

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II**  
**FACOLTÀ DI AGRARIA-PORTICI**

Dottorato di Ricerca  
in  
**SCIENZE E TECNOLOGIE  
DELLE PRODUZIONI AGRO-ALIMENTARI  
XXI CICLO**

**SVILUPPO DI UNA NUOVA MAIONESE FUNZIONALE  
RICCA IN ACIDI GRASSI OMEGA 3 E 6:  
CARATTERIZZAZIONE STRUMENTALE E SENSORIALE**

Tutor  
Ch.mo Prof.  
PAOLO MASI

Dottoranda  
Dott.ssa  
AMALIA D'AMORE

Coordinatore  
Ch.mo Prof.  
GIANCARLO BARBIERI

TRIENNIO 2005 – 2008

*... ai miei genitori che  
sono sempre stati e  
che sempre saranno  
il mio unico punto di riferimento.*



## INDICE

<b>1. INTRODUZIONE</b>	<b>1</b>
1.1. Introduzione al lavoro di tesi	1
1.2. Maionese	1
1.3. Emulsioni alimentari	3
1.4. Alimenti funzionali	9
1.5. Acidi grassi essenziali	13
1.6. Cenni di reologia	15
1.7. Analisi microscopica	18
1.8. Analisi gas-cromatografica	19
1.9. Analisi sensoriale: Q.D.A., Focus Group e Consumer Science	23
<b>2. STATO DELL'ARTE</b>	<b>27</b>
2.1. Maionese come prodotto funzionale	27
2.2. Fattori che influenzano la stabilità della maionese	28
2.3. Proprietà reologiche delle emulsioni	29
2.4. Cause di fenomeni di autossidazione nella maionese	32
2.5. Influenza del tipo di olio e di altri sostituenti della frazione lipidica nella maionese	34
2.6. Caratterizzazioni reologiche e sensoriali di campioni di maionese	35
2.7. Consumer science	37
2.8. Composizione acidica degli oli e loro benefici sullo stato di salute	
<b>3. DISEGNO SPERIMENTALE</b>	<b>41</b>
3.1. Struttura della tesi	41
3.2. Disegno sperimentale: pianificazione delle analisi strumentali e Sensoriali	41
<b>4. MATERIALI E METODI</b>	<b>43</b>
4.1. Materiali	43
4.1.1. Campioni commerciali di maionese	43

4.1.2. Campioni funzionali di maionese	44
4.2. Metodi	46
4.2.1. Preparazione dei campioni	46
4.2.2. Analisi reologica	47
4.2.2.1. <i>Strain sweep test</i>	47
4.2.2.2. <i>Frequency sweep test</i>	47
4.2.3. S.E.M.: osservazione della microstruttura	47
4.2.4. GC-FID: analisi degli acidi grassi	48
4.2.5. Analisi dell'acidità	49
4.2.6. Analisi del numero di perossidi	49
4.2.7. Analisi del pH	50
4.2.8. Analisi colorimetrica	50
4.2.9. Analisi sensoriale	51
4.2.9.1. <i>Q.D.A.</i>	51
4.2.9.2. <i>Focus Group</i>	53
4.2.9.3. <i>Consumer test</i>	53
4.2.9.4. <i>Analisi statistica dei dati</i>	54
<b>RISULTATI E DISCUSSIONE</b>	<b>55</b>
<b>5. CARATTERIZZAZIONE REOLOGICA</b>	<b>55</b>
Strain sweep test	55
Frequency sweep test	57
<b>6. OSSERVAZIONE E DISCUSSIONE DELLE MICROGRAFIE</b>	<b>67</b>
<b>7. CARATTERIZZAZIONE DELLA COMPONENTE LIPIDICA</b>	<b>79</b>
7.1. Caratterizzazione acidica della componente lipidica degli oli	79
7.1.1. Composizione acidica della frazione lipica della maionese	81
7.2. Acidità	92
7.3. Numero di perossidi	95

<b>8. CARATTERIZZAZIONE STRUMENTALE</b>	<b>98</b>
8.1. pH	98
8.2. Colore	100
<b>9. CARATTERIZZAZIONE SENSORIALE</b>	<b>105</b>
9.1. Analisi descrittiva quantitativa	105
9.1.1. Fase di addestramento	105
9.1.2. Determinazione dei profili sensoriali	106
9.2. Discussione dati Focus Group	111
9.3. Discussione dati Consumer test	112
<b>10. CONCLUSIONI</b>	<b>116</b>
10.1. Conclusioni: caratterizzazione reologica	116
10.2. Conclusioni: microstruttura	117
10.3. Conclusioni: caratterizzazione acidica	117
10.4. Conclusioni: caratterizzazione strumentale, pH e colore	118
10.5. Conclusioni: caratterizzazione sensoriale e studio del consumatore	119
10.5.1. Analisi descrittiva quantitativa	119
10.5.2. Focus group	119
10.5.3. Consumer test	119
10.6. Correlazioni analisi reologica - osservazione della microstruttura	120
10.7. Correlazioni Q.D.A. - analisi reologica	120
<b>11. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>121</b>

## **1. INTRODUZIONE**

### **1.1. Introduzione al lavoro di tesi**

La dieta influenza numerosi fattori biochimici ed ormonali del nostro corpo, gli stessi meccanismi che influenzano il nostro stato di salute ed il senso di benessere e di sazietà. Tali fattori biochimici ed ormonali possono essere controllati attraverso un regime alimentare corretto, equilibrato e variato nel tempo.

Tra i nutrienti indispensabili per il corretto funzionamento dell'organismo umano sono compresi gli acidi grassi essenziali (EFA, *Essential Fatty Acids*) omega 3 e 6 che controllano importanti fattori ormonali e biochimici.

Per tale motivo numerose aziende alimentari hanno creato ed immesso sul mercato alimenti resi funzionali attraverso l'aggiunta, nella loro formulazione, di acidi grassi essenziali.

In commercio esistono numerosi prodotti contenenti tali nutrienti, tra cui pane, pasta, latte, biscotti, omogeneizzati, uova, cereali per la prima colazione ed altro ancora.

Bisogna comunque tener presente che per espletare al meglio le loro funzioni, gli acidi grassi essenziali devono essere introdotti attraverso l'alimentazione in un rapporto  $\omega 3:\omega 6$  - 1:5.

Tenendo conto di quanto detto finora sarebbe bene consumare prodotti che contengano le giuste proporzioni di EFA, tra questi alimenti è compresa la noce e naturalmente l'olio che da essa si ricava attraverso un processo di spremitura a freddo, necessario per evitare l'alterazione di tali importantissime sostanze.

In tale contesto si inserisce la messa a punto dell'innovativo prodotto funzionale oggetto del presente lavoro di tesi: salsa maionese all'olio di noci ricca in acidi grassi omega 3 e 6.

### **1.2. Maionese**

La maionese è sicuramente la più diffusa e nota tra le numerose salse attualmente in commercio.

Per la prima volta, fu prodotta industrialmente nei primi anni del 1900, diventando popolare prima in America, tra il 1917 e il 1927, e poi più recentemente in Giappone dove le vendite sono aumentate del 21% tra il 1987 e il 1990 (Depree & Savage, 2001).

Attualmente in Italia il consumo di maionese è di circa ventiduemila tonnellate (per un valore di 60 milioni di euro), per il 75% concentrato al nord.

Si calcola che, nel complesso, sia un prodotto utilizzato dalle famiglie, in modo più o meno continuativo, ma una parte rilevante del consumo, circa il 40% passa attraverso bar, *fast food*, ristorazione.

Maggiormente preferite dai consumatori sono le confezioni in tubetto, probabilmente perché queste, con la fuoriuscita a pressione della maionese, consentono la decorazione di numerosi piatti. Inoltre, secondo quanto emerge da recenti indagini, la maionese è utilizzata nel 50% dei casi come ingrediente nelle ricette, nel 35% come condimento e guarnizione, per il restante 15% consumata come snack ([www.massmarket.it](http://www.massmarket.it)).

La maionese tradizionale è un'emulsione semi-solida olio in acqua, contenente ingredienti come tuorlo d'uovo pastorizzato, sale, aceto, olio e succo di limone (Dickinson & Stainsby, 1982), ai quali spesso sono aggiunti altri ingredienti opzionali come agenti addensanti (idrocolloidi o gomme) per migliorare la loro stabilità, aromi, zucchero, acidificanti (Ma & Barbosa-Cànovas, 1995 a e b).

Secondo quanto riportato in letteratura, l'emulsione si ottiene miscelando, inizialmente, le uova e l'aceto e aggiungendo, poi, l'olio a filo; il rapporto ottimale tra il tuorlo d'uovo e l'olio è di 1 a 4 (Depree & Savage, 2001), ma può arrivare fino a 1 a 10. Solitamente l'olio utilizzato è l'olio di semi di girasole.

In Italia nessuna norma stabilisce come deve essere preparata una maionese industriale; analogamente agli altri prodotti alimentari, è obbligatorio riportare l'elenco degli ingredienti sull'etichetta, ma non l'indicazione delle quantità e delle percentuali degli stessi.

Oggi, in commercio sono presenti numerose salse maionese che si differenziano sia per il profilo nutrizionale sia per il profilo sensoriale.

La maionese essendo costituita dal 60-70% di olio, dal punto di vista nutrizionale è considerata un alimento "proibito", una salsa ipercalorica, soprattutto da chi vuole seguire un'alimentazione sana ed equilibrata.

La maionese tradizionale ha un potere calorico di circa 750 calorie per 100g, le stesse del burro, e contiene anche molto colesterolo.

Tuttavia, nelle dosi normalmente utilizzate, l'apporto di colesterolo non è superiore a quello di tanti altri alimenti, come per esempio la carne.

Generalmente, la maionese è preparata con olio di girasole che ha un alto contenuto di acidi grassi insaturi che, come è noto, sono da preferire a quelli saturi.

Nella maionese *light*, normalmente presente in commercio, invece, l'acqua è presente in percentuale maggiore allo scopo di impiegare una minore quantità d'olio; il suo poter calorico è di circa 550 calorie per 100 g.

Essendo un alimento prevalentemente lipidico, il risparmio calorico è proporzionale alla perdita di gusto e, quindi, spesso non ha molto senso puntare sulla maionese *light*; per ottenere lo stesso gusto occorre una maggiore quantità di maionese, con un apporto calorico sostanzialmente invariato.

Dal punto di vista sensoriale gli attributi che maggiormente caratterizzano la maionese sono gli attributi visivi, di *flavour*, di *texture*; essi sono fortemente influenzati dal tipo di olio utilizzato (Worrasinchai *et al.*, 2006; Santipanichwong & Suphantharika, 2007; Wendin & Hall, 2001).

Un'emulsione ideale olio in acqua consiste di goccioline di olio di forma sferica strettamente impaccate nella fase continua, la fase dispersa occupa fino ad un massimo del 74% del volume totale.

Ciò significa che tra le goccioline di olio si instaurano forze molto intense che le mantengono legate le une alle altre (Depree & Savage, 2001).

La stabilità e le proprietà di *texture* delle emulsioni molto concentrate come la maionese (contenuto in olio superiore all'80%) dipendono dalla presenza dei costituenti dell'albume e del tuorlo d'uovo che stabilizzano le goccioline d'olio prevenendone la coalescenza; nello stesso tempo, tali costituenti sono

coinvolti in complesse interazioni con le goccioline d'olio determinando la formazione di un *network* che influenza le proprietà reologiche dell'emulsione e in special modo la sua viscoelasticità.

Questa combinazione di fattori conferisce alla maionese tradizionale un'elevata viscosità.

Le forze di attrazione tra le goccioline sono del tipo di Van der Waals, ma anche di repulsione sterica ed elettrostatica. La qualità dell'emulsione dipende dal giusto equilibrio tra queste forze: un'attrazione troppo forte può promuovere la coalescenza delle goccioline, mentre una repulsione eccessiva può portare ad un'emulsione poco viscosa e incline al *creaming*, perciò le goccioline d'olio si stringono in un volume minimo, permettendo all'acqua di scorrere via.

A causa del suo basso pH e dell'elevato tenore in grassi, la maionese è relativamente resistente allo sviluppo microbico. La crescita microbica, soprattutto, di lieviti e muffe, è favorita dal collasso dell'emulsione, dall'ossidazione dei lipidi e dalla stabilità dei principali componenti aromatici.

Il pH della maionese può avere degli effetti negativi sulla struttura dell'emulsione.

La viscoelasticità e la stabilità della maionese possono raggiungere il massimo livello quando il pH raggiunge un valore prossimo al punto isoelettrico delle proteine del tuorlo d'uovo, che è circa 3.9 (Kiosseoglou & Sherman, 1983).

### **1.3. Emulsioni alimentari**

I sistemi alimentari sono, generalmente, dei sistemi multifasici assai complessi, da studiare tenendo conto di diversi approcci interpretativi. Tra la grande varietà dei prodotti alimentari, la salsa maionese può essere classificata come un prodotto spalmabile multifasico. In generale, i prodotti spalmabili multifasici sono alimenti semisolidi che comprendono diverse categorie di prodotto tra cui le emulsioni.

Le emulsioni sono dei sistemi bifasici dispersi ovvero sono una miscela di due liquidi immiscibili, in cui una delle fasi, detta fase dispersa, è rappresentata da goccioline separate una dall'altra da regioni più o meno ampie occupate da molecole dell'altra fase, detta fase disperdente. La fase disperdente è anche detta fase continua, essa determina le proprietà fisiche macroscopiche dell'intero sistema. Le emulsioni sono sistemi termodinamicamente instabili.

Esse si ottengono attraverso l'agitazione meccanica dei due liquidi che le andranno a formare; il lavoro meccanico si traduce, infatti, in lavoro di estensione della superficie di separazione, il quale è direttamente proporzionale alla tensione superficiale all'interfaccia tra fase dispersa e fase continua.

Le emulsioni alimentari sono sistemi molto complessi (da finemente a grossolanamente dispersi). Se si ha una dispersione olio in acqua (O/W), il carattere dell'emulsione è dato dall'acqua, cioè dalla fase continua, come ad esempio il latte. In questo caso la fase dispersa è di natura lipidica e quella continua è costituita, invece, dall'acqua.

Le emulsioni acqua in olio (W/O) si comportano in maniera opposta a quella descritta, come ad esempio la margarina.

La concentrazione delle goccioline viene espressa come frazione massica o volumetrica e può essere calcolata mediante analisi centesimale, densità o composizione. Conoscendo già la densità delle diverse fasi, si passa da massa a volume e viceversa.

Le emulsioni sono, quindi, caratterizzate in funzione della concentrazione delle goccioline e delle loro dimensioni.

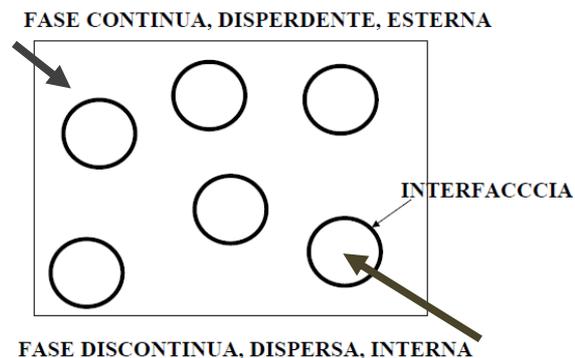
Le dimensioni delle goccioline, infatti, governano l'aspetto esterno e in base ad esse si parla di macro e microemulsioni.

Le microemulsioni sono caratterizzate da diametri delle goccioline inferiori a 0.5  $\mu\text{m}$ , otticamente trasparenti e termodinamicamente stabili. Le macroemulsioni, invece, presentano goccioline di dimensioni maggiori, fino ad un massimo di 100  $\mu\text{m}$  (Monduzzi *et al.*, 1999).

Le emulsioni con goccioline piccole sono più viscosi di quelle con goccioline grandi (Depree & Savage, 2001).

Le emulsioni sono, ulteriormente, differenziate in emulsioni monodisperse, se le goccioline della fase dispersa hanno tutte le stesse dimensioni, e in emulsioni polidisperse, in caso contrario. Le dimensioni delle particelle costituenti la fase dispersa sono di notevole importanza, perché queste influenzano numerose caratteristiche delle emulsioni alimentari, quali la *texture*, il *flavour*, la stabilità, la *shelf life*, i costi di produzione e tanti altri aspetti.

La struttura di un'emulsione può essere rappresentata da una fase dispersa, sottoforma di goccioline più o meno piccole, da una fase continua e da una regione d'interfaccia, come mostrato in figura 1.1.



**Fig. 1.1.** Rappresentazione grafica della fase continua, discontinua e della regione d'interfaccia dell'emulsione.

Le particelle presenti nell'emulsione si associano alla fase continua o a quella dispersa o si dispongono lungo la regione d'interfaccia. Ciò dipende dalla loro affinità per una delle tre regioni e, quindi, dalla loro concentrazione e polarità.

Le molecole non polari, tendono a disporsi nella fase lipidica, quelle polari nella fase acquosa, mentre le molecole anfipatiche si dispongono nella regione di interfaccia rivolgendo la porzione polare della molecola verso la fase acquosa e quella apolare verso la fase lipidica.

All'interfaccia dei due liquidi immiscibili, si sviluppa energia libera derivante dal non bilanciamento delle forze di coesione.

Questa energia è detta energia o tensione interfacciale e tende a formare la più piccola superficie specifica di interfaccia (Mc Clements, 1999).

Come detto in precedenza, l'emulsione si ottiene per mezzo di un'agitazione meccanica, in quanto è necessario fornire energia sottoponendo i liquidi ad agitazione violenta, così da imprimere sforzi di taglio (ma anche compressione, impatto e cavitazione) alle porzioni di fase interna per deformarle e suddividerle progressivamente.

Alla deformazione e rottura delle particelle della fase dispersa si oppongono le forze note come pressione di Laplace:

$$\Delta p = -\frac{2 \cdot \gamma}{R} \quad [1.1]$$

dove  $\Delta p$  rappresenta la pressione di Laplace (Pa),  $\gamma$  la tensione superficiale (N/m<sup>2</sup>) e  $R$ (m) rappresenta il diametro delle goccioline.

Per rompere le gocce della fase dispersa si deve quindi applicare un'energia che sviluppi un  $\Delta p$  maggiore della pressione di Laplace (Mc Clements, 1999). Più le gocce sono piccole, più aumenta  $\Delta p$  e più deve aumentare la forza applicata per ottenere un'ulteriore suddivisione delle gocce che costituiscono la fase dispersa.

