere diverse all'interno di ogni classe sono significativamente differenti ($p \leq 0,05$).

Il campione T0 formulato con solo olio EVO, dal test di ossidazione forzata (figura 29, appendice3) con strumento OXITEST, sembra avere un andamento molto simile ad una linea retta, con valori di IP tra loro significativamente poco differenti ($p \leq 0,05$). Inizialmente il campione mostra un valore di IP significativamente maggiore ($p \leq 0,05$) rispetto agli altri tempi che corrisponde a circa 30 ore; segue poi un leggero calo fino al giorno 14 (17.5 ore) per poi dal ventunesimo giorno di shelf life mantenere valori di IP significativamente non

differenti fino a fine conservazione. Seppur con valori di IP non molto bassi, questo andamento denota una certa stabilità allo stress ossidativo che si mantiene costante per tutto il tempo di conservazione testato.

- Campione T3: EVO 75% e olio di riso 25%

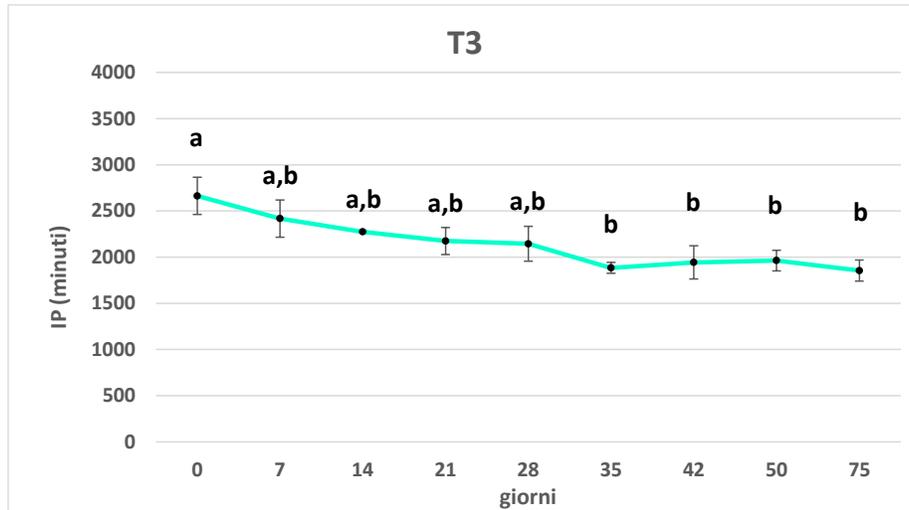


Figura 30 Determinazione dell'IP (min.) nel campione T3. Le barre con lettere diverse all'interno di ogni classe sono significativamente differenti ($p \leq 0,05$).

Come riportato in figura 30 e appendice 3, anche il campione T3 formulato con olio EVO e olio di riso mostra un andamento simile a quello riscontrato per il T0, con un IP che oscilla da 44 ore circa del tempo zero a 30.9 ore del tempo finale. Dal settimo giorno di conservazione in poi i valori non sono più tra loro significativamente differenti ($p \leq 0,05$) e questo denota, anche in questo caso, una certa stabilità ossidativa nel tempo.

- Campione T4: olio di girasole alto oleico 87.5% e olio di cocco 12.5%

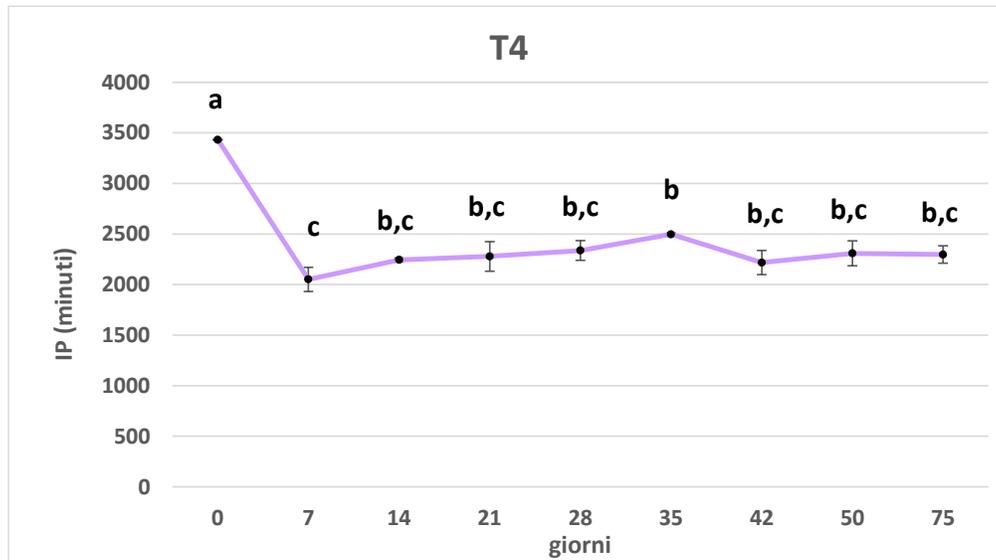


Figura 31 Determinazione dell'IP (min.) nel campione T4. Le barre con lettere diverse all'interno di ogni classe sono significativamente differenti ($p \leq 0,05$).

L'andamento del campione T4 formato da olio di girasole alto oleico e olio di cocco presenta un IP molto alto al tempo zero pari a circa 57 ore di resistenza all'ossidazione forzata. Nonostante ciò, già dopo una settimana di shelf life l'IP si abbassa notevolmente e significativamente ($p \leq 0,05$). (circa 34 ore) per poi mantenersi stabile nei tempi successivi di conservazione, dove i valori di IP non mostrano differenze significative ($p \leq 0,05$) (figura 31, appendice 3).

Nella figura 32 vengono rappresentati con grafico ad istogramma i valori IP dei vari campioni T0, T3 e T4 a diversa formulazione ai diversi tempi di conservazione per un confronto degli stessi. Si osserva bene come il campione T0, formulato solo con olio EVO, abbia un IP al tempo 0 significativamente inferiore ($p \leq 0,05$) rispetto agli altri due campioni, pari a circa 30 ore, cioè circa 1.5-2 volte inferiore rispetto ai campioni T3 e T4. Nonostante l'andamento nel tempo rimanga costante, il suo IP risulta sempre significativamente inferiore a quello degli altri due taralli. Questo risultato è in parte in linea con i valori di PV ed esanale riscontrati

precedentemente che risultavano spesso significativamente più elevati rispetto a T3 e T4. Come già accennato prima, per l'olio EVO gioca a sfavore il fatto che questo olio non subisce alcun processo di raffinazione prima del suo utilizzo e quindi non viene ripulito da possibili componenti che possono favorire l'ossidazione lipidica.