È possibile ottenere un'emulsione attraverso l'omogeneizzazione oppure attraverso l'emulsione, operazione meno severa di quella precedente. Entrambe le operazioni portano alla riduzione delle dimensioni delle particelle (a 0.5-3  $\mu\text{m}$ ) della fase dispersa, mediante l'applicazione di intense forze di taglio, per accrescere l'intimità e la stabilità delle due sostanze; se si vuole ottenere un estremo grado di dispersione in un'emulsione sono utilizzati gli omogeneizzatori.

Queste operazioni unitarie hanno lo scopo di mutare la struttura e le proprietà sensoriali complessive degli alimenti, mentre non provocano nessun effetto sui valori nutrizionali o sulla *shelf life*.

Le apparecchiature utilizzate sono classificate in gruppi distinti di miscelatori ad alta velocità:

- 1) omogeneizzatori a pressione;
- 2) mulini colloidali;
- 3) omogeneizzatori ultrasonici.

L'ottenimento di una buona emulsione dipende da diversi fattori quali la temperatura che deve essere uguale nelle due fasi, la velocità di agitazione e il tempo di agitazione.

Le emulsioni sono intrinsecamente instabili perché la miscela tende a diminuire la propria energia diminuendo l'area di interfaccia.

In particolare, quelle preparate per semplice emulsione di due fasi liquide immiscibili, costituiscono un sistema molto instabile in quanto le goccioline della fase dispersa, in virtù della loro elevata energia di superficie, tendono a riunirsi (coalescere) e a diminuire di numero fino a formare una fase unica con la minima area superficiale di contatto.

Per impedire questo fenomeno e, quindi, per stabilizzare le emulsioni è necessario introdurre un terzo componente.

Questo potrà essere rappresentato da additivi, nello specifico emulsionanti, che attraverso la formazione di un film ricoprono la superficie delle gocce ed innalzano una barriera energetica che evita che le gocce della fase dispersa si aggregino, oppure da addensanti, additivi utilizzati per aumentare la viscosità della fase continua delle emulsioni e per migliorare la stabilità delle emulsioni, ritardando i movimenti delle goccioline.

Gli emulsionanti possono essere divisi in tensioattivi ionici e non ionici, essi comunque sono in grado di formare un film monomolecolare che circonda le goccioline della fase dispersa ed hanno sia un effetto sulla tensione interfacciale che un effetto barriera che impedisce la coalescenza. Oggi i più usati sono i tensioattivi non ionici.

Un buon agente emulsionante dovrebbe:

- 1) avere affinità per entrambe le fasi, cioè deve essere costituito da molecole anfifiliche, che possiedano regioni polari, idrofile, e non polari, lipofile;
- 2) possedere proprietà tensioattive in modo da ridurre la tensione interfacciale;
- 3) adsorbirsi facilmente e rapidamente alla superficie delle goccioline disperse formando un film in grado di impedire la coalescenza;
- 4) impartire alle goccioline una carica in modo da favorire repulsione elettrostatica;
- 5) agire efficacemente a basse concentrazioni.

Tali additivi sono caratterizzati da un valore numerico detto HBL (*hydro lipophilic balance*) che deriva dal rapporto tra porzione idrofila e porzione lipofila della molecola.

Il valore di HBL può variare da 1 a 40, in funzione di tale valore si stabilisce l'impiego dei diversi emulsionanti.

Gli emulsionanti attualmente usati nella produzione alimentare sono prodotti naturali purificati o sostanze chimiche sintetiche, che hanno strutture molto simili ai prodotti naturali.

Proprio come qualunque altro additivo alimentare, gli emulsionanti sono soggetti a rigorose legislazioni nella UE, che regolano la valutazione della loro sicurezza, le autorizzazioni, i modi di utilizzo e l'etichettatura (Direttiva 95/2/EC del Parlamento Europeo e del Consiglio del 20 febbraio 1995 sugli additivi alimentari diversi dai coloranti e edulcoranti).

Queste regolamentazioni prescrivono che tutti gli emulsionanti aggiunti, come tutti gli additivi alimentari, siano dichiarati sulla confezione con il loro nome o con il numero identificativo preceduto dalla lettera E.

I fattori che concorrono a stabilizzare le emulsioni sono:

- 1) agente emulsionante: come già detto, generalmente è un tensioattivo, che abbassando la tensione interfacciale diminuisce l'energia libera del sistema; in alternativa, si possono utilizzare anche sostanze non tensioattive, quali la gomma arabica, la gelatina, colloidi idrofili o polveri finemente suddivise (ad esempio talco).

Queste sostanze si distribuiscono all'interfaccia O/W formando una pellicola protettiva, più rigida di quella formata dai tensioattivi, che costituisce una barriera verso la coalescenza. Per contro, sostanze con forte affinità per l'acqua (come gli zuccheri) possono sottrarre acqua alle interfacce rompendo l'emulsione.

- 2) barriera all'interfaccia: la superficie definita dall'incontro tra la fase continua e le goccioline che costituiscono la fase discontinua, è elettrostaticamente carica indipendentemente dalla natura ionica o non ionica del tensioattivo. Infatti, la carica è dovuta o alla natura polare di una delle due fasi, o agli attriti (che generano una carica elettrostatica), o ancora all'adsorbimento di ioni presenti all'interno della soluzione (anche i tensioattivi si dispongono all'interfase per adsorbimento).

Risulta, quindi, evidente che le sostanze ionizzabili (come i sali) possono interferire con le cariche superficiali diminuendo le forze repulsive e facilitando la coalescenza.

- 3) viscosità del mezzo, velocità di sedimentazione o scrematura, dimensione delle particelle: questi fattori sono correlati tra loro mediante la legge di Stokes:

$$v = \frac{2R^2(d_e - d_i)g}{9\eta} \quad [1.2]$$

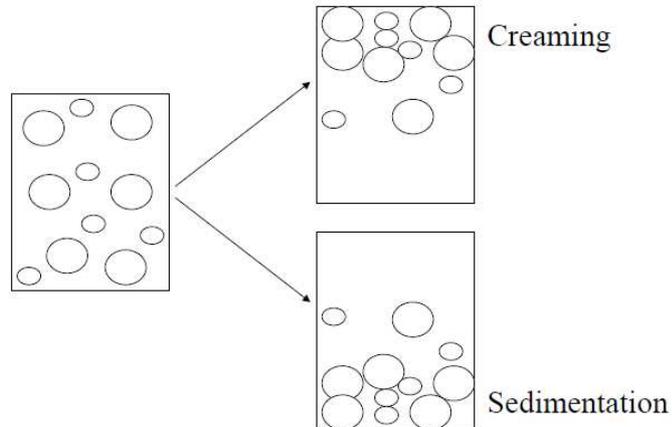
dove  $v$  rappresenta la velocità di sedimentazione,  $R$  il raggio delle particelle disperse,  $d_i$  la densità della fase interna,  $d_e$  la densità della fase esterna,  $g$  l'accelerazione di gravità,  $\eta$  la viscosità della fase continua.

Da questa legge si deduce che il sistema sarà tanto più stabile quanto più simile è la densità delle due fasi e quanto maggiore è la viscosità della fase continua; inoltre si cercherà di ridurre quanto più possibile le dimensioni delle particelle, ottimizzandone le dimensioni (con successive prove sperimentali) in funzione del tensioattivo impiegato che ne controlla la stabilità. La stabilità delle emulsioni non è termodinamica ma cinetica, ciò significa che nell'emulsione dopo un certo tempo, più o meno lungo, avviene la separazione delle fasi.

Le principali modificazioni che portano al decadimento dell'emulsione sono date principalmente dai fenomeni di *creaming* e sedimentazione, flocculazione, coalescenza e inversione di fase.

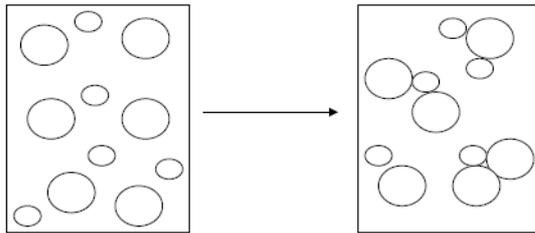
Il *creaming* o affioramento si verifica nel momento in cui le goccioline, avendo una bassa densità rispetto al liquido circostante, salgono in superficie.

La sedimentazione, al contrario, rappresenta la disposizione sul fondo di un certo numero di goccioline con densità più elevata.



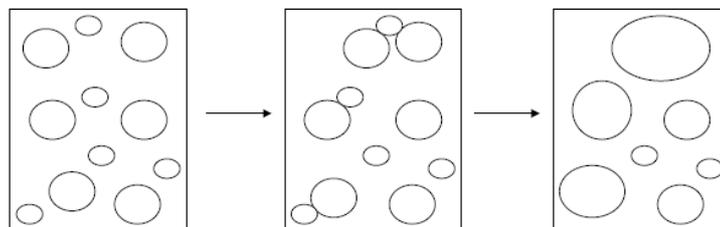
**Fig. 1.2.** Effetto della forza gravitazionale su fluidi di diversa densità affioramento e sedimentazione.

Si parla di flocculazione quando più particelle originarie formano un grappolo (il flocculo), grazie a legami interparticellari che interessano i rispettivi siti attivi, pur mantenendo la rispettiva identità (flocchi di proteine denaturate in seguito a trattamento termico della corrispondente soluzione colloidale). Le gocce sono attaccate tra loro, ma separate da una sottile pellicola di liquido.



**Fig. 1.3.** Effetto dell'energia di interazione tra le due particelle in funzione della distanza: flocculazione.

Si parla di coalescenza quando più particelle si fondono a formarne una di massa maggiore e non è più possibile riconoscere le particelle originarie (una goccia liquida che si forma da goccioline più piccole).



**Fig. 1.4.** Effetto dell'energia di interazione tra le due particelle in funzione della distanza: coalescenza.

Per inversione di fase si intende la conversione di un'emulsione olio in acqua in un'altra di tipo acqua in olio e viceversa.

Essa difficilmente avviene durante la conservazione, ma può avvenire in fase di emulsione e richiede elevate temperature.

In definitiva è possibile affermare che la stabilità di un'emulsione dipende da diversi e numerosi fattori, tra questi il grado di dispersione della fase interna (variabilità di diametro), la natura dell'interfaccia, viscosità della fase disperdente, rapporto fase/volume, peso specifico delle due fasi ed altri ancora.

#### **1.4. Alimenti funzionali**

Il principio promosso da Ippocrate quasi 2500 anni fa, secondo cui "il cibo è la medicina e la medicina è il cibo", sta ricevendo un rinnovato interesse. Negli ultimi anni il concetto di cibo ha subito una radicale trasformazione fino al punto da attribuire agli alimenti, oltre alle loro proprietà nutrizionali e sensoriali, anche un importante ruolo sul mantenimento della salute, sul benessere psico-fisico e sulla prevenzione di alcune patologie.

Sicuramente diversi sono i fattori che hanno contribuito a questa evoluzione e alla nuova interpretazione dell'alimentazione, certamente un contributo importante è derivato dalle numerose ricerche scientifiche che nell'ultimo decennio hanno evidenziato, con abbondanza di dati sperimentali, il legame stretto che esiste tra alimentazione e salute.

In particolare, vi è stata un'esplosione di interesse da parte dei consumatori nei confronti dei cosiddetti alimenti funzionali (Hasler, 1996).

Gli alimenti funzionali sono evidenze tangibili di questa metamorfosi che si sta verificando attorno agli alimenti. Nonostante le diverse interpretazioni sulla loro identità, agli alimenti funzionali si richiede di espletare un effetto benefico sulla salute umana, mantenere uno stato di benessere o di essere in grado di prevenire l'insorgenza di determinate patologie.

La valutazione della potenzialità salutistica e/o della prevenzione di una determinata patologia rappresenta certamente la fase più delicata e critica nella valorizzazione o nello sviluppo di questi prodotti.

Il termine "cibo funzionale" fu proposto a metà degli anni '80 in Giappone, a seguito dell'osservazione di un progressivo allungamento della vita media che, successivi studi, hanno attribuito a particolari effetti fisiologici svolti dall'alimentazione giapponese.

Oriente gli alimenti funzionali sono stati parte integrante della cultura per secoli. Fin dai tempi antichi, i cinesi avevano già compreso che i prodotti alimentari potevano avere effetti preventivi e/o terapeutici, visione che ora viene sempre più riconosciuta in tutto il mondo.

In Occidente, al contrario, gli alimenti funzionali sono visti, oggi, come una rivoluzione che porterà notevoli benefici alla salute e all'aspettativa di vita, oltre che all'invecchiamento.

Essi rappresentano un segmento in rapida crescita per le industrie alimentari. Tali industrie, oggi, sono in grado di commercializzare cibi che difendono il diritto alla salute, garantendo le proprietà

“nutraceutiche” degli stessi; esse sono anche in grado di “rafforzare” i cibi già esistenti con sostanze nutraceutiche e/o di creare nuovi cibi contenenti una o più sostanze nutraceutiche.

L'introduzione della produzione di alimenti funzionali per le aziende alimentari rappresenta una vera e propria innovazione ed un efficace strumento per la competitività aziendale, considerando anche il fatto che la domanda è in aumento e che ci sono rapidi progressi nel campo delle conoscenze scientifiche a sostegno del ruolo fondamentale della dieta nella salute e nella prevenzione delle malattie.

Il termine “cibo funzionale” che si vorrebbe attribuire in futuro, a molti alimenti da immettere sul mercato è però suscettibile di numerose interpretazioni sia per il significato letterale, che per la mancanza di una chiara legislazione. Infatti, a oggi, il Giappone è l'unico paese al mondo, ad aver formulato una specifica regolamentazione riguardo gli alimenti funzionali.

Infatti, una categoria di alimenti, meglio conosciuta come “*Foods for Specified Health Use*” (FOSHU), è stata ritenuta idonea a recare un marchio di approvazione da parte del ministero giapponese della Sanità e del *Welfare*.

Attualmente sono 100 i prodotti in licenza come FOSHU in Giappone. Nonostante diversi studi abbiano dimostrato un loro reale ed efficace ruolo nella prevenzione delle malattie, tuttavia, gli alimenti funzionali restano una categoria di alimenti non ancora riconosciuta legalmente. Attualmente nell'Unione Europea manca, infatti, una legislazione specifica su questa categoria di alimenti e sulla sua etichettatura. Dalle normative in vigore, gli alimenti funzionali o componenti funzionali, possono essere inseriti in una serie di categorie regolamentate, tra cui: additivi alimentari, integratori alimentari o gli alimenti dietetici per uso speciale. Queste categorie ricadono sotto la *Federal Food Drug e Cosmetic Act* (FDCA) del 1938 e sono controllate dalla FDA.

Tuttavia, molte organizzazioni hanno proposto diverse definizioni per questo nuovo tipo di alimenti.

Per l'istituto di Medicina “*Food and Nutrition Board*”, gli alimenti funzionali sono definiti come “qualsiasi prodotto o ingrediente alimentare, che possa fornire un beneficio di salute al di là delle tradizionali sostanze nutritive che contiene”.

Secondo la “*American Dietetic Association*”, si tratta di “alimenti che presentano una o più sostanze con funzioni fisiologiche e biochimiche che provocano un beneficio alla salute umana”.

Inoltre la FDA ha individuato, sulla base di studi scientifici accertati, quali sono gli alimenti sicuri ed i numerosi termini usati come sinonimo di “cibo funzionale” fra i quali:

- *Novel food*;
- Cibi speciali;
- Cibi o alimenti terapeutici;
- Cibi medici;
- Alimenti positivi;
- Alimenti naturali speciali;
- Nutraceutici (termine americano, coniato fondendo le parole “nutrizione” e “farmaceutico”, applicato a moltissimi alimenti con particolari e specifiche indicazioni terapeutiche);

- Toschu (che in giapponese significa: alimento specifico per la salute).

Il termine, in ogni caso, va generalmente attribuito a cibi naturali (quindi non sintetizzati in formulazioni di tipo farmaceutico) contenenti principi attivi naturali che possiedono concrete proprietà farmacodinamiche, oltre a documentate attività preventive e/o terapeutiche per determinate patologie” (Pinto e Cannella, 1998).

Da questa definizione sembrerebbe quindi che il termine “cibo funzionale” sia utilizzato solo per alimenti comunemente presenti sulle nostre tavole come i broccoli, i legumi, i vegetali, l’olio di oliva ed altri ancora, i quali contengono effettivamente principi attivi utili in particolari situazioni o nella prevenzione in senso lato.

A questa categoria, però, sappiamo che appartengono anche alimenti manipolati, per esempio il latte arricchito con omega-3 o geneticamente modificati come le uova a basso tenore di lipidi.

Possiamo, quindi, asserire che si tratta di “alimenti ai quali è stato aggiunto o tolto un componente o viene esaltata una determinata funzione fisiologica, oppure uno o più componenti sono stati modificati al fine di promuovere uno stato di salute e di benessere”.

Sono state individuate due categorie di alimenti funzionali:

- Tipo A: alimenti che migliorano una specifica funzione fisiologica al di là del loro specifico ruolo nella crescita corporea e nello sviluppo. Questo tipo di alimenti non ha funzioni in relazione a malattie o stati patologici. Esempio può essere il caffè, per il suo contenuto in caffeina che aumenta le capacità cognitive.
- Tipo B: alimenti che riducono il rischio di una malattia. Ad esempio il pomodoro, che grazie al suo contenuto in licopene può ridurre il rischio di tumori.

Di seguito sono riportati alcuni esempi di alimenti funzionali innovativi (Tab. 1.1.) e di componenti funzionali (Tab. 1.2.).

**Tab. 1.1.** Esempi di alimenti funzionali innovativi e dei relativi benefici che apportano all'organismo.

ALIMENTO	BENEFICIO FUNZIONALE
Latte fermentato e yogurt con colture probiotiche.	Miglioramento della flora microbica intestinale.
Margarina, yogurt, formaggio da spalmare a base di grassi vegetali.	Riduzione dell'assunzione di colesterolo.
Uova arricchite in acidi grassi essenziali omega-3.	Riduzione del rischio di infarto.
Cereali per la colazione arricchiti in acido folico.	Riduzione del rischio della nascita di bambini con spina bifida.
Pane, barrette di <i>Muessli</i> arricchiti in isoflavoni.	Riduzione del rischio di cancro e malattie cardiovascolari.