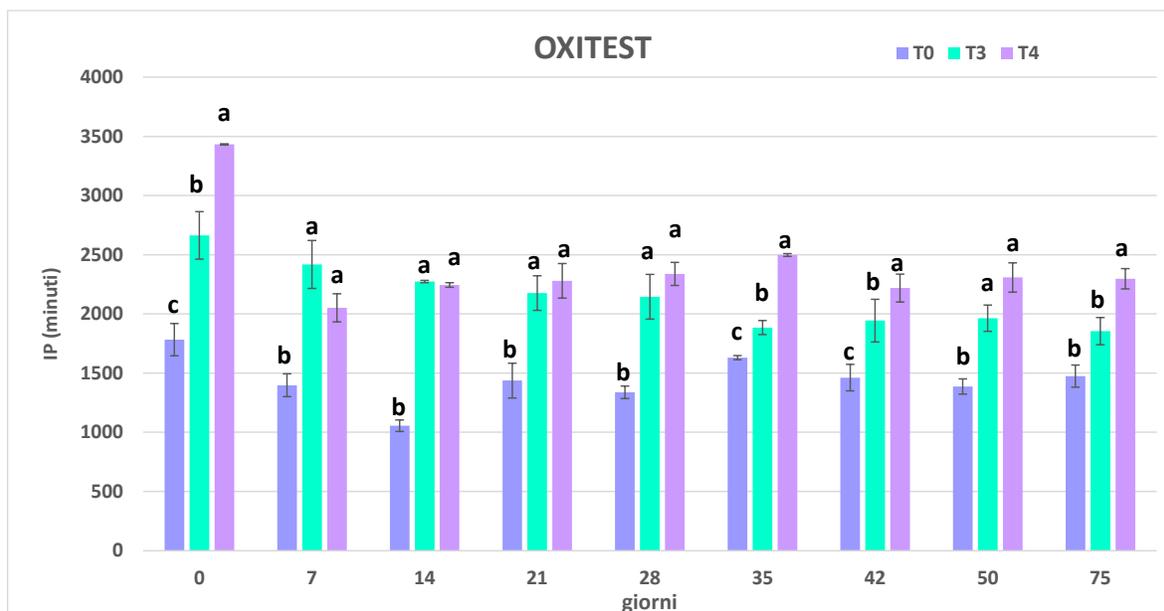


Figura 32 Determinazione dell'IP nei campioni di taralli: T0 (tarallo con olio EVO), T3 (tarallo con olio EVO [75%] e olio di riso [25%]), T4 (tarallo con olio di girasole alto oleico [87.5%] e olio di cocco [12.5%]) (min) ad una temperatura di 90°C e ad una pressione di ossigeno di 6 bar. Le barre con lettere diverse all'interno di ogni classe sono significativamente differenti ($p \leq 0,05$).

Il campione T3, nonostante sia formulato anch'esso con olio EVO al 75%, oltre all'olio di riso, presenta un IP significativamente maggiore ($p \leq 0,05$) rispetto al campione formulato solo con olio EVO, per tutti i tempi di analisi tranne a fine shelf life (75gg). Questo andamento è abbastanza sorprendente se si considera che dei tre campioni è il tarallo che ha una frazione lipidica maggiormente insatura quindi più facilmente soggetta all'ossidazione. I valori di PV ed esanale, difatti, mostravano andamenti molto più simili al T0 mentre qui mostra una resistenza all'ossidazione forzata quasi sempre significativamente più alta del T0 e non significativamente differente da quella del T4. Questo risultato potrebbe in parte essere spiegato dal fatto che, oltre ai composti antiossidanti dell'EVO, quali tocoferoli e fenoli, ci sia il contributo dei composti presenti nell'olio di riso che sappiamo contenere altri composti

con proprietà antiossidanti come tocoferoli e γ -orizanolo. In linea generale il campione T3 presenta IP elevati, che oscillano al di sopra delle 30 ore.

Per quanto riguarda il campione T4, composto dal 12,5% di olio di cocco e dal restante olio di girasole alto oleico, esso presenta ad ogni step temporale dei valori di IP elevati che oscillano da 57.2 a 38.3 ore e che sono in linea a quelli del T3 o significativamente superiori ($p \leq 0,05$), come si può vedere al tempo zero e a fine conservazione. Sicuramente questa stabilità e resistenza all'ossidazione forzata di questo campione è legata alla sua composizione acidica costituita da un contenuto inferiore di PUFA e maggiore di SFA rispetto alle altre due formulazioni. Difatti 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) oltre al contributo da parte dell'olio di girasole alto oleico presenta un contenuto elevato di acidi grassi monoinsaturi. Nonostante il campione T4 presenti i valori di IP più elevati e bene sottolineare come in realtà sia l'unico dei tre che già dopo una settimana abbia un calo drastico e importante della resistenza all'ossidazione, mostrando un valore di 1.6 volte più basso (a differenza del campione T0 e T3 che passano dal giorno 0 al giorno 7 con un calo dell'IP rispettivamente di 1.3 e 1.1 volte). Se poi prendiamo in considerazione l'intera shelf life, è importante notare come sia il campione T3 che T4 presentino un calo del valore di IP e quindi di resistenza all'ossidazione forzata di oltre il 30%, mentre il tarallo T0 mostra un calo pari a solamente il 17%.

5 CONCLUSIONI

L'obiettivo di questo lavoro di tesi è stato quello di studiare la stabilità ossidativa di taralli formulati con miscele lipidiche diverse durante un periodo di conservazione di circa due mesi e mezzo. Per poter valutare come la diversa frazione lipidica e come anche le interazioni con gli ingredienti propri del campione possano influenzare la conservabilità di taralli, sono state svolte analisi diverse.

Alla fine di tutte le analisi svolte, possiamo concludere che i risultati ci indicano il campione T4 come il tarallo che presenta uno stato ossidativo migliore dopo circa due mesi e mezzo di conservazione a temperatura ambiente. Questo tarallo è caratterizzato da una miscela lipidica costituita all'87.5% di olio di girasole alto oleico e dal 12.5% di olio di cocco quindi da due grassi con una composizione acidica molto favorevole perché è sicuramente quella più ricca sia in MUFA, apportati dall'alto oleico, che in SFA, apportati dall'olio di cocco. Dall'altro lato, però, questo campione si presenta anche quello con una velocità di decadimento ossidativo maggiore e ciò potrebbe essere legato ad un contenuto inferiore di composti antiossidanti, rispetto agli altri campioni. Nei taralli T0 e T3, dove l'EVO è il grasso principale con un patrimonio di antiossidanti naturali, ha però un'acidità libera iniziale più elevata di quella di oli raffinati (max 0,8 e 0,1 rispettivamente). Gli acidi grassi liberi sono molto più sensibili all'ossidazione di quelli esterificati e la presenza di questi indici di ossidazione elevati nell'EVO, da un lato è legata alla sua tecnologia di produzione, che non permette di allontanare eventuali composti pro-ossidanti, dall'altro presenta un'evoluzione del processo ossidativo più rallentato grazie all'alta concentrazione di sostanze come tocoferoli e fenoli. Nel campione T3, oltre alle sostanze antiossidanti presenti nell'EVO si aggiunge l'azione anche di quelle presenti nell'olio di riso, caratterizzato da una elevata concentrazione di tocoferoli, tocotrienoli e anche del γ -orizanolo

Questi risultati, però, lasciano intendere come la composizione acidica abbia la meglio sulla presenza di sostanze antiossidanti per quel che riguarda la qualità ossidativa di un prodotto ricco in grassi come i prodotti da forno e i taralli nello specifico. La complessità degli alimenti formulati potrebbe in parte spiegare questo fenomeno in quanto l'interazione tra alcuni composti, come i grassi e gli antiossidanti, potrebbe non essere così semplice e immediata. A tal proposito, negli ultimi anni, si sta cercando di ovviare a questo problema mettendo a punto molecole che siano più affini tra loro come nello studio di Marzocchi e Caboni (2018) dove è stato aggiunto a un olio EVO un lipofenolo, il tirosiloleato molecola che nasce dalla

reazione tra tirosolo e acido oleico, al fine di favorire l'azione antiossidante del tirosolo sulla componente grassa.

Infine, è bene sottolineare come questo lavoro rappresenti solo una parte dello studio di nuovi taralli a formulazione lipidica diversa dall'EVO, in quanto i nostri dati dovranno poi essere confrontati e rapportati con quelli ottenuti dal gruppo di ricerca del Dipartimento Agricoltura Ambiente e Alimenti (DiAAA) dell'Università degli Studi del Molise, che si focalizzavano sugli aspetti reologici e sensoriali.

6 APPENDICE

VALORE PEROSSIDI									
	T0			T3			T4		
giorni	meqO ₂ /Kg olio	n	N	meqO ₂ /Kg olio	n	N	meqO ₂ /Kg olio	n	N
t ₀	13.25±1.69	d	A	17.16±1.11	d	A	2.67±0.23	h	B
t ₇	18.55±0.70	c, d	A	18.34±2.00	c, d	A	5.83±0.25	g	B
t ₁₄	23.59±2.09	b, c	A	22.80±0.59	b, c, d	A	7.31±0.40	f	B
t ₂₁	17.87±0.25	d	B	24.25±0.67	b, c	A	7.42±0.07	f	C
t ₂₈	29.39±0.36	a	A	23.62±2.16	b, c, d	B	11.95±0.00	e	C
t ₃₅	16.89±0.02	d	B	24.45±1.18	b, c	A	16.02±0.20	d	B
t ₄₂	17.80±1.24	d	B	26.03±0.50	a, b	A	18.83±0.03	b	B
t ₅₀	31.85±0.48	a	A	36.13±2.08	a	A	17.25±0.03	c	B
t ₇₅	27.59±2.62	a, b	A	31.91±3.45	a	A	28.51±0.49	a	A