**Tab. 1.2.** Esempi di componenti funzionali, fonti di provenienza e dei potenziali benefici.

<b>CATEGORIA/COMPONENTI</b>	<b>FONTE</b>	<b>BENEFICIO POTENZIALE</b>
Beta-carotene	Carote, zucca, patata dolce, cantalupo.	Neutralizza i radicali liberi, che possono danneggiare le cellule; può essere trasformato in vitamina A dall'organismo.
Fibra alimentare	Crusca del frumento e dei cereali, pelli della frutta e legumi.	Può contribuire a mantenimento di un tratto digestivo sano; può ridurre il rischio di alcuni tipi di cancro.
Acidi grassi monoinsaturi	Olio di oliva.	Può ridurre il rischio di malattie coronariche (CHD).
Acidi grassi poli-insaturi Omega-3	Noci, semi di lino.	Può contribuire a mantenimento di salute del cuore e della funzione mentale e visiva.
Acidi grassi poli-insaturi Omega-3 DHA/EPA	Salmoni, tonno ed oli di pesce.	Può ridurre il rischio di CHD; può contribuire a mantenimento delle funzioni mentali e visive.
Magnesio	Spinaci, semi di zucca, pani interi e cereali, noci.	Può contribuire a mantenimento della funzione normale del nervo, del muscolo e delle ossa.
Inulina frutto-oligosaccaridi (fos)	Cipolle, aglio, miele, porri, alimenti fortificati e bevande.	Può migliorare la salute gastrointestinale e l'assorbimento del calcio.
B6	Noci, fagioli, carne, pesce.	Regolano attività metaboliche e favoriscono il mantenimento delle funzioni immunitarie e regolatorie.
Lievito, lattobacilli e bifidobatteri	Yogurt ed altre applicazioni non casearie coltivate.	Può migliorare la salute gastrointestinale e l'immunità sistemica.
Vitamina E	Semi di girasole, mandorle, noci.	Attività antiossidante.

Le prove scientifiche sugli alimenti funzionali e sui loro componenti fisiologicamente attivi, sono rappresentate da: studi clinici, studi su animali, sperimentazioni in vitro, studi di laboratorio, e studi epidemiologici.

Tutti dimostrano che tali cibi apportano reali benefici alla salute; crusca e avena, ricchi di fibre solubili, sono associati ad una ridotta incidenza di malattia coronaria; frutta e verdura con la riduzione del rischio di cancro o di malattie coronariche; proteine della soia pare che riducano il colesterolo e le malattie cardiovascolari.

In particolare, l'*American Heart Association Dietary Guidelines* consiglia una regolare assunzione di cibi arricchiti di acido eicosapentaenoico (EPA) e l'acido docosaesanoico (DHA) in grado di garantire una netta riduzione del rischio di malattia coronarica.

### **1.5. Acidi grassi essenziali**

Gli acidi grassi essenziali hanno dei ruoli funzionali molto importanti, essi controllano importanti fattori ormonali e biochimici.

Chimicamente sono costituiti da catene acide lineari, monocarboniose, di lunghezza variabile che contengono generalmente un numero pari di atomi di carbonio, sebbene acidi grassi a catena dispari siano presenti in natura.

Gli acidi grassi essenziali sono suddivisi in due classi,  $\omega$ -3 o n-3 ed  $\omega$ -6 o n-6, secondo la posizione del loro primo doppio legame nella porzione metilica della molecola.

Gli acidi grassi capostipite dei due gruppi sono l'acido  $\alpha$ -linolenico (18:3  $\omega$ -3) e l'acido linoleico (18:2  $\omega$ -6) entrambi di origine vegetale.

I microsomi epatici e cerebrali posseggono la capacità di allungare e desaturare ulteriormente gli acidi grassi capostipite forniti con la dieta, formando attraverso una serie alternata di desaturazioni ed allungamenti gli acidi grassi polinsaturi a catena lunga da cui si formano gli eicosanoidi e i mattoni costituenti le membrane cellulari e mitocondriali (Ciaccio, 2000; Ciaccio *et al.*, 2001).

L'acido linoleico e l'acido  $\alpha$ -linolenico, rispettivamente precursori degli acidi grassi  $\omega$ -6 ed  $\omega$ -3, sono acidi grassi essenziali, in quanto l'organismo umano non è in grado di sintetizzarli da altri acidi grassi, quindi è necessario introdurli per via esogena, mediante una dieta variata e bilanciata.

Gli acidi grassi  $\omega$ -6 ed  $\omega$ -3 sono componenti fondamentali delle membrane plasmatiche; inoltre, la loro trasformazione metabolica dà origine agli eicosanoidi, che sono importanti mediatori di numerose reazioni cellulari.

Prostaglandine, trombossani e leucotrieni derivano tutti dal metabolismo degli acidi grassi  $\omega$ -6 ed  $\omega$ -3 attraverso reazioni catalizzate dagli enzimi ciclossigenasi e lipossigenasi.

Una caratteristica fondamentale degli acidi grassi  $\omega$ -6 ed  $\omega$ -3 è il fatto che il loro metabolismo segue vie totalmente distinte, in quanto un acido grasso  $\omega$ -3 non può essere trasformato in un acido grasso  $\omega$ -6 e viceversa. Tuttavia, gli acidi grassi di entrambi i tipi possono essere allungati (aumento del numero di atomi di carbonio) e desaturati (aumento del numero di doppi legami) attraverso processi catalizzati dagli stessi enzimi.

Secondo la revisione del 1996 apportata ai LARN (Livelli di Assunzione Giornalieri Raccomandati), il rapporto ottimale tra acidi grassi polinsaturi a lunga catena  $\omega$ -3 /  $\omega$ -6 per svolgere in modo adeguato le loro funzioni è di circa 1:5, per tutte le età considerate.

Negli ultimi 100 anni questo rapporto ideale si è notevolmente sbilanciato a favore degli  $\omega$ -6 (circa 1:13) per ragioni diverse fra cui l'aumentato consumo di oli vegetali (mais, girasole, arachidi ricchi di  $\omega$ -6 come l'acido linoleico) per il controllo dell'aterosclerosi, il limitato consumo di pesce e la minor presenza di  $\omega$ -3 nel pesce di allevamento rispetto a quello pescato che si nutre di fitoplancton, le minime quantità di acido linolenico nelle carni provenienti dai bovini domestici che sono alimentati con prodotti molto poveri di acidi grassi  $\omega$ -3, la produzione di vegetali a foglia verde contenenti acidi grassi  $\omega$ -3 in misura minore.

Una diminuzione di acidi grassi  $\omega$ -6 comporta lesioni della cute, anemia, aumento dell'aggregazione piastrinica, trombocitopenia, steatosi epatica, ritardata cicatrizzazione delle ferite, un'aumentata suscettibilità alle infezioni, diarrea e ritardo di crescita nell'età evolutiva.

Dalle più recenti acquisizioni e studi scientifici, condotti su questo argomento, è possibile sostenere che, tra gli effetti protettivi degli omega 3 e 6, i più rilevanti sono sicuramente:

- azione antiaggregante piastrinica (effetto antitrombotico), cioè ridurrebbero la possibile formazione di coaguli nel sangue e quindi porterebbero ad una maggiore irrorazione di tutti gli organi si ripercuote favorevolmente su tutto l'organismo;
- controllo del livello plasmatico dei lipidi, soprattutto dei trigliceridi;
- controllo della pressione arteriosa, mantenendo fluide le membrane delle cellule, e dando elasticità alle pareti arteriose;
- prevengono l'infarto del miocardio e sono utili nel post infarto;
- normalizzano il metabolismo lipidico nel diabete e la riduzione della quantità di insulina;
- sembrano utili nella cura di disturbi mentali, schizofrenia, depressione;
- prevengono l'essiccamento e l'atrofia delle ghiandole lacrimali e salivari;
- migliorano la cute, i capelli e le unghie;
- determinano un rallentamento o blocco della degenerazione nella sclerosi multipla;
- determinano una soppressione delle cellule tumorali in coltura senza danno alle cellule normali;
- sono indispensabili, associati allo zinco, alla crescita e a un normale sviluppo corporeo.

Quindi, risulta chiaro che l'apporto di acidi grassi essenziali, omega 3 e 6, è indispensabile per mantenere inalterato lo stato di salute di ogni individuo. Per tale motivo è necessario introdurre con la dieta alimenti ricchi di tali acidi grassi, e meglio ancora alimenti che contengano tali acidi grassi nel rapporto ottimale ( $\omega$ -3/ $\omega$ -6 - 1:5) affinché esplicino le loro funzioni fisiologiche.

Numerosi sono gli alimenti che contengono naturalmente queste sostanze. Gli acidi grassi omega 3 sono maggiormente presenti nei grassi animali, infatti, si trova nei pesci grassi, come il salmone e nell'olio di fegato di merluzzo; gli omega 6 sono maggiormente presenti nei grassi vegetali ed in

particolare nell'olio di lino e nell'olio di noce entrambi ottenuti da spremitura a freddo, nell'olio di mais, di soia, di girasole, di cartamo e di colza.

L'uso di alimenti arricchiti in omega 3 permette tra l'altro di elevare selettivamente il rapporto omega 3/omega 6 nella dieta, la FAO/WHO (1994) raccomanda un rapporto di acidi grassi omega 3: omega 6 di 1:5. Tra tutti gli alimenti sopra citati la noce e l'olio ottenuto dalla sua spremitura a freddo contengono entrambi gli acidi grassi essenziali, omega 3 e 6 in rapporto circa 1:5.

### 1.6. Cenni di reologia

Secondo la definizione fornita da Bingham nel 1929, le reologia è la scienza che studia e descrive le condizioni di flusso e di deformazione che un campo di forze applicate produce in un materiale e, quando si tratta di un liquido, del suo scorrimento.

Materiali semplici, come fluidi a basso peso molecolare, sospensioni e soluzioni polimeriche diluite o anche solidi in condizioni di piccola deformazione, presentano un comportamento lineare in relazione alla forza applicata, mentre molti materiali d'interesse industriale, come sospensioni concentrate di particelle di diverse dimensioni e forma, emulsioni, gel di polimeri, manifestano apprezzabili caratteristiche non lineari.

La reologia tende a chiarire le caratteristiche ed i processi strutturali che presiedono al comportamento dei materiali in condizioni di larga deformazione o di flusso oppure in condizioni di piccole deformazioni, prossime a quelle statiche; la teoria della viscoelasticità lineare costituisce il fondamento necessario per la comprensione del comportamento reologico e meccanico dei materiali polimerici e dei fluidi in generale.

Tenendo conto che la maggior parte dei prodotti che utilizziamo devono presentare caratteristiche adeguate a tutte le fasi del processo produttivo, attraverso il quale giungono al consumatore, e che nell'industria alimentare, cosmetica o farmaceutica, si presentano problemi reologici non trascurabili (ad esempio una crema deve poter essere spalmata facilmente, ma non deve essere talmente liquida da colare) è possibile dedurre come il campo d'applicazione degli studi reologici sia vastissimo, poiché ogni materiale, soggetto a sforzi di varia natura, risponde con un comportamento diverso.

Possiamo quindi valutare i materiali e nel caso specifico, gli alimenti, oggetto di studio, sottoponendoli ad una deformazione o ad un flusso.

Nel caso in cui il materiale sia un fluido, in base al comportamento assunto quando è sottoposto ad un flusso di scorrimento, possiamo individuarne la classe d'appartenenza ossia:

- fluidi newtoniani: per i quali gli sforzi sono direttamente proporzionali alla velocità di deformazione; la loro viscosità, ad una determinata temperatura, è una caratteristica costante, indipendentemente dalla velocità di deformazione.

L'equazione costitutiva che definisce tali fluidi è:

$$\tau = \eta \dot{\gamma} \quad [1.3]$$

dove  $\tau$  è lo sforzo tangenziale,  $\dot{\gamma}$  la velocità di deformazione e  $\eta$  e la viscosità.

- fluidi non-newtoniani: dove lo sforzo non è direttamente proporzionale alla velocità di deformazione.

Una tra le tante equazioni costitutive generali per descrivere il comportamento dei fluidi non newtoniani è data dal modello di Herschel-Bulkley:

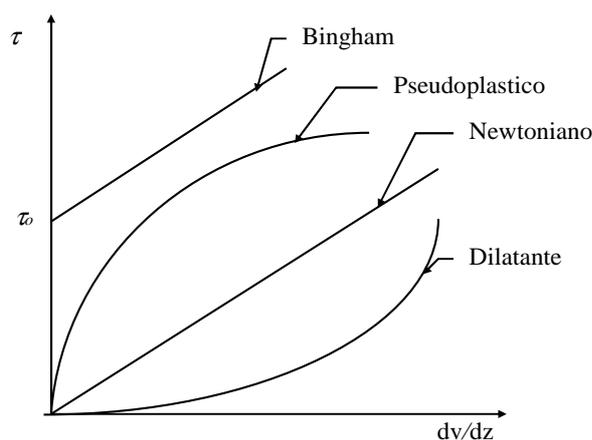
$$\tau = \tau_0 + K\left(\frac{dv}{dz}\right)^n = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad [1.4]$$

dove  $k$  rappresenta la consistenza del fluido,  $n$  è l'indice di flusso o indice del comportamento non newtoniano (quanto più  $n$  si discosta da 1, tanto più il comportamento del fluido si discosta

da quello newtoniano), mentre  $\tau_0$  è il valore della soglia di scorrimento o yield stress, ossia il valore dello sforzo che bisogna superare affinché possa aver luogo lo scorrimento del fluido.

I fluidi non Newtoniani, sono fluidi con comportamento reologico più complesso; essi si dividono a loro volta, in tre classi (Fig. 1.5.):

- Fluidi le cui caratteristiche reologiche sono indipendenti dal tempo: fluidi plastici alla Bingham, fluidi pseudoplastici e fluidi dilatanti.
- Fluidi per i quali il legame tra sforzo e deformazione dipende dalla durata dello sforzo o della deformazione, oppure dalla precedente storia: fluidi tixotropici e reopectici.
- Fluidi che possiedono alcune caratteristiche di solidi e che in generale mostrano una parziale reversibilità delle deformazioni: fluidi viscoelastici.



**Fig. 1.5.** Comportamento reologico di fluidi newtoniani e non newtoniani.

Per i fluidi viscoelastici, si osserva che la deformazione impressa varia con il tempo, ma non linearmente, ed essa può essere parzialmente o totalmente recuperata nel tempo.

Il lavoro di deformazione è in parte dissipato ed in parte conservato elasticamente.

In conclusione quindi, emerge che per tali fluidi, non sembra più possibile definire in modo univoco i coefficienti di proporzionalità fra sforzo e deformazione; infatti, il loro valore dipende dal tempo di osservazione.

Il comportamento osservabile dipende dalla storia meccanica, esso, infatti, è differente a seconda che si imponga una forza costante (esperimento di Creep) o una deformazione costante (esperimento di rilassamento) (Brukner *et al.*, 2001).

Su questi fluidi possono essere effettuati diversi tipi di test dinamico-meccanici.

Le prove reologiche *strain sweep test* permettono di osservare lo stato degli sforzi interni del materiale in esame, tali prove preliminari sono effettuate per conoscere il campo di visco-elasticità lineare del campione, cioè il campo di deformazione entro il quale, lo sforzo varia linearmente col variare della deformazione applicata.

Il materiale in analisi è sottoposto ad una deformazione di piccola ampiezza e variabile nel tempo con la seguente legge di tipo sinusoidale:

$$\gamma = \gamma_0 \sin(\omega t) \quad [1.5]$$

dove  $\gamma_0$  è l'ampiezza di deformazione e  $\omega$  la frequenza dell'oscillazione.

Il comportamento viscoelastico degli alimenti semi-solidi può essere descritto dai moduli  $G'$  e  $G''$  riferiti al modulo complesso  $G^*$ .

$$G' = |G^*| \cos \delta \quad [1.6]$$

$$G'' = |G^*| \sin \delta \quad [1.7]$$

Dove  $G'$  è il modulo conservativo o elastico ed indica l'energia che il materiale recupera ad ogni ciclo di deformazione, invece  $G''$  è detto modulo dissipativo e rappresenta l'energia dissipata ad ogni ciclo di deformazione. Il rapporto tra  $G''$  e  $G'$  è proprio uguale alla tangente dell'angolo di sfasamento e misura il contributo relativo dei due moduli.

$$\tan \delta = G''/G' \quad [1.8]$$

Mentre il valore del modulo complesso è dato dalla seguente relazione:

$$G^* = [(G')^2 + (G'')^2]^{1/2} \quad [1.9]$$

Il secondo test reologico dinamico-meccanico effettuato è il *frequency sweep test*. Tale test è condotto applicando al campione una deformazione oscillante, caratterizzata da un'ampiezza costante e

appartenente al campo di viscoelasticità lineare, in un determinato intervallo di frequenze di oscillazione.

Attraverso tale test è possibile monitorare la viscosità complessa  $\eta^*$ , ma anche il modulo elastico  $G'$  ed il modulo dissipativo  $G''$ .

### **1.7. Analisi microscopica**

L'uomo grazie al solo ausilio degli occhi è in grado di osservare in maniera grossolana la struttura degli alimenti, ma per avere una visione dettagliata dell'organizzazione a livello microscopico della struttura osservata non può fare a meno dell'uso di un microscopio.

La microscopia a scansione elettronica (SEM), nella seconda metà degli anni '60, fu un utile strumento per effettuare studi su prodotti alimentari. Tale tipo di microscopia permise di ottenere immagini tridimensionali con un'eccellente definizione della superficie osservata, con una possibilità di effettuare ingrandimenti superiori di ben cinquecento volte rispetto a quelli di un microscopio luminoso.

La preparazione dei campioni è molto facile, e presenta meno artefatti, poiché non è necessario effettuare dei tagli in sezioni del prodotto per poterlo analizzare.

Mediante questa tecnica è possibile studiare, sia la struttura superficiale che quella interna (dipende dalla tecnica di preparazione utilizzata per la preparazione del campione). È possibile usare un ampio *range* di ingrandimento ( $\approx 20-100.000X$ ). Lo svantaggio è che per fare in modo che la gran parte della superficie del campione risulti osservabile è necessario effettuare una disidratazione totale. Nonostante ciò il SEM è un importante strumento per ingrandire ed esaminare gli alimenti.

Il primo vantaggio di utilizzare un fascio di elettroni è che hanno una lunghezza d'onda più corta e quindi potenzialmente una capacità di risoluzione maggiore del microscopio ottico. Oltre alle caratteristiche su esposte, il SEM ed il microscopio a luce hanno un funzionamento simile, in quanto ambedue prevedono fasci di elettroni generati dal riscaldamento di un filo di tungsteno e lenti (in questo caso elettromagnetiche) usate per far sì che il fascio luminoso colpisca il campione oggetto d'analisi per generare la formazione dell'immagine, la quale una volta visualizzata può essere registrata fotograficamente. Il fascio di elettroni prima di colpire il campione deve effettuare una certa traiettoria e durante il percorso è accelerato attraverso l'applicazione di un alto voltaggio, gli interstizi del campione devono essere evacuati in modo che i singoli elettroni evitino collisioni con molecole di gas.