Appendice 1. Valori dei perossidi totali dei campioni espressi come meqO₂/kg di grasso. T0 (tarallo con olio EVO), T3 (tarallo con olio EVO [75%] e olio di riso [25%]), T4 (tarallo con olio di girasole alto oleico [87.5%] e olio di cocco [12.5%]). Lettere minuscole nella stessa colonna, denotano valori medi significativamente differenti ($p \leq 0,05$) all'interno di ogni singolo campione ai diversi tempi di shelf life. Lettere maiuscole nella stessa riga, denotano valori medi significativamente differenti ($p \leq 0,05$) tra i tre campioni (T0, T3, T4) per ogni tempo di shelf life.

ESANALE									
	T0			T3			T4		
giorni	Area x10 ⁵	n	N	Area x10 ⁵	n	N	Area x10 ⁵	n	N
t₀	18.71±1.25	d	A	11.87±2.23	g	B	9.05±0.91	e	B
t₇	16.10±1.60	d	A	18.43±3.36	f, g	A	6.44±0.81	e	B
t₁₄	18.69±1.59	d	A	27.55±4.11	e, f	A	4.88±0.01	e	B
t₂₁	21.22±1.12	d	B	36.52±0.43	d, e	A	11.93±1.14	d, e	C
t₂₈	41.74±6.63	c	A	45.88±1.24	c, d	A	22.00±0.96	c, d	B
t₃₅	28.03±2.41	d	B	60.80±5.52	a, b	A	37.36±7.21	a, b	B
t₄₂	54.97±8.32	b, c	A	53.11±3.80	b, c	A	40.40±4.15	a	A
t₅₀	58.22±0.68	b	B	70.50±4.24	a	A	26.07±4.55	b, c	B
t₇₅	92.74±2.79	a	A	55.64±1.68	b, c	B	49.68±0.85	a	B

Appendice 2. Area del picco dell'esanale nei campioni espressi come area*10⁵. T0 (tarallo con olio EVO), T3 (tarallo con olio EVO [75%] e olio di riso [25%]), T4 (tarallo con olio di girasole alto oleico [87.5%] e olio di cocco [12.5%]). Lettere minuscole, denotano valori medi significativamente differenti ($p \leq 0,05$) all'interno di ogni campione a tempi di shelf life diversi. Lettere maiuscole, denotano valori medi significativamente differenti ($p \leq 0,05$) tra i campioni (T0, T3, T4).

OXITEST®									
	T0			T3			T4		
giorni	IP (min.)	n	N	IP (min.)	n	N	IP (min.)	n	N
t₀	1782.5±136.5	a	C	2664.0±200.8	a	B	3432.5±4.9	a	A
t₇	1397.0±96.2	b, c	B	2418.0±202.2	a, b	A	2051.5±119.5	c	A
t₁₄	1055.5±48.8	c	B	2274.0±9.9	a, b	A	2244.0±19.8	b, c	A
t₂₁	1437.0±147.1	a, b	B	2175.5±146.4	a, b	A	2279.0±145.7	b, c	A
t₂₈	1338.5±53.0	b, c	B	2145.0±189.5	a, b	A	2337.0±97.6	b, c	B
t₃₅	1630.0±17.0	a, b	C	1884.5±58.7	b	B	2498.0±11.3	b	A
t₄₂	1461.5±112.4	a, b	C	1943.5±180.3	b	B	2218.0±118.8	b, c	A
t₅₀	1386.5±64.3	b, c	B	1963.5±111.0	b	A	23.08.5±123.7	b, c	A
t₇₅	1474.5±94.0	a, b	B	1855.0±114.6	b	B	2297.0±86.3	b, c	A

Appendice 3. Valori di IP (min) dei campioni di taralli ad una temperatura di 90°C e ad una pressione di ossigeno di 6 bar. T0 (tarallo con olio EVO), T3 (tarallo con olio EVO [75%] e olio di riso [25%]), T4 (tarallo con olio di girasole alto oleico [87.5%] e olio di cocco [12.5%]). Lettere minuscole, denotano valori medi significativamente differenti ($p \leq 0,05$) all'interno di ogni campione a tempi di shelf life diversi. Lettere maiuscole, denotano valori medi significativamente differenti ($p \leq 0,05$) tra i campioni (T0, T3, T4).