Nella microscopia a scansione elettronica, sono disponibili tre tipi di sorgenti di elettroni e cioè: il tradizionale filamento a forcina di tungsteno, di hexaboride del lantanio (prodotto chimico inorganico, materiale di ceramica refrattario) e campi a emissioni catodiche. Benché essi siano basati su principi fisici differenti, sono comunque progettati in modo da dar luogo a fasci di elettroni stabili. Le ultime due sorgenti sono caratterizzate da una migliore luminosità e una bassa diffusione d'energia, che fanno ottenere una risoluzione migliore. Comunque il filamento di tungsteno è ancora il più comunemente usato data il suo basso costo e semplicità d'uso.

Per la microscopia a scansione elettronica con filamento di tungsteno il funzionamento è il seguente: quando il filamento di tungsteno è attraversato da corrente elettrica trasmette elettroni. Perché il filamento è riscaldato, è chiamato *spruzzatore a catodo-caldo*. Gli elettroni generati sono attratti dall'anodo attraverso una differenza di voltaggio chiamata, voltaggio d'accelerazione. L'accelerazione del voltaggio determina l'energia e la lunghezza d'onda degli elettroni così che essi passano attraverso la colonna; il *range* del voltaggio è tra 5-30 kV.

Il raggio di elettroni passato attraverso la colonna, è focalizzato prima dalla lente condensatrice e poi dalla lente obiettivo, in modo da dar luogo ad un cono quando colpisce il campione. La distanza di lavoro (WD) è la distanza tra la lente obiettivo e il campione. La maggior parte delle microscopie elettroniche si svolge ad una WD in un *range* di 10-40mm.

Nella microscopia a scansione elettronica, il fascio di elettroni attraversa la colonna e converge obliquamente sulla superficie del campione. Il grado di inclinazione è definito dalla pendenza.

Il fascio di elettroni poi scannerizza la superficie ripetutamente su un supporto di una struttura rettangolare e rilascia elettroni secondari.

L'intensità con la quale il fascio di elettroni primari penetra nella superficie e rilascia elettroni secondari è funzione del voltaggio d'accelerazione e della densità del campione. Gli elettroni secondari sono raccolti in un collettore, convogliati ad un amplificatore, digitalizzati, e poi passati sullo schermo di un tubo a raggio catodico, dove il rettangolo del fascio di elettroni è riprodotto e si forma un'immagine ingrandita che rappresenta la fotografia del campione (Aguilera & Stanley, 1999). Le proprietà di *texture* sono determinate in base a come sono uniti i singoli elementi e dagli interstizi che si creano tra gli stessi.

L'enorme differenza di grandezza tra particelle e interstizi è necessaria per ottenere diversi ingrandimenti durante la fase di analisi (Langton, Astrom & Hemerson, 1996).

### **1.8. Analisi gas-cromatografica**

Con il termine "cromatografia" s'intende un processo chimico-fisico che permette di separare le molecole di una miscela.

Il principio base della cromatografia è l'equilibrio chimico-fisico che si stabilisce quando una sostanza è distribuita tra due fasi. Tale sostanza migra in una fase stazionaria per effetto del trascinamento dovuto alla fase mobile in tempi diversi, secondo la sua maggiore o minore interazione con una delle due fasi. Sostanze distribuite principalmente nella fase stazionaria si muovono lentamente. Perciò, grazie alla differente velocità di eluizione, è possibile separare ed eventualmente identificare i componenti chimici di una miscela. Quando la fase stazionaria è composta da particelle porose impaccate in un tubo, detto colonna, la fase mobile, o eluente, fluisce negli spazi tra le particelle. La capacità del materiale impaccato di ritenere e separare i componenti di una miscela è determinata dai suoi gruppi funzionali, legati chimicamente alla superficie di un supporto che è generalmente di silice. Il soluto forma con essi legami idrogeno, interazioni dipolo-dipolo o elettrostatiche. Le bande di soluto diffondono e si separano durante il loro passaggio attraverso la colonna. Quando una banda esce dalla colonna il suo profilo di

concentrazione, chiamato picco, è registrato; una serie di picchi di un campione è chiamato cromatogramma. L'integrazione dell'area sottesa alla curva del picco fornisce informazioni sulla quantità di sostanza eluita. Tale area, infatti, è proporzionale alla concentrazione del composto e in ogni caso dipendente dal tipo di rilevatore utilizzato. La quantificazione di una sostanza viene effettuata confrontando i picchi ottenuti contro una retta di taratura ricavata dall'analisi di soluzioni della medesima sostanza a concentrazioni note.

Una separazione o estrazione è definita liquido-liquido quando un soluto si distribuisce tra due solventi immiscibili, instaurando un equilibrio tra le due fasi.

Una separazione è definita solido-liquido quando un soluto si distribuisce tra un liquido e una fase solida. Questo è il tipo di separazione sfruttata in cromatografia liquida (LC).

Similmente i vapori stabiliscono un equilibrio tra gas e fase solida (gas cromatografia, GC), o tra gas e fase liquida (cromatografia liquido-gas, GLC).

Quindi, nella gascromatografia la fase stazionaria è rappresentata da un liquido altobollente (GLC, cromatografia liquido-gas), o da un solido (GSC, cromatografia solido-gas); sulla superficie della fase stazionaria eluisce la fase mobile gassosa. La risoluzione dei picchi di un cromatogramma dipende da parametri analitici quali: l'efficienza, la selettività e la risoluzione.

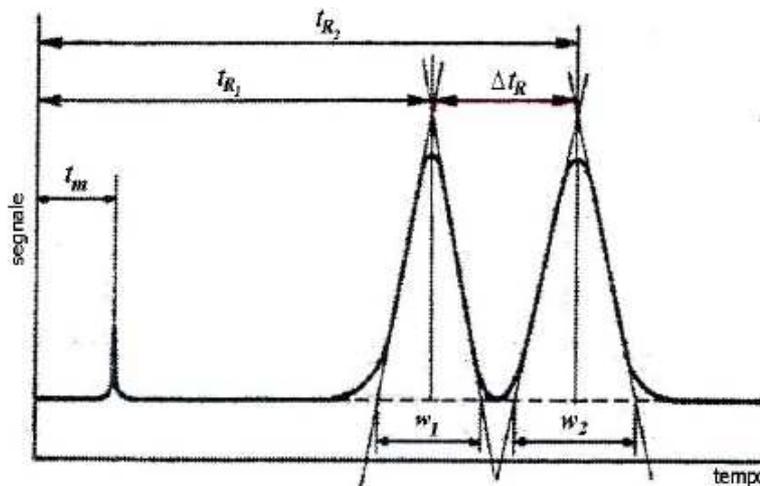
L'efficienza è un parametro legato alla dimensione della banda cromatografica della sostanza eluita ed è inversamente proporzionale alla sua ampiezza: più stretto e affilato è il picco, maggiore è l'efficienza. La selettività, invece, è la capacità di un sistema cromatografico di separare specie chimiche differenti, che eluiscono in tempi e a velocità diversi, in funzione della natura della fase stazionaria. Lo scopo è di ottenere picchi che rappresentino un unico composto.

La selettività dipende da forze chimico-fisiche d'interazione dei soluti con la fase stazionaria e dalla loro migrazione differenziale. Una colonna è tanto più selettiva nei confronti di due soluti quanto maggiore è la loro migrazione differenziale, ossia quanto maggiore è la differenza di energia con cui i due soluti sono trattenuti dalla colonna, poiché la selettività dipende dalle forze chimico-fisiche attraverso le quali un soluto interagisce con la fase stazionaria.

La risoluzione è determinata in base ai tempi di ritenzione degli analiti ( $t_R$ ) e alle ampiezze dei picchi ( $w$ ), come risulta dalla equazione 1.10:

$$R = 2 t_m [t_{R1} - t_{R2}] / w_1 + w_2 \quad [1.10]$$

dove:  $t_m$  è il tempo morto, ovvero il tempo di migrazione di un analita che non interagisce con la fase stazionaria;  $t_{R1}$  e  $t_{R2}$  sono, rispettivamente, i tempi di ritenzione degli analiti 1 e 2;  $w_1$  e  $w_2$  rappresentano le ampiezze dei picchi come riportato in fig. 1.6.



**Fig. 1.6** Risoluzione di un cromatogramma.

Lo strumento è costituito da:

- un sistema di iniezione posto a un'estremità della colonna
- una colonna cromatografica
- un rivelatore o detector posto all'altra estremità della colonna
- un forno per termostatare la colonna.

Il campione da analizzare è introdotto nella colonna tramite l'iniettore ed è trasportato attraverso il sistema da un gas inerte (ad esempio: idrogeno, azoto o elio). I differenti componenti della miscela eluiscono in tempi diversi, in base alle interazioni con la fase stazionaria; esiste una proporzionalità diretta tra il grado di interazione e il tempo di eluizione. Laddove il componente manifesti affinità elevata per la fase stazionaria, il tempo di eluizione sarà maggiore e viceversa. Alla eluizione delle molecole segue l'identificazione ottenuta tramite il rivelatore.

L'analisi gascromatografica è applicabile alle sostanze con volatilità medio-alta, poiché il sistema di trasporto è gassoso.

L'iniettore deve consentire l'ingresso di minime quantità di campione (nell'ordine dei nanolitri), che ricalchino la composizione della miscela di partenza.

I sistemi di iniezione più utilizzati sono:

- **SPLIT/SPLITLESS**: il sistema di iniezione più adottato è lo *split*, che tramite un meccanismo di selezione (lo *splitter*) invia in colonna solo una piccola frazione del campione iniettato. Lo *splitter* è costituito da una camera di iniezione termostata a elevata temperatura in cui il campione evapora rapidamente e si miscela col gas di trasporto. L'iniezione in modalità splitless si effettua chiudendo la valvola di split, ovvero facendo entrare in colonna quasi tutto il campione iniettato. Dopo circa un minuto la valvola di split si riapre in modo che la sensibilità nei confronti del campione iniettato aumenti.
- **ON COLUMN**: è un sistema di iniezione a freddo che permette di effettuare l'iniezione direttamente in colonna senza preventiva vaporizzazione del campione. Durante l'iniezione l'ago entra nella colonna,

chiude la colonna stessa evitando l'uscita di parte delle molecole, vi deposita il campione subendo l'azione del sistema di raffreddamento, che mantiene la temperatura della colonna al di sotto del punto di ebollizione del solvente, onde evitarne l'evaporazione.

Successivamente si ha l'innalzamento rapido della temperatura della camera del forno, che provoca un'evaporazione selettiva del solvente: per primo evapora il solvente, i soluti si concentrano nella parte restante di solvente, evaporata la quale iniziano la corsa cromatografica. Tra i vantaggi di questo metodo risulta importante la possibilità di analizzare sostanze termolabili, che nella camera dell'iniettore split subirebbero una degradazione termica; inoltre il volume del campione iniettato è più preciso, in quanto il solvente non vaporizza e l'ago della siringa non si svuota, fenomeno che, invece, si verifica nell'iniezione a caldo.

Le colonne gascromatografiche sono di due tipi:

1) impaccate, la cui fase stazionaria è rappresentata da un supporto solido costituito da polimeri inerti (per esempio polietilenglicole o silossani) ad alta superficie specifica, al quale può essere adsorbito un sottile strato di liquido. Le colonne sono in acciaio, nichel o vetro, con diametro interno compreso tra 3 e 6 mm e lunghezza da 1 a 5 metri. Oggi il loro utilizzo è poco diffuso e spesso limitato alle separazioni preparative.

2) capillari, con lunghezza compresa tra 5 e 50 m (in alcuni casi anche 100 m), con un diametro interno tra 0,2 e 0,5 mm; possono essere di metallo, ma le più utilizzate sono di vetro o silice fusa. La fase stazionaria riveste, in un film sottile (spessore tra 0,1 e 1  $\mu\text{m}$ ), la superficie interna della colonna. Il loro potere separativo è notevolmente superiore rispetto a quello delle colonne impaccate.

Le colonne capillari OTC (open tubular column), sono di più ampia applicazione, costituite da lunghi tubi capillari in silice fusa o vetro che possono essere lunghi fino a 100 m con diametro interno dell'ordine dei nanometri. Generalmente la silice ha un rivestimento esterno in poliimmide, in grado di resistere a temperature fino a 350°C. Tale rivestimento ha la funzione di supporto strutturale e protezione dall'umidità atmosferica e aumenta la flessibilità della colonna. All'interno di questi capillari, adesa alla parete, si trova la fase stazionaria, in base alla quale si distinguono tre categorie di colonne:

- WCOT (wall coated open tubular), con fase stazionaria liquida,
- SCOT (support coated open tubular), con fase stazionaria liquida adesa a un supporto solido,
- PLOT (porus-layer coated open tubular), in cui la fase stazionaria è solida.

La pressione per unità di lunghezza in una colonna aperta è di parecchi ordini di grandezza superiore a quella esercitata in una colonna impaccata. Questo accorgimento permette un utilizzo di pressioni più basse, con conseguente miglioramento della separazione.

La funzione del rivelatore è quella di tradurre istantaneamente il rilevamento dell'eluato in un segnale elettrico, che viene trasmesso ad un sistema di integrazione.

Si può fare una distinzione tra:

- **FID** (*Flame Ionization Detector*, fig. 1.7) sfrutta una fiamma alimentata da combustione di idrogeno e aria; la fiamma è immersa in un campo elettrico con differenza di potenziale di 300 V. Il campo elettrico è responsabile della ionizzazione delle molecole che fuoriescono dalla colonna cromatografica; gli ioni

formati si raccolgono sull'elettrodo producendo un segnale elettrico. Questo sistema è estremamente sensibile, ma ha lo svantaggio di distruggere il campione e di non essere selettivo.

I cambiamenti nella corrente all'interno della fiamma sono misurati e trasmessi al computer e sono visualizzati come picchi sul cromatogramma. Tranne che per pochi composti organici (ad esempio monossido di carbonio) il *detector* a ionizzazione di fiamma rileva tutti i composti contenenti atomi di carbonio fino al livello del nanogrammo.

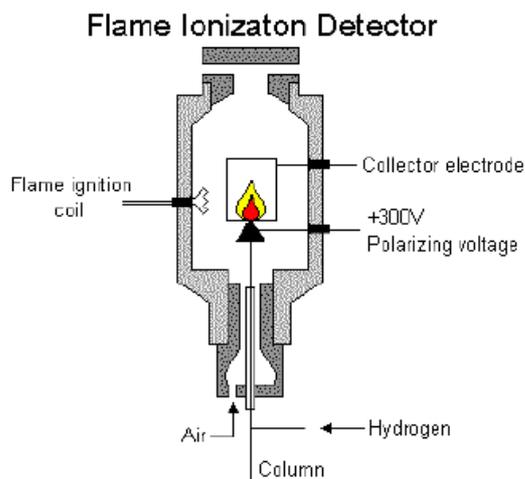


Fig. 1.7 Rilevatore a ionizzazione di fiamma (FID).

- **TCD** (*Thermal Conductivity Detector*) non risulta molto sensibile, rispetto agli altri rivelatori, ma ha il vantaggio di essere non specifico e non distruttivo.
- **ECD** (*Electron Capture Detector*) sfrutta una fonte di elettroni in grado di ionizzare parte del gas di trasporto, generando una corrente tra due elettrodi; le molecole organiche che contengono gruppi elettronegativi (come gli alogeni, il fosforo, i nitro-gruppi) catturano gli elettroni provocando la diminuzione dell'intensità di corrente misurata dagli elettrodi.
- **FPD** (*Flame Photometric Detector*) è utilizzato per la determinazione di sostanze contenenti zolfo e fosforo e sfrutta le reazioni di chemiluminescenza che hanno luogo quando le sostanze contenenti zolfo e fosforo interagiscono con una fiamma di idrogeno e aria.
  - **NPD** (*Nitrogen-Phosphorus Detector*) è specifico per sostanze contenenti fosforo e azoto; la fiamma del FID è sostituita da una piccola sfera di silicato di rubidio riscaldata che emette ioni al passaggio di sostanze contenenti fosforo e azoto. Gli ioni raccolti in un collettore producono quindi una corrente elettrica.

### 1.9. Analisi sensoriale: Q.D.A., Focus Group e Consumer Science

La qualità percepita di un prodotto alimentare gioca un ruolo determinante nel conseguimento del favore dei consumatori e, quindi, nel suo auspicabile successo commerciale. E' per questo che sempre

più diffusa ed avvertita è la necessità di studiare e definire le proprietà sensoriali degli alimenti secondo un approccio scientifico ed oggettivo.

L'analisi sensoriale può essere intesa come la scienza impiegata per "evocare, descrivere, misurare ed interpretare le reazioni agli stimoli, cui gli alimenti danno luogo, così come sono percepiti dai sensi del gusto, dell'olfatto, della vista e del tatto" (IFT, 1975).

Questa, rappresenta una risposta adeguata ed affidabile alla necessità di verificare e, quindi, di migliorare la qualità dei prodotti alimentari. Infatti, è in grado di fornire contributi rilevanti nello sviluppo di nuove proposte, nelle scelte delle formulazioni, nell'individuazione dei difetti e, in generale, nella soluzione dei problemi che possono presentarsi.

Affinché l'analisi sensoriale possa essere considerata una disciplina scientifica risulta indispensabile selezionare e addestrare un gruppo di soggetti idonei a far parte di una giuria di assaggiatori, scegliere il metodo sensoriale più rispondente alle esigenze di analisi, eseguirlo correttamente ed elaborare statisticamente i dati.

Nella valutazione sensoriale delle caratteristiche degli alimenti si utilizzano metodologie differenti in funzione delle informazioni che si vogliono ottenere, quindi per poter acquisire dati corretti, è necessario avere chiari i problemi e gli obiettivi che si vogliono raggiungere.

Uno dei metodi di cui si avvale l'analisi sensoriale è l'Analisi Descrittiva Quantitativa (QDA).

Essa, è stata sviluppata intorno agli anni '70 per descrivere con precisione ed in termini numerici, le caratteristiche organolettiche globali di un prodotto alimentare.