7 BIBLIOGRAFIA

- Arfini, F., Belletti, G., Marescotti, A. (2010) Prodotti tipici e denominazioni geografiche. Strumenti di tutela e valorizzazione. Quaderni Gruppo 2013. Edizioni Tellus
- Barbieri, S., Bendini, A., Balestra, F., Palagano, R., Rocculi, P., Gallina Toschi, T. (2018) 'Sensory and instrumental study of Taralli, a typical Italian bakery product', *European Food Research and Technology*, 244(1), pp. 73–82.
- Barden, L. Decker, E. A. (2013) 'Lipid oxidation in low-moisture food: A review', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Taylor and Francis Inc., pp. 2467–2482.
- Calligaris, S., Pieve, S. D., Kravina, G., Manzocco, L., Nicoli, C. M. (2008) 'Shelf life prediction of bread sticks using oxidation indices: A validation study', *Journal of Food Science*, 73(2).
- Caponio, F., Summo, C., Pasqualone, A., Paradiso, V. M., Gomes, T.. (2009) 'Influence of processing and storage time on the lipidic fraction of taralli', *Journal of Food Science*, 74(9).
- Caponio, F., Giarnetti, M., Summo, C., Gomes, T. (2011) 'Influence of the Different Oils Used in Dough Formulation on the Lipid Fraction of Taralli', *Journal of Food Science*, 76(4).
- Caponio, F., Giarnetti, M., Summo, C., Gomes, T. (2013) 'A comparative study on oxidative and hydrolytic stability of monovarietal extra virgin olive oil in bakery products', *Food Research International*, 54(2), pp. 1995–2000.
- Caponio, F., Giarnetti, M., Paradiso, V. M., Vito M., Cosmai, L., Gomes, T. (2013) 'Potential use of extra virgin olive oil in bakery products rich in fats: A comparative study with refined oils', *International Journal of Food Science and Technology*, 48(1), pp. 82–88.
- Cappelli, P., Vannucchi, V. (2015). Lipidi. capitolo 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. Capitolo 7, pp. 133 – 152. In: Principi di chimica degli alimenti. Zanichelli, Bologna.

Cappelli, P., Vannucchi, V. (2015). Additivi alimentari. Capitolo 10, pp. 197 – 223. In: *Principi di chimica degli alimenti*. Zanichelli, Bologna.

Cassileth, B. (2011). Oilseeds: Health Applications and Food Attributes *Flaxseed (Linum usitatissimum)*, *Oncology (Williston Park, N.Y.)*.

Cauvain, S. P. e Young, L. S. (2007) *Baked Products: Science, Technology and Practice*, *Baked Products: Science, Technology and Practice*.

Choe, E. e Min, D. B. (no date) *Comprehensive Food Science and Food Safety Reviews in Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation*.

Colonna, S., Folco, G. e Marangoni, F. (2013) *I cibi della salute, Le basi chimiche di una corretta alimentazione*. Springer Milan.

Conte, L., Nicoli M. C., Impiego di oli e grassi nella formulazione dei prodotti da forno, AREA Science Park, prima edizione: dicembre 2003.

Durante, M., Bleve, G., Selvaggini, R., Veneziani, G., Servili, M., Mita, G. (2019) ‘Bioactive compounds and stability of a typical Italian bakery products “taralli” enriched with fermented olive paste’, *Molecules*, 24(18).

Fereidoon Shahidi (2005) ‘Bailey’s Industrial Oil And Fat Products’. The Chemistry Of Minor Lipid Components. pp 329-411

Frankel, E. N. (1984) *Lipid Oxidation: Mechanisms, Products and Biological Significance*.

Giarnetti, M.; Caponio, F., Paradiso, V. M., Summo, C., e Gomes. T. (2012) ‘Effect of the Type of Oil on the Evolution of Volatile Compounds of Taralli During Storage’, *Journal of Food Science*.