Con questo metodo, utilizzando un panel addestrato, vengono valutate singolarmente tutte le caratteristiche organolettiche di un prodotto, importanti ai fini della qualità; il risultato finale di questa analisi è rappresentata da un grafico a forma di tela di ragno.

Il metodo QDA consiste nel valutare le caratteristiche sensoriali di un prodotto, utilizzando scale grafiche ed intervalli, solitamente non strutturate.

Per visualizzare i risultati, le scale sono riportate su un piano, disponendole a raggiera e facendole partire tutte dallo stesso punto.

Su ciascun asse è riportato il valore medio assunto da quel parametro in base ai giudizi espressi dal panel, unendo con una spezzata i valori medi di tutti gli assi si ottiene un "poligono" che rappresenta visivamente il profilo delle caratteristiche organolettiche del prodotto analizzato (Pompei & Lucisano, 1991).

Quindi, l'Analisi Descrittiva Quantitativa è utilizzata quando si intendono confrontare le proprietà sensoriali di alimenti simili tra loro, attraverso la determinazione dei profili sensoriali.

È utile per diversi motivi:

- 1) consente la valutazione di tutte le caratteristiche sensoriali di un prodotto (apparenza, aroma, gusto, ecc.) importanti ai fini della valutazione di qualità del prodotto stesso;
- 2) può essere impiegata su un'ampia gamma di prodotti (ingredienti, fragranze, prodotti finiti, cosmetici, ecc.);
- 3) è ragionevolmente rapida;

4) semplice rappresentazione dei risultati ottenuti (profili a “tela di ragno”);

5) occorre disporre di un lessico di semplice sviluppo.

Questo tipo di analisi è eseguita da un gruppo di giudici addestrati, che effettua le rilevazioni in sale appositamente progettate per l'analisi sensoriale.

Per quanto riguarda l'attendibilità dei dati ottenuti dall'analisi sensoriale, è da tener presente che la percezione attraverso i sensi può essere fortemente influenzata da fattori ambientali e psicologici, che appunto potrebbero rendere le valutazioni sensoriali fortemente soggettive e di conseguenza i dati ottenuti non perfettamente riproducibili.

Per questo è necessario che l'analisi sensoriale sia svolta in condizioni controllate e soprattutto affinché i dati siano riproducibili è indispensabile che il panel sia opportunamente addestrato.

La fase di addestramento richiede, generalmente 2/3 sedute, durante le quali ogni giudice registra, su una scala di valutazione lineare non strutturata, l'intensità percepita.

Con l'addestramento, è possibile far sviluppare e far migliorare l'abilità dei panelisti a riconoscere, descrivere e rilevare gli attributi sensoriali percepiti, consumando i prodotti; inoltre, affinché le valutazioni sensoriali risultino indipendenti dalle opinioni personali dei panelisti, durante la fase di addestramento è necessario accordarsi sull'utilizzo della terminologia, di tecniche e di condizioni di svolgimento dei test.

Naturalmente, come per qualsiasi strumento di misura, per il panel è necessaria una calibrazione realizzata, utilizzando degli standard di riferimento.

Durante la fase di addestramento è prevista, inoltre, una fase di familiarizzazione del panel con le scale di valutazione, se i test che devono essere svolti, ne prevedono l'utilizzo.

Le scale sono sviluppate in modo tale da coprire l'intero intervallo di valori che una caratteristica può assumere.

Le valutazioni fornite dalla commissione di giudici, attributo per attributo, sono successivamente sottoposte ad una elaborazione statistica della varianza.

I profili sensoriali sono tracciati mediante strumenti grafico - statistici, progettati appositamente per l'analisi sensoriale.

Risulta quindi chiaro che, l'approccio più tipico e diffuso dell'analisi sensoriale è certamente quello della determinazione dei profili sensoriali sopra descritto per definire e confrontare le caratteristiche di prodotti simili.

Attraverso le tecniche di *Consumer Science* è possibile, invece, determinare oltre al gradimento espresso da un target di consumatori di riferimento verso particolari referenze, anche altre informazioni, ad esempio i punti di forza e debolezza, la propensione all'acquisto, l'individuazione del prezzo di vendita, l'adeguatezza del *packaging* e dei messaggi promozionali, la segmentazione delle preferenze.

La *Consumer Science*, tipicamente *customer-oriented*, gioca un ruolo critico nell'ambito delle ricerche di mercato. Tale approccio si avvale di un gruppo di consumatori per misurare la preferenza o l'accettabilità di un prodotto. Nella valutazione della preferenza, al consumatore viene data la

possibilità di scegliere, tra due o più prodotti, quello preferito. Nella valutazione dell'accettabilità, invece, ciascun consumatore dovrà giudicare, mediante una scala, il proprio gradimento, senza un confronto diretto con altri prodotti simili. Esiste, naturalmente, una logica complementarità tra le due tecniche. Molto spesso, infatti, la procedura più efficace prevede la determinazione dei punteggi di accettabilità attraverso un test multi-prodotto: la valutazione delle preferenze dei consumatori, mediante i punteggi ottenuti, avviene quindi, indirettamente (Porretta, 2002).

Una metodica di tipo qualitativo ampiamente utilizzata nella *Consumer Science* è il *Focus Group*. I *Focus Group Interviews* fanno parte degli strumenti qualitativi di cui la *Consumer Science* si avvale nelle fasi preliminari ed esplorative delle ricerche quantitative.

I *Focus Group* sono strumenti basati sulla discussione di gruppo di argomenti predefiniti e risultano particolarmente efficaci per raccogliere dati qualitativi in un tempo limitato, privilegiando l'analisi in profondità, piuttosto, che quella di tipo estensivo. I *Focus Group* rientrano nel filone più ampio delle interviste di gruppo. In una tipica sessione di *Focus Group*, 6-10 persone vengono fatte conversare tra loro da un intervistatore, generalmente chiamato moderatore, su una scaletta di temi predefiniti. La conversazione viene memorizzata mediante registrazione a nastro o videoregistratore, previo consenso dei partecipanti. L'impiego dei *Focus Group* risulta fondamentale in alcune specifiche situazioni:

- quando si deve studiare un fenomeno nuovo, rispetto al quale si posseggono poche informazioni;
- quando si è interessati a conoscere la prospettiva delle persone rispetto al fenomeno studiato. In altre parole, tale tecnica permette di studiare la qualità come viene percepita dal soggetto.

Infine, mettendo in relazione i dati forniti dai giudici addestrati con la preferenza del consumatore, eventualmente anche unitamente alle proprietà chimiche e fisiche del prodotto, è possibile ricavare il percorso completo che induce la preferenza e la scelta del consumatore (Porretta, 2002; Gatti, 2003).

## 2. STATO DELL'ARTE

### 2.1. Maionese come prodotto funzionale

Lo sviluppo di un nuovo prodotto rappresenta una procedura complessa, ma allo stesso tempo è uno strumento strategico per la competitività aziendale. Il nuovo prodotto dovrà soddisfare esigenze implicite ed esplicite del consumatore, che nel tempo è diventato sempre più esigente.

L'attenzione dei consumatori, oggi, pare rivolta molto di più all'aspetto salutistico degli alimenti. Proprio per tali motivi, le aziende mirano allo sviluppo di prodotti in grado di portare notevoli benefici alla salute e all'aspettativa di vita, oltre che all'invecchiamento sostituendo, ad esempio, i grassi presenti nella formulazione di alcuni prodotti, con altri ingredienti oppure aggiungendo alla formulazione di determinati prodotti, ingredienti funzionali.

Un prodotto funzionale, quindi, potrebbe essere rappresentato proprio dalla maionese ottenuta sostituendo parte della frazione lipidica con olio di noce.

L'olio di noce è un prodotto raro, dal sapore originale e delicato, ma soprattutto è ricco di acidi grassi omega 3 e 6 che hanno importanti ruoli strutturali e metabolici (Holman *et al.*, 1988).

Come è noto gli acidi grassi polinsaturi omega 3 e 6, sono utili nella prevenzione di dismetabolismi lipidici e dell'aterosclerosi, ma per le loro caratteristiche strutturali, cioè per la presenza dei doppi legami, necessitano di una maggiore protezione dalle perossidazioni.

La maionese è un'emulsione (O/W) in cui l'olio risulta disperso nell'acqua allo stato di goccioline sferiche caratterizzate da diametri di dimensioni comprese tra 0.1 e 100 µm. Sono sistemi termodinamicamente instabili, tanto che tendono a separarsi nelle fasi che li costituiscono (Mc Clements, 1999).

Secondo Perrier-Cornet *et al.* (2005), la stabilità delle emulsioni è fortemente dipendente dal processo di produzione, dall'emulsionante utilizzato e dalla grandezza delle particelle che la compongono.

Per questa tipologia di alimenti, quindi, risulta chiara l'importanza della loro stabilità e delle loro caratteristiche strutturali, quindi, sensoriali e fisiche. Pertanto, individuare la relazione tra formulazione, percezione della *texture* e struttura dell'alimento è di grande interesse per l'innovazione nel campo delle industrie alimentari.

In letteratura viene proposto un approccio multidisciplinare, attraverso l'analisi sensoriale e la ricerca delle caratteristiche chimico-fisiche, al fine di evidenziare le relazioni esistenti tra *texture* e struttura di un prodotto alimentare, effettuando test reologici, empirici e fondamentali (Wilkinson *et al.*, 2000; Foegeding *et al.*, 2003; Wendin *et al.*, 1999).

Secondo Depree & Savage (2001), il tipo di emulsione ideale è costituita da goccioline sferiche impaccate in una fase continua, mentre la fase dispersa si stima dovrebbe occupare al massimo il 74% del volume totale.

Questa combinazione di fattori, conferisce alla maionese tradizionale, un'elevata viscosità (Harrison & Cunningham, 1985).

Kiosseoglou & Sherman (1983) hanno osservato che la viscoelasticità della maionese preparata con tuorlo d'uovo, raggiunge il suo massimo livello molto rapidamente dopo la preparazione, a differenza delle emulsioni preparate con gomma o proteine di carne o di soia.

Essi, suggeriscono che ciò è dovuto alla flocculazione di goccioline adiacenti che formano un *network*, di solito, si tratta di un gel poco resistente.

In una emulsione, tra le goccioline si instaurano delle forze attrattive, tra cui quelle di Van der Waals e da forze di repulsione steriche ed elettrostatiche (Depree & Savage, 2001).

La qualità dell'emulsione dipende dal giusto equilibrio tra queste forze: un'attrazione troppo forte può promuovere la coalescenza delle goccioline, mentre una repulsione eccessiva può portare ad un'emulsione poco viscosa e incline al fenomeno dell'affioramento, *creaming*, per cui le goccioline d'olio si stringono in un volume minimo, permettendo all'acqua di scorrere via.

## **2.2. Fattori che influenzano la stabilità della maionese**

La stabilità della maionese è influenzata dai suoi stessi ingredienti.

Il tuorlo d'uovo viene usato come agente emulsionante, perchè è esso stesso un'emulsione comprendente granuli idrofobici sospesi in una fase acquosa contenente la maggior parte delle proteine (Harrison & Cunningham, 1985). Esso, contiene una complessa miscela di componenti tra cui fosfolipidi, lecitine e un numero elevato di proteine e lipoproteine, compreso lipovitellina, lipovitellinina e livetina.

Le lipoproteine dell'uovo, secondo Peressini *et al.* (1998), creano un *network* stabile all'interfaccia olio-acqua, mostrando un'alta capacità emulsionante che contribuisce a mantenere l'equilibrio tra le due fasi.

Di norma, nella preparazione della maionese, si usano tuorli precedentemente pastorizzati, perché il processo di pastorizzazione non influisce sulle proprietà emulsionanti di tali ingredienti, cosa che invece avviene in seguito a congelamento e liofilizzazione.

Kiosseoglou & Sherman (1983) affermarono che i componenti del tuorlo d'uovo si combinano in modo da formare una membrana intorno alle goccioline lipidiche, cioè le apolipoproteine danno luogo ad interazioni idrofobiche con lunghe catene di trigliceridi saturati derivanti dalla fase lipidica. Il sale, invece, migliora le caratteristiche della maionese per alcune ragioni fondamentali: innanzitutto, aiuta la dispersione dei granuli del tuorlo d'uovo e la formazione della regione di interfaccia, aiuta poi a neutralizzare le modifiche sulle proteine.

Tale neutralizzazione può permettere alle goccioline d'olio adiacenti di interagire in modo ancora più forte.

Il sale può, quindi, ammortizzare il discostamento dei valori di pH dal punto isoelettrico delle proteine. Tuttavia, un eccesso di tale ingrediente può causare l'aggregazione delle proteine del tuorlo d'uovo nella fase acquosa dell'emulsione.

Harrison & Cunningham (1986 a e b) sostennero che sia la concentrazione sia il tipo di sale usato hanno un effetto significativo sulla struttura e, quindi, sulle proprietà reologiche della maionese. In questo lavoro, gli studiosi, testarono gli effetti dell'aggiunta di tre diversi sali, NaCl, NaCl iodato e KCl, sui tuorli d'uovo non pastorizzati ed osservarono che la viscosità aumentava con l'aumento

della concentrazione di sale fino al 15% (il massimo della concentrazione studiata). L'aggiunta dei tre sali riduceva, però, la capacità emulsionante dei tuorli d'uovo.

Furono prodotti diversi campioni di maionese, ognuno contenente tuorlo d'uovo addizionato con un tipo di sale alla volta. I prodotti ottenuti mostravano elevata stabilità e viscosità. Questi effetti erano migliori per la maionese prodotta con NaCl non iodato, seguita da quella prodotta con NaCl iodato e infine, da maionese contenente KCl. Dallo studio emerge che il sale aggiunto, in un primo momento, fa in modo che la lipovitellina attrae l'acqua. Man mano che si aggiunge sale, alcune delle proteine del tuorlo d'uovo vengono deidratate e non sono più capaci, così, di legarsi le une alle altre per formare aggregati.

Lo zucchero tende, invece, ad indebolire le interazioni. Le proteine ed i carboidrati come la cellulosa di carbossimetile, presenti nell'albume d'uovo, interagiscono con le proteine dei tuorli d'uovo, formando dei legami crociati tra le goccioline.

Anche altri ingredienti aggiuntivi come la mostarda, aiutano a stabilizzare le emulsioni, anche se il meccanismo d'azione non è ancora del tutto chiaro. Un altro fattore importante per la stabilità della maionese è il pH che può avere degli effetti negativi sulla struttura dell'emulsione.

La viscoelasticità e la stabilità della maionese possono raggiungere il massimo livello quando il pH si ferma intorno al punto isoelettrico delle proteine del tuorlo d'uovo. Tale pH si attesta intorno a 3.9 (Kiosseoglou & Sherman, 1983).

Quando la maionese è conservata ad elevate temperature, la viscosità della fase continua decresce e la solubilizzazione dei surfattanti contribuisce al collasso dell'emulsione.

Il collasso dell'emulsione può essere provocato anche da condizioni di acidità della maionese stessa.

Generalmente, le aziende cercano di ridurre, fin dove è possibile, il contenuto di olio nella maionese, anche per ridurre i costi di produzione. Sfortunatamente, riducendo la quantità di olio, si riduce anche la densità delle goccioline in emulsione.

Ciò vuol dire che le emulsioni diventano meno stabili e le interazioni tra le goccioline molto più labili. In assenza di forti interazioni tra goccioline, si ha la separazione sotto gravità, di una parte di grassi secondo l'equazione di Stokes.

La stabilità di un'emulsione con quantità bassa o media di grassi, può aumentare per riduzione delle dimensioni delle goccioline oppure per aumento della viscosità della fase continua.

Nel caso della maionese prodotta in Nuova Zelanda, che è particolarmente povera in grassi, è necessario l'uso di agenti gelificanti solubili in acqua come per esempio amidi modificati (Depree & Savage, 2001).

### **2.3. Proprietà reologiche delle emulsioni**

Le proprietà reologiche delle emulsioni, quindi della maionese, dipendono sia dalla composizione della fase continua sia da quella della fase discontinua.

La caratterizzazione delle proprietà di flusso dei sistemi alimentari tempo dipendenti è importante per il disegno ed il controllo del processo di produzione, per lo sviluppo del prodotto, per stabilire le relazioni tra struttura e flusso e per correlare i parametri fisici con quelli sensoriali.

Le curve di flusso (*shear stress* o viscosità in funzione del tempo), ottenute applicando all'alimento una velocità di deformazione costante, consentono di valutare la *texture* di alimenti semi-solidi e liquidi; la principale proprietà di *texture* per questi alimenti è la viscosità.

Cambiamenti di tale proprietà sono dovuti principalmente al collasso strutturale, tali cambiamenti possono essere percepiti e quantificati anche attraverso l'analisi sensoriale con l'ausilio di giudici addestrati. Le proprietà reologiche tempo dipendenti riflettono la natura della struttura del sistema alimentare che può essere di tipo viscoelastica. Il comportamento viscoelastico, derivante da un parziale comportamento liquido viscoso, è caratterizzato da una risposta non istantanea ad una forza applicata; il comportamento tempo dipendente è caratterizzato dal continuo modificarsi della struttura interna del materiale in analisi; tali comportamenti possono essere studiati applicando all'alimento in analisi una deformazione (Figoni & Shoemaker, 1983).

Gallegos *et al.* (1992), per ampliare le loro conoscenze sulle variabili che influenzano significativamente il comportamento viscoelastico lineare della maionese commerciale, hanno effettuato studi reologici sia su campioni commerciali sia su campioni di maionese modello a diverso contenuto in olio. I quattro prodotti commerciali sono stati analizzati usando un rotoviscosimetro a cilindri coassiali, variando la temperatura tra 10 e 40°C; i tre campioni di maionese modello, differenti per contenuto in olio ed acqua, sono stati analizzati utilizzando un reometro dotato di una geometria a piatti piani e paralleli, variando la temperatura tra 15 e 40°C, tale strumento è stato utilizzato per esplorare campi di frequenza più ampi e per confermare le relazioni tra le funzioni viscoelastiche dinamiche ottenute e le frequenze esplorate. Sui prodotti commerciali sono stati effettuati test dinamici, sono stati monitorati i moduli  $G'$  e  $G''$  in funzione della frequenza di oscillazione; a 20°C tali moduli assumono valori statisticamente più elevati nei campioni contenenti una maggiore percentuale d'olio; le caratteristiche elastiche dell'emulsione aumentano con l'aumentare del contenuto d'olio.

La presenza di albume come stabilizzante rende più elevata la viscoelasticità, le sue molecole possono interagire con i componenti del tuorlo d'uovo adsorbiti alle superfici delle goccioline d'olio, facendo aumentare il numero di interazioni tra le goccioline vicine.

Per i campioni di maionese modello è stata studiata la viscosità complessa in funzione della deformazione di taglio a temperatura costante ed è stato osservato che con l'aumentare del contenuto in olio aumenta l'ampiezza del campo di viscoelasticità lineare; anche la temperatura esercita una leggera influenza su questo intervallo, che va scomparendo con il diminuire del contenuto in olio. Inoltre, è stata monitorata per tali campioni la viscosità complessa nel tempo applicando diverse deformazioni di taglio, interne o esterne al campo di viscoelasticità lineare individuato.

E' stato osservato che i valori assunti dalla viscosità complessa decadono applicando deformazioni di taglio prima interne e successivamente esterne al campo lineare, inoltre nel momento in cui si riapplica una deformazione di taglio interna al *range*, la viscosità complessa recupera istantaneamente, ma non si riporta ai valori iniziali; tale recupero è influenzato dal tempo di applicazione della deformazione di taglio che cade esternamente al *range*. Più piccolo è il tempo di applicazione maggiore è il recupero effettuato dalla viscosità complessa; tali osservazioni

sperimentali suggeriscono che il recupero strutturale è associato al recupero elastico o istantaneo dei flocculi deformati e alla riflocculazione delle goccioline d'olio (recupero tempo-dipendente). La rottura irreversibile della struttura (differenza tra i valori assunti dalla viscosità complessa) può essere associata al fenomeno irreversibile di coalescenza delle goccioline d'olio.

Peressini *et al.* nel 1998 hanno effettuato una caratterizzazione chimica (con il metodo AOAC è stato determinato il contenuto d'acqua, grassi, proteine, ceneri, carboidrati ed il valore di pH) e reologica di maionese commerciale classica e a basso contenuto in grassi.

Per aumentare la stabilità dei prodotti *light* e per mimare l'effetto dei grassi sono stati aggiunti alla fase acquosa gomme, amidi modificati ed amidi idrolizzati; naturalmente, i campioni di maionese *light* avevano un maggiore contenuto di carboidrati rispetto a quelli normali; il contenuto in proteine è abbastanza simile tra i quattro campioni.

Tale studio ha messo in evidenza che i prodotti esibivano un comportamento viscoelastico, ma mentre per i campioni di maionese tradizionale i valori assunti dal modulo elastico  $G'$  erano sempre superiori ai valori assunti dal modulo viscoso  $G''$ , per le maionese *light* si osservava il fenomeno inverso. I prodotti analizzati, oltre ad essere risultati differenti dal punto di vista reologico, sono risultati differenti per la *texture* e per l'aspetto, tanto che la maionese *light* risulta estremamente differente da quella classica.

Fondamentalmente, accade che quando il contenuto in grasso dei campioni viene abbassato in modo consistente e quindi viene sostituito con altri componenti come ad esempio con i carboidrati, essi non sono in grado di emulare la struttura compatta e regolare delle goccioline lipidiche.

Per la caratterizzazione reologica è stato utilizzato un reometro a *stress* controllato, le misure sono state effettuate a 25°C; per i test dinamici è stata usata una geometria a piatto e cono, sono stati monitorati il modulo elastico,  $G'$ , ed il modulo dissipativo,  $G''$ , in funzione della frequenza (tra 0.1 e 10 Hz) ad una deformazione che cade nella zona di viscoelasticità lineare. Per effettuare test statici è stata utilizzata una geometria a piatti piani e paralleli, sono stati misurati la viscosità apparente (determinata con *shear rate* che vanno da 0,4 a 4 s<sup>-1</sup>), lo *yield stress*, effettuando il *creep/recovery* test applicando ai campioni uno stress di 15 Pa.

I test in oscillatorio hanno messo in evidenza che tutti i campioni esibiscono un comportamento viscoelastico ( $G' \gg G''$  per ogni frequenza investigata); dalle prove si aspettava che i valori assunti dal modulo  $G'$  aumentassero con l'aumentare della quantità di grasso nei campioni, ciò è vero tranne che per un campione che pur avendo un minore contenuto in olio mostra un valore di  $G'$  più elevato probabilmente a causa della presenza di carboidrati che conferiscono consistenza al prodotto; comunque, il campione *light* mostra valori di  $G'$  inferiori rispetto agli altri prodotti analizzati. Si può concludere che l'aggiunta di carboidrati non è sufficiente a compensare la considerevole diminuzione di grasso nei campioni.

I dati sperimentali delle prove sperimentali *frequency sweep test* sono stati correlati con la seguente legge di potenza:

$$G' = A\omega^{1/2}$$

[2.1]

in accordo con la teoria di Bohlin che enuncia che il flusso è un fenomeno cooperativo e quindi che le emulsioni sono una rete di unità reologiche che interagiscono per stabilire la struttura del sistema; secondo la teoria riportata  $z$  dà il livello di queste interazioni ed il coefficiente  $A$  dà la forza di queste interazioni; il coefficiente  $A$  non è altro che  $G'$  in Pa a 1 Hz.

La stabilità delle emulsioni dipende dal grado di coordinazione tra i singoli elementi strutturali ( $z$ ) e dalla forza delle interazioni ( $A$ ); bassi valori di  $A$  e  $z$  indicano che le particelle disperse hanno la tendenza a dar luogo al fenomeno della coalescenza quando il sistema è sottoposto a stress meccanici.

I valori di *yield stress* e della viscosità apparente dei campioni analizzati diminuiscono col diminuire della concentrazione dei grassi; i valori della *Compliance* ( $J$ ) sono inversamente correlati al modulo  $G'$ , infatti, aumentano col diminuire della concentrazione di grasso.

I risultati ottenuti hanno mostrato che la caratterizzazione reologica è in grado di discriminare i campioni con diversa formulazione.

#### **2.4. Cause di fenomeni di autossidazione nella maionese**

La maionese va facilmente incontro a irrancidimento mediante auto-ossidazione dei grassi insaturi e polinsaturi dell'olio.

L'autossidazione dell'olio può aver luogo a partire dalla sua estrazione, ma si sviluppa prevalentemente durante i trattamenti e la conservazione dell'olio, determinando la produzione di odori e sapori sgradevoli detti "sapori e odori di rancido". Negli stati finali, l'autossidazione degli oli comporta la formazione di composti come aldeidi, chetoni ed epossidi, che possono sviluppare effetti patologici sul sistema digestivo ed inoltre, interagire con componenti degli alimenti (proteine, pigmenti) sintetizzando sostanze carcinogene (Garrido et al., 1994).

L'ossidazione è un fenomeno legato principalmente ai lipidi insaturi, costituenti fondamentali della struttura e garanti dell'integrità funzionale delle membrane biologiche. I parametri che maggiormente influenzano la rapidità di tali fenomeni alterativi, e che dunque devono essere controllati nel corso della conservazione dell'olio sono:

- grado di insaturazione dell'olio
- presenza di antiossidanti
- quantità di ossigeno disciolto nell'olio e superficie dell'olio a contatto con l'ossigeno dell'aria
- attività enzimatica
- esposizione alla luce
- temperatura
- presenza di metalli in tracce
- contatto dell'olio con l'acqua (Andersson et al., 1997; Paz e Molero, 2000; Ambrosino et al., 2000; Bacchiocca et al., 2000).

Il fattore "insaturazione" dell'olio influisce notevolmente sul fenomeno di ossidazione; questa, infatti, risulta tanto più spinta quanto più elevato è il contenuto di acidi grassi insaturi (Frankel, 1982). E' noto che oli ricchi in acido oleico (oliva, girasole, nocciola) risultano più stabili degli oli che naturalmente presentano un elevato tenore in acido linoleico e linolenico (soia, mais,

arachide). Inoltre, durante l'ossidazione di acidi grassi polinsaturi con doppi legami non coniugati, avviene coniugazione per un tenore di circa il 90% (Cortesi *et al.*, 1997).

Il fattore "presenza di ossigeno" conferma ovviamente che si tratta di una reazione di ossidazione, favorita dalla reattività del composto. L'ossigeno, unitamente all'aria che lo comprende, può arrivare all'olio in vari modi: può essere disciolto nello spazio di testa del contenitore, oppure può arrivare (in tempi lunghi) all'olio, solubilizzandosi in esso, attraverso le pareti del contenitore.

Il materiale che offre maggior protezione contro questo ingresso nell'olio è il metallo, così come un olio disareato prima del confezionamento offre maggiore garanzia di stabilità rispetto ad un olio confezionato in presenza di aria. Non è facile dare un peso relativo all'effetto individuale della temperatura e ossigeno sulla reazione di ossidazione in quanto tra loro esiste una forte interazione. La presenza di metalli, soprattutto quelli con valenza maggiore di uno, favorisce la reazione di ossidazione, infatti i metalli (ferro, rame, cobalto, manganese, nichel), anche se presenti solo in tracce, agiscono da catalizzatori attraverso complessi meccanismi di trasporto di cariche.

È difficile quindi valutare l'effetto di uno specifico fattore nel processo di ossidazione, in quanto operano simultaneamente e ciò spiega le difficoltà che ancora oggi ci sono relativamente alla comprensione di tale reazione.

A parità di condizioni di conservazione inoltre, oli a diversa composizione chimica possono presentare una diversa resistenza all'ossidazione in relazione soprattutto al contenuto in acidi grassi polinsaturi ed in antiossidanti (tocoferoli e fenoli). Anche se le ricerche sull'autossidazione datano dal secolo scorso, solo l'applicazione delle moderne e sofisticate tecniche analitiche ha permesso di indagare sugli aspetti qualitativi e quantitativi dell'autossidazione, a partire dai prodotti primari della reazione: "i perossidi" (Cortesi *et al.*, 1997).

Il processo di auto-ossidazione dell'olio prevede tre stadi:

1. Iniziazione: la luce agisce sui grassi insaturi, in presenza di catalizzatori come ioni di metallo pesante, per formare radicali liberi.
2. Propagazione: i radicali liberi reagiscono con molecole di ossigeno per formare radicali perossido; questi, possono catalizzare la formazione di più radicali liberi oppure decomporsi in aldeidi, chetoni, alcoli.
3. Terminazione: quando la concentrazione di composti reattivi raggiunge un livello sufficiente, essi reagiscono per dare composti stabili che danno al prodotto quel caratteristico sapore di rancido.

Wills & Cheong (1979) effettuando studi sulla maionese conservata a 20°C trovarono che i valori di perossido tendono ad aumentare fino ad un massimo di circa 3.5meq/kg dopo 15 giorni, successivamente decrescono.

Nella maionese ed in emulsioni simili, l'ossidazione appare all'interfaccia delle goccioline, per cui le piccole dimensioni delle goccioline stesse, possono promuovere la fase di iniziazione.

Inoltre, nelle emulsioni di tipo olio in acqua, l'attività di un antiossidante è inversamente proporzionale alla sua polarità.

Una volta partita l'iniziazione, le fasi successive sono indipendenti dalla dimensione delle goccioline. La luce, gioca un ruolo importante, in particolare quella a 365 nm. Essa, infatti, è in

grado di promuovere l'ossidazione degli acidi grassi insaturi. La luce visibile, in generale, oltre a provocare un fenomeno di ossidazione, causa anche la decolorazione della maionese. Essa non deve superare, però i 470 nm, perchè in tal caso non si registra più alcun effetto.

Nel 2000 Lennersten & Lignert, alla luce di queste conoscenze, affermarono che la luce causa l'ossidazione per azione di alcuni agenti fotosensibili come i carotenoidi (presenti nel tuorlo d'uovo). I materiali di imballaggio che contengono PET (naftalato di polietilene) bloccano i raggi ultravioletti, ma sostanzialmente, l'ossidazione della maionese è causata dalla luce blu, che si può riscontrare frequentemente nei supermercati (per lo più neon o comunque luci a 365 nm e in un *range* tra 410/450 nm).

## **2.5. Influenza del tipo di olio e di altri sostituenti della frazione lipidica nella maionese**

La stabilità della maionese dipende dal tipo di olio usato per produrre la maionese.

Hsieh & Regenstein (1992) prepararono vari tipi di maionese: con il 70% di olio di pesce, olio di mais e olio di soia. Questi ultimi due tipi d'olio sono particolarmente ricchi in acido linoleico (C18:2) e acido linolenico (C18:3), rispettivamente, invece l'olio di pesce contiene acido eicosapentanoico (C20:5) e acido docosaesanoico (C22:6).

La maionese preparata con olio di pesce, come era prevedibile, dava ossidazione molto rapidamente, mentre l'olio di mais era meno sensibile e quello di soia ancora meno. L'olio di soia, infatti, è quello più ricco di antiossidanti naturali, specialmente di tocoferolo.

Wills e Cheong (1979) hanno osservato che le caratteristiche reologiche di campioni di maionese preparati con olio di girasole risultano molto simili a quelle della maionese prodotta con olio di mais. Questo dimostra il motivo per cui, oggi, la maggior parte delle maionesi commerciali sono preparate proprio con olio di girasole.

Nella maionese, le molecole responsabili del *flavour*, tendono a dividersi tra la fase lipidica e la fase acquosa, cosa che dipende dalla loro relativa solubilità. Il *flavour* percepito inizialmente è dovuto alle molecole disperse nella fase acquosa.

Durante l'assaggio del prodotto, la maionese viene diluita dalla saliva e riscaldata in bocca, per cui le particelle responsabili del *flavour* si propagano oltre le goccioline d'olio e si rendono captabili dai recettori gusto-olfattivi. Di solito, una maionese contenente il 30% di grassi presenta un *flavour* più immediato ed intenso rispetto ad una maionese con circa l'85% di grassi, pur contenendo la stessa quantità di isotiocianato ovvero la molecola maggiormente responsabile del *flavour* del prodotto.

Min & Tickner (1982) usarono la gascromatografia per misurare i livelli dei composti aromatici, specialmente l'allile isotiocianato presente in una frazione di olio di una maionese fresca e una conservata. Il livello non cambiava nell'arco di 6 mesi di conservazione e non cambiavano nemmeno quelli dell'acido acetico e dell'acetato di etile (presenti nell'aceto).

L'ossidazione dell'olio causa la fine della percezione del *flavour*, ma la maionese è un prodotto complesso e quindi la scelta degli antiossidanti da usare non è semplice.

In conclusione, la stabilità dei composti aromatici responsabili del *flavour*, nella maionese non sembra essere un problema, se il prodotto non viene conservato per troppo tempo, cioè non più di sei mesi e a temperatura ambiente. Le proprietà viscoelastiche della maionese, sono migliorate

dall'aggiunta di *xanthan gum* e di alginati di alghe, che sembrano migliorare la forza dell'emulsione, in qualità di stabilizzanti della maionese stessa (Ma & Barbosa-Canovas, 1995b; Mancini *et al.*, 2002).

Durante lo svolgimento di test reologici dinamico-meccanici, Ma & Barbosa-Canovas (1995a), osservarono uno slittamento dei campioni e capirono che tale fenomeno era dovuto proprio al contenuto in olio e *xanthan gum* dei campioni analizzati.

Lo studio fu condotto, utilizzando un reometro a deformazione controllata con geometria a piatti piani e paralleli e misurando lo *shear stress* in funzione della *shear rate*.

I due studiosi, dedussero che lo slittamento dei campioni diminuiva all'aumentare del contenuto in olio e *xanthan gum*.

Tali ricerche furono ampliate ulteriormente, Ma & Barbosa-Canovas (1995b), utilizzando differenti *gap* (1 e 1,5 mm) e mediante metodi dinamici e stazionari, misurarono lo *yield stress*.

Questo valore rappresenta la misura dello sforzo al di sopra del quale il materiale comincia a scorrere, il materiale quindi si comporterà come un fluido viscoso.

Ciò significa che una volta superato lo *yield stress*, il prodotto diventa spalmabile. Nel caso specifico della maionese, se tale valore è piuttosto elevato, il prodotto non può fluire dal contenitore.

Lo *yield stress* è sicuramente legato all'accettabilità degli alimenti da parte dei consumatori e può essere valutato mediante test reologici dinamici o statici, che prevedono oscillazioni di piccola ampiezza.

Tali test sono meglio conosciuti col nome di SAOS ovvero *Small Amplitude Oscillatory Test*.

Volikakis *et al.* (2004) usarono  $\beta$ -glucani di cereali come sostituenti di grassi in un formaggio a basso tenore in grasso e questo portò ad un significativo miglioramento della *texture* del prodotto. Tuttavia, il colore, il *flavour* e l'accettabilità globale risultarono diversi.

Studi più recenti compiuti da Kontogiorgos e collaboratori (2004), dimostrano che i  $\beta$ -glucani dei cereali possono essere usati come stabilizzanti in condimenti per insalate. Quindi, in conclusione, si può dire che i  $\beta$ -glucani giocano un ruolo importante come sostituti dei grassi e come stabilizzatori delle emulsioni, con un basso valore calorico. Possono, comunque sostituire solo il 50% dell'olio, per motivi di stabilità.

## **2.6. Caratterizzazioni reologiche e sensoriali su campioni di maionese**

Campanella *et al.* nel 1995 hanno messo a punto un modello matematico capace di predire il comportamento reologico di emulsioni olio in acqua, conoscendo la curva di flusso dell'emulsione ad una determinata concentrazione d'olio. Tale modello è stato messo a punto investigando le proprietà reologiche di sette gruppi di emulsioni olio in acqua, con concentrazioni volumetriche d'olio comprese tra 10 e 70%. Successivamente, il modello matematico è stato validato predicendo la viscosità di altri sistemi emulsionati riportati in letteratura. In questo lavoro sono stati utilizzati tre oli combinati con quattro diversi emulsionanti ed utilizzando un reometro a cilindri concentrici sono state effettuate le misure della viscosità relativa in funzione della velocità di scorrimento (in un *range* compreso tra 20 e 750 s<sup>-1</sup>). La maggior parte delle emulsioni in studio ha esibito un

comportamento Newtoniano, le restanti emulsioni caratterizzate da un'elevata concentrazione volumetrica d'olio hanno mostrato comportamenti pseudoplastici e plastici.

Nel 2000, Maskan & Göğüs hanno effettuato uno studio per esaminare l'adeguatezza dei modelli reologici comunemente usati e per conoscere l'effetto della temperatura e della concentrazione di zucchero sulla stabilità e sul comportamento reologico di emulsioni olio in acqua.

Attraverso lo studio delle proprietà reologiche di tali emulsioni, gli autori hanno messo a punto una equazione empirica in grado di prevedere la viscosità apparente conoscendo la concentrazione di zucchero, la temperatura e la velocità rotazionale.