Goodridge, C. F. Beaudry, R. M., Pestka, J.J., e Smith, D. M. (2003) ‘Solid phase microextraction - Gas chromatography for quantifying headspace hexanal above freeze-dried chicken myofibrils’, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Gutiérrez-Luna, K., Astiasarán, I. e Ansorena, D. (2020) ‘Gels as fat replacers in bakery products: a review’, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Bellwether Publishing.

- Maire, M., Rega, B., Cuvelier, M. E., Soto, P., Giampaoli, P. (2013) 'Lipid oxidation in baked products: Impact of formula and process on the generation of volatile compounds', *Food Chemistry*, 141(4), pp. 3510–3518.
- Manley, D. J. R. (Duncan J. R. (1998)) *Biscuit, cookie and cracker manufacturing manuals*. Woodhead Pub.
- Manzocco, L., Romano, G., Calligaris, S., e Nicoli, M.C. (2020) 'Modeling the effect of the oxidation status of the ingredient oil on stability and shelf life of low-moisture bakery products: The case study of crackers', *Foods*, 9(6).
- Marzocchi, S. e Caboni, M. F. (2018) 'Study of the Effect of Tyrosyl Oleate on Lipid Oxidation in a Typical Italian Bakery Product', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(47), pp. 12555–12560.
- Miniello, V. L, e Diaferio, L. (2015) *Olio di palma: dal biberon allo snack*. Review
- Napolitano, A., Morales, F., Sacchi, R., e Fogliano, V. (2008) 'Relationship between virgin olive oil phenolic compounds and acrylamide formation in fried crisps', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(6), pp. 2034–2040.
- Osborne, T., e Clapp, H. (2022) 'Bodies.1 proteins. Capitolo III, The chemistry of the protein wheat kernel. -part hydrolysis'
- P. Cabras, A. M. (2004) *Chimica degli alimenti*. 2004th edn. Edited by Piccin.
- Pangloli, P., Melton, S.L., Collins, J.L., Penfield, M.P., Saxton, M.P. (2002) *Flavor and Storage Stability of Potato Chips Fried in Cottonseed and Sunflower Oils and Palm Olein/Sunflower Oil Blends*, *Journal Of Food Science*.
- Quarantelli, A., Righi, F., Renzi, M., Bonomi. (2003) *Processi Ossidativi Negli Alimenti Di Origine Vegetale*, *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma* (Vol. XXIII, 2003) pp 181-202.
- Renna, M., Signore, A. e Santamaria, P. (2018) 'Traditional agrifood products: An expression of Italian cultural heritage', *Italus Hortus*. Societa di Ortoflorofruitticoltura Italiana, pp. 1–13.

Riciputi, Y. e Caboni, M. F. (2017) *Assessing Oil Oxidative Stability In Tarallini By Oxitest* ®, *Ital. J. Food Sci.*

Shahidi, F., e Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical society reviews*, 39(11), 4067-4079.

Shanta, NC e Decker, EA (1994) Metodi spettrofotometrici rapidi, sensibili, a base di ferro per la determinazione dei valori di perossido dei lipidi alimentari. *Giornale di AOAC International*, 77, 421-424.

Singh, S., & Immanuel, G. (2014). Extraction of antioxidants from fruit peels and its utilization in paneer. *Journal of Food Processing & Technology*, 5(7), 1

W. Zhou (2014) *Bakery Products science and Tecnology*.

Yi, H., Rozalli, N. H. M, Ilias, N.N. (2021) Physicochemical, Textural, Thermal Properties of Rice Bran Oil Spread as Alternate Shortening for Bakery Products. *Advances In Agricultural And Food Research Journal*, pp. 1–21.

Zhang, N., Li, Y., Wen, S., Sun, Y., Chen, J., Gao, Y., Sagymbek, A., Yu, X. (2021) ‘Analytical methods for determining the peroxide value of edible oils: A mini-review’, *Food Chemistry*, 358(January), p. 129834.

Sitografia:

<http://www.anapoo.it/>

<https://www.ansa.it/>

<https://agrireregionieuropa.univpm.it/>

<https://www.ilgiornaledelcibo.it/>

<http://www.agroalimentarenews.com/>

<https://www.coldiretti.it/>