A tale scopo sono state utilizzate emulsioni O/W formate dal 79% di olio di girasole, acqua deionizzata, lecitina e saccarosio (0-2-4-6-8%), miscelati a 25°C per tre minuti a 19000 rpm. La viscosità delle emulsioni è stata misurata a diverse temperature e con diverse velocità rotazionali attraverso un viscosimetro rotazionale; queste emulsioni si comportano come fluidi pseudoplastici e il modello empirico della legge di potenza fitta bene ( $0.985 < r^2 < 0.999$ ) con i dati sperimentali; l'aggiunta di zucchero aumenta la stabilità delle emulsioni.

Wendin *et al.*, in un lavoro svolto nel 1997, hanno analizzato vari tipi di maionese sia da un punto di vista strumentale sia sensoriale e ne confrontarono i risultati.

Il profilo sensoriale dei campioni è stato individuato utilizzando un panel addestrato costituito da 10 donne. Durante i primi tre incontri di addestramento i giudici hanno imparato a riconoscere i sapori, gli odori e gli aromi aggiunti al prodotto, oltre che ad individuare le caratteristiche di *texture* e l'aspetto dei diversi tipi di maionese.

Gli attributi sensoriali sono stati valutati su scale di 15 cm i cui estremi riportavano le diciture "nessuna intensità" e "forte intensità".

I campioni serviti ad una temperatura di 20°C, sono stati presentati agli assaggiatori in tazze di plastica con coperchio di metallo in ordine randomizzato. In sessioni di 20 minuti sono stati valutati quattro campioni per volta, per evitare l'affaticamento dei panelisti.

Le misure reologiche sono state effettuate a 20°C utilizzando un reometro fornito di una geometria a cilindri concentrici; durante l'applicazione di una deformazione continua da 0.025 a 50 Pa attenzione Pa non è l'unità di misura della deformazione per 100s sono stati misurati i valori di *yield stress* e della massima viscosità. Sono state effettuate preventivamente dei test per conoscere il *range* di viscoelasticità lineare e successivamente prove di *frequency sweep*; sono stati valutati il modulo di conservazione  $G'$  e dissipativo  $G''$  a 31 differenti frequenze nel *range* che va da 0.01 a 10 Hz. Conoscendo i valori dei moduli (Pa) e della frequenza (Hz) sono stati calcolati i valori di  $K_1$  costante della struttura ( $\text{Pa s}^{n_1}$ ),  $n_1$  indice della struttura,  $k_2$  viscosità/costante di frizione e  $n_2$  indice di frizione attraverso le seguenti equazioni:

$$G' = k_1 f^{n_1} \quad [2.2]$$

$$G'' = k_2 f^{n_2} \quad [2.3]$$

Infine sono state effettuate prove di *strain sweep* alla frequenza di 1 Hz; i valori ai quali le curve di  $G'$  e  $G''$  si intersecano potrebbero indicare quanto a lungo resiste in bocca la struttura della maionese.

I risultati ottenuti dall'analisi sensoriale mostrano che con l'aumentare del contenuto in grasso aumenta la percezione dell'odore e del *flavour* di limone e diminuisce quello di affumicato, questi risultati non sono in accordo con la teoria che prevede che i composti aromatici lipofili sono concentrati nella fase lipidica; l'odore ed il sapore di limone diminuiscono nella maionese contenente addensanti quando il contenuto in grasso aumenta; con l'aumento del contenuto di grasso aumentano la densità, la grassezza e la durezza, ma anche il tono e la forza del colore.

I risultati delle analisi reologiche mostrano che esiste una differenza significativa tra i campioni per tutti i parametri reologici valutati, tranne che tra quelli a basso contenuto in grasso per i valori della viscosità massima; con l'aumento del contenuto in grasso aumentano i valori dei parametri reologici considerati e l'indice di struttura  $n_1$ , minore di uno per tutti i prodotti, decresce con l'aumentare del contenuto d'olio; le differenze riscontrate in termini reologici sono dovute alle differenti strutture dei due addensanti aggiunti ai prodotti in analisi. In generale, Wendin *et al.* hanno osservato che la densità è correlata alla grandezza delle particelle, al modulo dissipativo  $G''$ ; la grassezza è correlata alla grandezza delle particelle, allo *yield stress*, alla viscosità massima e all'elasticità; la durezza è positivamente correlata a  $G''$  e negativamente alla viscosità massima.

## **2.7. Composizione acidica degli oli e loro benefici sullo stato di salute**

Da quanto riportato finora si evince che sia la quantità sia la composizione acidica dell'olio presente in un'emulsione influenzano i parametri reologici che la caratterizzano. La composizione acidica degli oli, inoltre, influenza anche le proprietà nutrizionali di tale prodotto e quindi il nostro stato di salute.

La ricerca corrente, infatti, è stata focalizzata sugli effetti relativi alla salute dei singoli acidi grassi. Questi includono gli acidi grassi essenziali omega-3 e omega-6 di origine vegetale e gli acidi grassi polinsaturi omega-3 a lunga catena (VLCn \_ 3 PUFAs) di origine marina (Torstensen *et al.*, 2004; Jacobsen *et al.*, 1999).

L'aumentato interesse per i vantaggi sanitari potenziali associati al consumo di acidi grassi n-3 a lunga catena ha condotto alla vendita di supplementi e cibi fortificati che contengono questi acidi grassi. Recentemente, il forte interesse per il mercato degli alimenti funzionali sta crescendo in termini di domanda da parte dei consumatori di alimenti che contengono qualche componente *health-promoting* oltre a sostanze nutrizionali tradizionali (DeClercq & Daun, 1999; Berner & O'Donnell, 1998).

Secondo quanto riportato in uno studio effettuato da Jacobsen *et al.* nel 1999, numerose indagini hanno messo in evidenza che gli acidi grassi polinsaturi omega 3, specialmente EPA (C20:5 n-3) e DHA (C22:6 n-3), apportano benefici alla salute umana; i benefici fisiologici sono stati associati ad un ridotto rischio di malattie cardiovascolari e allo sviluppo ottico e neurale del bambino.

Per far aumentare il consumo di tali sostanze, sono stati sviluppati diversi prodotti alimentari utilizzando ingredienti che naturalmente contengono tali acidi grassi (olio di pesce per produrre maionese e condimenti per insalate).

Tuttavia, gli acidi grassi polinsaturi  $\omega$ -3 sono molto suscettibili all'ossidazione dovuta al loro alto grado di insaturazione. Quindi, efficienti misure antiossidative sono richieste per proteggere tali alimenti arricchiti dal deterioramento ossidativo. L'attuale conoscenza dei meccanismi di ossidazione e dell'efficacia antiossidante nelle emulsioni è largamente basata su studi effettuati su sistemi modello. Tuttavia, anche nei sistemi modello, la predizione dell'attività antiossidante è difficile, poiché l'efficienza antiossidativa dipende da numerosi fattori fisici e chimici. Ancora, l'attività antiossidante sembra essere influenzata dalla struttura fisica del sistema emulsione. I dati recentemente riportati in letteratura hanno evidenziato fenomeni assai complessi.

1. Nelle emulsioni olio in acqua l'efficienza degli antiossidanti è inversamente correlata alla loro polarità. Così, gli antiossidanti come il palmitato di ascorbilo e l'alfa-tocoferolo hanno un'attività antiossidante superiore alla loro controparte più polare, acido ascorbico, in emulsioni o/w contenenti il 10% di olio di mais. Questo paradosso è dovuto alle differenze di affinità degli antiossidanti con le diverse fasi nel sistema includendo l'interazione dell'antiossidante con l'ossigeno presente alla superficie di interfaccia acqua/aria.

2. Nelle emulsioni o/w, gli antiossidanti polari possono parzialmente posizionarsi all'interfaccia. Questa partizione dipende dal tipo di emulsionante e dal pH del sistema, ma il grado di partizione non può essere predetto immediatamente solo dai principi chimici.

3. La localizzazione degli antiossidanti all'interfaccia può cambiare la generale efficacia antiossidante. Da questo può essere arguito che l'apparente attività degli antiossidanti nelle emulsioni può anche dipendere dalla grandezza delle goccioline che infatti, governa la superficie d'interfaccia nelle emulsioni.

Gli effetti principali correlati all'assunzione di acidi grassi omega 3 e 6, in ogni caso, sono soprattutto legati alla protezione del cuore e del sistema circolatorio, aspetto positivo già evidenziato dagli studi epidemiologici iniziati negli U.S.A. intorno agli anni '70.

In quegli anni furono studiati gli "Inuits" una popolazione eschimese che si cibava prevalentemente di pesce proveniente dalle coste della Groenlandia e del Giappone, già allora emerse molto chiaramente un'incidenza particolarmente bassa di malattia all'apparato cardiovascolare, correlata a quel tipo di alimentazione "marittima" (<http://www.benessere.com>).

Esistono inoltre, studi preliminari, dove si controlla l'applicazione degli omega 3 sul morbo di Crohn (patologia a carico dell'apparato intestinale): l'effetto studiato sarebbe legato all'attività antinfiammatoria di queste importanti sostanze. Per rimanere in tema di ricerche su questo argomento, è importante ricordare che nel 1999 è stato pubblicato da Von Shucky *et al.* un importante studio iniziato nel 1996 su 11324 pazienti colpiti da infarto miocardico, il quale ha dimostrato che, la somministrazione di un farmaco a base di acidi grassi polinsaturi omega 3 ai pazienti colpiti da infarto riusciva a ridurre considerevolmente la mortalità legata a questa patologia. Da numerosi studi è emerso che ricco in acidi grassi omega 3 e 6, è anche l'olio di noci.

Da uno studio che ha coinvolto oltre settecento abitanti di una regione francese (rinomata per essere una zona di produzione di noci), è emerso che le persone che consumano frequentemente noci ed olio di noce, usato in prevalenza nei condimenti, hanno un valore più alto di lipoproteine ad alta densità (HDL) o "colesterolo buono" rispetto alle persone che non comprendono nella loro alimentazione, tali alimenti.

Ricerche precedenti hanno confermato che alti valori di HDL proteggono il cuore e i vasi sanguigni. Maggiore è, quindi, il consumo di noci e olio che i partecipanti hanno dichiarato, migliori sono stati i loro profili colesterolemici. Questo è quanto riportato da Lavedrine ed i suoi collaboratori nel 1999.

Le noci e l'olio di noce sono ricchi di acidi grassi polinsaturi, che hanno mostrato essere più "amici del cuore" dei grassi saturi che si trovano principalmente in prodotti di origine animale. I partecipanti si sono sottoposti ad un esame completo compreso quello del sangue per misurare il livello di colesterolo. Durante la visita hanno riempito un questionario per determinare il loro stato di salute generale e un'indagine per misurare la frequenza del consumo di certi alimenti. Sono state chieste loro le quantità di alcuni cibi che avevano consumato nel precedente anno, compresi prodotti derivati dal latte, alcool, grassi animali, noci e olio di noce.

Dopo aver corretto i dati secondo i fattori che sono noti per influire sui livelli di colesterolo (peso corporeo, età e consumo di alcolici), i ricercatori hanno trovato che il 13.8% delle persone che consumavano olio di noce frequentemente e il 20.7% di quelli che assumevano sia olio che noci avevano livelli di HDL più alti rispetto al 57.8% di quelli che hanno dichiarato di non avere mai consumato olio di noce e il 34% che non hanno mai mangiato né noci né olio. In particolare, i consumatori abituali di olio avevano in media un livello di HDL che era di 0.053g/l di sangue più alto di quelli che non avevano mai usato l'olio. Risultati simili sono stati riscontrati tra le persone che hanno consumato frequentemente sia olio che noci (Lavedrine *et al.*, 1999).

Ros *et al.* nel 2004 hanno effettuato uno studio per dimostrare che la noce è uno dei non moltissimi alimenti "medicina". Questi ricercatori spagnoli hanno messo a confronto, in un gruppo di persone con livelli di colesterolo elevati, due regimi alimentari diversi: la dieta mediterranea standard (verdure, olio di oliva e amidi) e una dieta in cui circa un terzo delle calorie era dato dai grassi delle noci. Lo studio era di tipo crossover, vale a dire che dopo un certo periodo le persone che seguivano la dieta mediterranea passavano a quella comprendente le noci e viceversa.

I parametri studiati sono stati numerosi, i due principali sono stati la colesterolemia, e la funzionalità endoteliale, cioè la capacità del vaso arterioso di dilatarsi in risposta al flusso sanguigno.

Quest'ultimo parametro è molto importante, perché quanto maggiore è la funzionalità dell'endotelio, tanto minore è il rischio di occlusioni del vaso e uno degli effetti dell'aterosclerosi è appunto rendere meno elastica l'arteria.

In aggiunta sono stati valutati anche altri *marker* di rischio cardiovascolare: omocisteina, proteina-C reattiva e le sostanze che si producono come risposta all'ossidazione. Infatti, nella genesi della placca aterosclerotica e dei trombi ha un ruolo anche l'ossidazione del colesterolo cattivo (LDL).

Al termine dello studio si è visto che pur essendoci senz'altro un ruolo protettivo della tradizionale dieta mediterranea, l'aggiunta delle noci faceva la differenza, sia nella riduzione della

colesterolemia, ma soprattutto nel miglioramento della dilatazione delle arterie dovuta specificamente all'endotelio e nei livelli delle lipoproteine LDL contenenti gamma-tocoferolo, uno degli antiossidanti apportati dalla noce.

Questo significa che le LDL avevano meno probabilità di ossidarsi (Ros *et al.*, 2004).

Le noci sono state anche definite "cibo del cervello", proprio per l'elevata concentrazione di grassi omega 3. Il nostro cervello è costituito per il 60% da grassi strutturali, per lo più, omega 3.

Questo è dovuto al fatto che le membrane di tutte le nostre cellule, comprese quelle cerebrali o neuroni, sono principalmente composte da grassi, che regolano il passaggio di qualunque sostanza in entrata o uscita dalla cellula stessa. E gli acidi grassi omega 3, particolarmente fluidi e flessibili, rendono questo un processo più facile, massimizzando la capacità della cellula di assimilare i nutrienti e di eliminare i rifiuti (A.A.V.V., 2007).

Si può concludere, quindi, che l'aggiunta di noci o olio di noce, alla dieta può essere un importante sostegno per la salute, dato che questo frutto racchiude in sé circa 15% di acidi monoinsaturi benefici, acidi grassi omega 3 e 6, tannini, acido gallico ed ellagico dal forte potere antiossidante, vitamina E, sali minerali e buonilivelli di L-arginina, un amminoacido essenziale, che nel nostro organismo viene convertito in ossido di azoto, sostanza chimica che aiuta il rilassamento dei vasi sanguigni e a mantenere lisce le pareti interne dei vasi sanguigni stessi.

Per soggetti con ipertensione, che più difficilmente riescono a mantenere normali i livelli di ossido di azoto, le noci possono contribuire, certamente, a migliorare il loro stato di salute.

### **3. DISEGNO SPERIMENTALE**

#### **3.1. Struttura della tesi**

Lo scopo primario della dieta è fornire nutrienti sufficienti a soddisfare le esigenze nutrizionali della persona. Sono sempre di più le prove scientifiche a sostegno dell'ipotesi che alcuni alimenti e componenti alimentari abbiano effetti benefici, fisiologici e psicologici, che vanno oltre l'apporto dei nutrienti di base. Tra i componenti alimentari biologicamente attivi e potenzialmente in grado di ottimizzare il benessere fisico e mentale e di ridurre il rischio di malattie cardiovascolari sono annoverati gli acidi grassi essenziali omega 3 e 6.

Gli acidi grassi omega-3 e omega-6, quindi, possono essere e sono utilizzati per la produzione di alimenti funzionali; inoltre, l'aumento di interesse per i vantaggi sanitari potenziali associati al consumo di acidi grassi n-3 a lunga catena ha condotto alla vendita di supplementi e cibi fortificati che li contengono.

In tale ambito si inserisce questo lavoro di tesi, il cui obiettivo è quello di testare la fattibilità della produzione e l'accettabilità da parte dei consumatori di una salsa maionese ricca in acidi grassi omega 3 e 6; la presenza di tali composti è dovuta all'aggiunta nella formulazione di olio di noce.

La fattibilità produttiva di questa salsa maionese innovativa è stata valutata attraverso una caratterizzazione sensoriale e strumentale, ottenuta da prove reologiche dinamico-meccaniche, osservazione della microstruttura tramite microscopia a scansione elettronica, analisi colorimetrica e del pH, determinazione dell'acidità, del numero di perossidi e della composizione acidica della matrice lipidica estratta dalla maionese prodotta.

L'accettabilità da parte dei consumatori è stata valutata utilizzando le due metodiche della *Consumer Science* e cioè effettuando dei *Focus group interviews* e successivamente dei *consumer tests*. Obiettivo di questa fase del progetto è stato valutare l'effetto della presenza contestuale di differenti alimenti sul giudizio di accettabilità e di gradimento degli attributi sensoriali della maionese, in presenza e in assenza del messaggio salutistico.

La maionese è stata prodotta con olio di girasole parzialmente o totalmente sostituito da olio di noce; per ogni livello di sostituzione dell'olio di girasole sono stati prodotti due lotti di maionese; in particolare preparati a due differenti velocità di rotazione dell'omogenizzatore: 600 e 1200 giri al minuto (rpm). I prodotti sono stati stoccati per 90 giorni durante i quali sono state effettuate le misure strumentali, mentre per i prodotti freschi sono stati determinati anche i profili sensoriali e l'accettabilità da parte dei consumatori.

#### **3.2. Disegno sperimentale: pianificazione delle analisi strumentali e sensoriali**

Il presente lavoro di tesi è stato effettuato utilizzando un disegno sperimentale fattoriale generale a tre fattori.

I tre fattori considerati sono:

1. composizione (A);
2. velocità di rotazione (B);
3. tempo di conservazione (C).

Ogni fattore ha diversi livelli ed in particolare cinque sono i livelli della composizione (0, 25, 50, 75 e 100% olio di noce), due i livelli del fattore numero di giri (600 e 1200 rpm) e quattro i livelli del fattore tempo di conservazione (2, 31, 60 e 90 giorni).

Per studiare gli effetti di A, B e C e le interazioni tra gli effetti AxB, AxC, BxC e AxBxC è stata effettuata l'analisi della varianza multivariata; per evidenziare se ci fossero differenze significative tra i prodotti in analisi è stato effettuato il test di Duncan ed il t-test.

Bisogna tener conto che per la caratterizzazione sensoriale dei campioni e per studiare l'accettabilità da parte dei consumatori sono stati utilizzati esclusivamente campioni freschi, quindi il disegno sperimentale adottato è un disegno fattoriale generale a due fattori (A e B).

Per studiare gli effetti di A e B e le interazioni tra gli effetti AxB è stata effettuata l'analisi della varianza multivariata; per evidenziare se ci fossero differenze significative tra i prodotti in analisi è stato effettuato il test di Duncan ed il t-test.

Inoltre, sia le analisi gas-cromatografiche la determinazione dell'acidità e del numero di perossidi sia l'osservazione della microstruttura, quest'ultima analisi molto onerosa sia in termini economici che in termini di tempo di preparazione dei campioni, sono state effettuate su tutti i campioni prodotti considerando però esclusivamente quattro tempi di conservazione: 2, 31, 60 e 90 giorni.

## 4. MATERIALI E METODI

### 4.1. Materiali

#### 4.1.1. Campioni commerciali di maionese

Per poter preparare campioni sperimentali di maionese simili, per composizione e sapore, ai prodotti commerciali, sono stati acquistati, in diversi supermercati locali e non, numerosi *brand* di salsa maionese.

Di seguito sono elencati gli ingredienti ed in alcuni casi la concentrazione percentuale di alcuni di essi riportati sulle etichette nutrizionali dei prodotti acquistati.

1. KRAFT classica: olio di semi di girasole (70%), uova fresche e tuorlo d'uovo fresco pastorizzato (9.5%), acqua, aceto di vino, succo di limone, sale, zucchero, amido modificato, aromi, correttore di acidità (acido lattico).
2. KRAFT *legeresse*: acqua, olio di semi di girasole (39%), uova fresche pastorizzate e tuorlo d'uovo fresco pastorizzato (8%), amido modificato, aceto di vino, sale, succo di limone, zucchero, correttore di acidità (acido lattico), conservante (sorbato di potassio), aromi.
3. KRAFT (tubetto): olio di semi di girasole (75%), uova fresche pastorizzate con tuorlo di uova fresche pastorizzate (9.5%), acqua, aceto di vino, succo di limone, sale, zucchero, amido modificato, aromi.
4. CALVÉ (barattolo): olio di semi (70%), acqua, tuorlo d'uovo fresco pastorizzato, aceto di vino, amido modificato, sale, correttore di acidità.
5. CALVÉ (monodose): oli vegetali (65%), acqua, tuorlo da uova pastorizzate, aceto di vino, zucchero, amido di frumento, sale da cucina, conservante: acido ascorbico; addensanti: farina di semi di carrube, gomma di guar; aromi (contiene senape e sedano), succo di limone concentrato, colorante beta carotene.
6. CALVÉ (tubetto): olio di semi di girasole (70%), acqua, tuorlo da uova fresche pastorizzate, aceto di vino, amido modificato di mais, sale, succo di limone, aromi naturali.
7. GAIA (monodose): olio di semi di girasole (79%), uova fresche pastorizzate (8%), aceto, tuorlo d'uovo fresco pastorizzato (3%), sale, zucchero, succo di limone, aromi, può contenere tracce di senape.
8. Le salse COLUMBUS maionese gastronomica: olio di semi di girasole (58%), acqua, uova fresche pastorizzate (14%), aceto di vino, amido modificato, zucchero, sale, succo di limone, senape, aromi naturali, conservanti: potassio di sorbato; correttore di acidità: acido lattico.
9. MAYONNAISE DEVELEY (l'originale ricetta Mc Donald's): olio vegetale (79%), agro di spirito, tuorlo d'uovo, zucchero, sale, spezie (con senape), aromi naturali.
10. MAIONESE PAM (Panorama): olio di semi di girasole (80%), uova fresche pastorizzate (12%), aceto di vino, zucchero, sale, succo di limone (0.5%), aromi.
11. TUSCÉ (monodose): olio di semi di girasole (75%), uova pastorizzate (10%), aceto di vino, succo di limone, sale, zucchero, amido modificato di mais, aroma.

#### 4.1.2. Campioni funzionali di maionese

La preparazione dei campioni di maionese è stata effettuata dopo un attento studio degli ingredienti e delle concentrazioni di tali ingredienti riportate sulle etichette nutrizionali dei campioni commerciali.

La preparazione dei campioni sperimentali è stata fatta utilizzando olio di girasole e/o olio di noce, tuorlo d'uovo fresco pastorizzato, aceto, succo di limone, sale. È stato utilizzato olio di semi di girasole "Olindo", acquistato presso l'azienda di Giorgio Borrelli e figli s.p.a. di Portici (NA); in tabella 4.1. sono riportati il valore energetico e la composizione in macronutrienti riportati in etichetta.

**Tab. 4.1.** Valore energetico e composizione in macronutrienti dell'olio di semi girasole Olindo.

<b>PER 100g DI PRODOTTO</b>	
Valore energetico	825 kcal / 3394 kJ
Proteine	0g
Carboidrati	0g
Grassi, di cui:	91 g
saturi	11g
monoinsaturi	27g
polinsaturi	53g

L'olio di noce, ottenuto con un processo di spremitura a freddo dei gherigli di noci (*Junglas regia*) selezionate provenienti da coltivazioni biologiche controllate, è stato fornito dalla ditta Organic Oils s.p.a. (PG). Nella tabella 4.2. sono riportati la composizione acidica, l'acidità e il numero di perossidi dell'olio di noce, tali informazioni sono state tratte dalla scheda tecnica del prodotto.

**Tab. 4.2.** Composizione acidica, acidità e numero di perossidi dell'olio di noce.

<b>COMPOSIZIONE IN ACIDI GRASSI, ESPRESSI IN PERCENTUALI DI ESTERI METILICI</b>	
Acido palmitico C14:0	6
Acido stearico C18:0	3
Acido oleico C18:1	22
Acido linoleico C18:2	56
Acido linolenico C18:3	9
Acido trans oleico C18:1t	Max 0.05
Σ trans C18:2 + C18:3	Max 0.01
Acidità (% acido oleico)	≤1.0
Numero di perossidi (meq O <sub>2</sub> /kg)	≤8.0

È stato utilizzato tuorlo d'uovo pastorizzato AIA, prodotto da AIA s.p.a. di S. Martino (VR), in tabella 4.3 sono riportati il valore energetico e la composizione.

**Tab. 4.3.** Valore energetico e composizione in macronutrienti di tuorlo d'uovo pastorizzato AIA.

<b>PER 100g DI PRODOTTO</b>	
Valore energetico	316 kcal / 1308 kJ
Proteine	15g
Carboidrati	1.0g
Grassi	28g

Come aceto di vino bianco (tab. 4.4.), è stato utilizzato quello prodotto dall'azienda Ponti nello stabilimento di Anagni (FR).

**Tab. 4.4.** Valore energetico, composizione in macronutrienti ed acidità di aceto di vino bianco Ponti.

<b>PER 100g DI PRODOTTO</b>	
Valore energetico	21kcal/86kJ
Proteine	0.1g
Carboidrati	0.05g
Grassi	0g
Acidità	6%

Il succo di limone "Limmy" è prodotto da B&G s.r.l. (PG) e contiene: spremuta di 6-8 limoni di Sicilia (99.97%), olio essenziale di limone, antiossidante: metabisolfito di potassio. In tabella 4.5. sono riportati il valore energetico e la composizione in macronutrienti riportati sull'etichetta del succo di limone utilizzato.

**Tab. 4.5.** Valore energetico, composizione in macronutrienti ed acidità del succo di limone.

<b>PER 100g DI PRODOTTO</b>	
Valore energetico	24.2kcal
Proteine	0.2g
Carboidrati	2g
Grassi	0.1g

Infine, il sale distribuito dalla Italkali s.p.a. è stato acquistato presso un supermercato locale.

## **4.2. Metodi**

### **4.2.1. Preparazione dei campioni**

I campioni di maionese sono stati preparati a partire da una formulazione base, contenente:

- 78,22% (700 g) di olio di girasole;
- 16,76% (150 g) di tuorlo d'uovo fresco pastorizzato;
- 3,35% (30 g) di aceto;
- 1,10% (9 g) di succo di limone;
- 0,67% (6 g) di sale;

per una quantità totale di 895 g di maionese.

Da questa formulazione sostituendo parzialmente o totalmente la frazione lipidica rappresentata dall'olio di semi di girasole con olio di noce sono stati prodotti campioni di maionese a diverso contenuto di olio di noce.

Sono stati prodotti, quindi, campioni di maionese contenenti 100%, 75%, 50% e 25% di olio di noce; la parte lipidica complementare a 100 per tutti i livelli di sostituzione dell'olio di semi di girasole è rappresentata, ovviamente, dall'olio di semi di girasole.

Tutti i campioni di maionese sono stati preparati in 23 minuti ad una temperatura costante di 20°C, utilizzando un omogeneizzatore (*UMC 5 electronic, Stephan, Germany*) che lavora a pressione atmosferica.

Per tutte le formulazioni, inoltre, sono stati preparati due lotti di campioni, uno miscelando a 600 rpm e l'altro miscelando a 1200 rpm.

Durante la preparazione dei campioni l'ordine con cui sono stati aggiunti gli ingredienti è stato il seguente: 150g di tuorlo d'uovo fresco pastorizzato (16,76%) sono stati introdotti nell'emulsionatore e agitati per un minuto; nei 5 minuti successivi circa un terzo (230 g) dell'olio totale (78,22%) è stato aggiunto lentamente al tuorlo d'uovo; si è proceduto con l'aggiunta di sale, lasciando in agitazione il composto per 1 minuto e 30 secondi; la restante frazione di olio è stata addizionata gradualmente in 10 minuti, nei successivi 30 secondi sono stati aggiunti all'emulsione succo di limone ed aceto; la miscelazione è continuata per ulteriori 5 minuti.

I campioni contenenti una miscela di olio di semi di girasole ed olio di noci sono stati preparati aggiungendo prima olio di girasole e successivamente la restante parte di olio di noce.

La maionese preparata è stata stoccata in contenitori trasparenti, sterili, coperti con carta alluminio; i prodotti sono stati conservati per 90 giorni in frigorifero ad una temperatura compresa tra 2 e 5°C.

### **4.2.2. Analisi reologica**

Per effettuare la caratterizzazione reologica è stato utilizzato un reometro rotazionale a deformazione controllata ARES-LS (*Advanced Rheometric Expansion System*) della *Rheometric Scientific, Inc. Piscataway, NY, USA*, equipaggiato con una geometria a piatti piani e paralleli aventi diametro pari a 50 mm.

Tutte le misure sono state condotte ad una temperatura di 20°C, mantenuta costante, grazie ad un elemento Peltier (*Nestilab Analitica control, Cin, Italia*).

Ogni campione è stato posto sul piatto inferiore del reometro, utilizzando una spatola. Successivamente il piatto superiore dello strumento è stato avvicinato al campione per poterne garantire la completa adesione, la distanza tra il piatto superiore e quello inferiore è stata fissata a 2 mm. L'eccesso di campione è stato rimosso utilizzando una spatola.

Prima di effettuare ogni prova il campione è stato fatto sostare tra i piatti dello strumento per 200 secondi, al fine di far rilassare lo sforzo indotto durante il suo caricamento.

Affinché i test effettuati potessero essere considerati davvero significativi, tutte le prove sono state ripetute almeno tre volte.

#### *4.2.2.1. STRAIN SWEEP TEST*

Test di *strain sweep* sono stati condotti, sottoponendo i campioni ad una deformazione oscillante ( $\epsilon$ , %) la cui ampiezza è stata fatta variare tra 0.01 e 100%, alla frequenza ( $\omega$ ) di 1 rad/s; tale test è stato effettuato per indagare il campo di viscoelasticità lineare del campione.

#### *4.2.2.2. FREQUENCY SWEEP TEST*

I test di *frequency sweep*, sono condotti nell'intervallo di frequenza di oscillazione compreso tra 0.01 e 100 rad/s applicando ai campioni in analisi una deformazione costante (0.5%), appartenente al campo di viscoelasticità lineare. Sono stati monitorati gli andamenti del modulo elastico,  $G'$  (Pa), e del modulo dissipativo,  $G''$  (Pa), in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s).

#### **4.2.3. S.E.M.: osservazione della microstruttura**

L'osservazione della struttura attraverso il S.E.M. è stata effettuata su tutti i campioni preparati a 600 e 1200 rpm considerando però soltanto quattro tempi di conservazione: 2, 31, 60 e 90 giorni.

I campioni di maionese sono stati incapsulati in agar al 2.5% a 45°C e successivamente tagliati in cubetti con lato di 3-4 mm (Worrasinchai *et al.*, 2006).

I campioni così preparati sono stati fissati per tutta la notte in una soluzione tampone 0.1M (pH 7.3) contenente il 2% di gluteraldeide. Successivamente, dopo almeno tre risciacqui in tampone fosfato, i campioni sono stati fissati tutta la notte in una soluzione tampone 0.1M (pH 7.3) contenente il 2% di tetraossido di osmio.

Dopo diversi risciacqui con tampone fosfato sono stati deidratati in una serie di soluzioni graduate di etanolo (50, 70, 90, 95, 99 e 100%, 30 minuti in ognuna) (Worrasinchai *et al.*, 2006).

Tutte le operazioni descritte sono state effettuate sotto cappa chimica, utilizzando guanti adatti alla manipolazione di sostanze chimiche e vetreria monouso.

Successivamente i campioni sono stati essiccati fino al punto critico con CO<sub>2</sub>; i cubetti sono stati sezionati e i frammenti ottenuti sono stati posizionati su stubs di alluminio e coperti con oro.

Le immagini digitali sono state acquisite usando un microscopio a scansione elettronica LEO EVO 40 (Zeiss, Germania) con 20 kV d'accelerazione di voltaggio; le immagini acquisite sono state acquisite con diversi ingrandimenti 2000, 4000, 6000 e 15000X.

#### **4.2.4. GC-FID: analisi degli acidi grassi**

La determinazione quantitativa della composizione acidica della componente lipidica della maionese è stata effettuata su tutti i campioni preparati a 600 e 1200 rpm considerando però soltanto quattro tempi di conservazione: 2, 31, 60 e 90 giorni.

L'estrazione della componente lipidica dalla maionese è stata effettuata attraverso diversi *steps*:

1. congelamento dei i campioni per 48-72 ore;
2. sosta dei campioni per circa 2 ore a temperatura ambiente;
3. centrifugazione a 3500 giri al minuto per 10 minuti a 4°C;
4. centrifugazione a 10000 giri al minuto per 30 minuti a 4°C;

In caso di mancata separazione della componente lipidica sono stati nuovamente eseguiti gli *steps* sopra descritti.

L'analisi gas-cromatografica degli acidi grassi si basa su una reazione di transesterificazione che consiste nella trasformazione dei trigliceridi in esteri metilici (Nota *et al.*, 1995).

A tale scopo è stata preparata una soluzione composta da 200µl di potassa metabolica 2N e 1ml di una soluzione all'1% di grasso in esano. La soluzione è stata agitata vigorosamente per circa un minuto ed è stata lasciata a riposo fino a quando le due fasi non si sono separate completamente.

La fase superiore (esanica) è stata analizzata mediante gas-cromatografia.

Strumentazione

L'analisi gas-cromatografica degli acidi grassi è stata effettuata con:

- Gas-cromatografo con rilevatore a ionizzazione di fiamma (FID) Agilent mod. 6850 serie II;
- Colonna capillare in silice fusa 50m 0,25 i.d., 0,25 µm f.t. (*film thickness*), con fase stazionaria 90% bis-Cianopropyl methyl Silicon (Quadrex 007-23) (Quadrex Corporation, CT, USA).

Condizioni operative

- Programmata camera: 120°C per 2 minuti, incremento di 10°C al minuto fino a 250°C, sosta a 250°C per 5 minuti.
- Programmata iniettore: 120°C incremento di 550°C a 1 minuto fino a 250°C, sosta a 250°C per 7 minuti.

L'identificazione dei picchi è stata effettuata confrontando i tempi di ritenzione ottenuti iniettando una miscela di *standards* di esteri metilici di acidi grassi puri. Per la quantificazione è stato utilizzato il metodo della normalizzazione interna previo calcolo del fattore di correzione.

I fattori di correzione sono riportati nella tabella 4.6.

**Tab. 4.6.** Fattori di correzione degli acidi grassi ottenuti attraverso il metodo della normalizzazione interna.

ACIDI GRASSI	FATTORE DI CORREZIONE
C16:0	1,05
C16:1	0,94
C17:0	1,04
C18:0	1,06
C18:1	0,91
C18:2	1
C18:3	1,08
C20:1	1,14

#### **4.2.5. Analisi dell'acidità**

La determinazione quantitativa dell'acidità della maionese prodotta è stata effettuata sulla componente lipidica di tutti i campioni preparati a 600 e 1200 rpm, considerando soltanto quattro tempi di conservazione: 2, 31, 60 e 90 giorni.

L'estrazione della componente lipidica dalla maionese è stata effettuata come descritto nel paragrafo 4.2.4.

La misura dell'acidità è la determinazione usata per la valutazione della qualità merceologica degli oli vegetali.

Gli acidi grassi liberi sono stati determinati seguendo la procedura NGD C 10-1976.

Il risultato è espresso in g di acido oleico / 100g di olio. La determinazione è stata effettuata in triplice per ogni campione.

Per l'esecuzione di questa analisi sono stati pesati circa 5 g di olio, a cui sono stati aggiunti 80 ml di una miscela alcool-etero 1:2 e qualche goccia di fenoftaleina all'1%. La titolazione è stata effettuata fino al viraggio con NaOH 0.1N.

L'acidità è stata ricavata dalla seguente formula:

$$A = [(V * N * 282) / 1000] / p * 100 \quad [4.1]$$

dove: V = ml di NaOH utilizzato; N = normalità della soluzione di NaOH; p = quantitativo di olio pesato espresso in grammi; 282 = peso equivalente dell'acido oleico.

#### **4.2.6. Analisi del numero di perossidi**

Il grado di irrancidimento ossidativo dell'olio è stato valutato mediante la determinazione del numero di perossidi secondo il Reg. CE 1989/03.

La determinazione del numero di perossidi è stata effettuata sulla componente lipidica di tutti i campioni preparati a 600 e 1200 rpm, considerando soltanto quattro tempi di conservazione: 2, 31, 60 e 90 giorni.

L'estrazione della componente lipidica dalla maionese è stata effettuata come descritto nel paragrafo 4.2.4.

Il numero di perossidi misura la concentrazione in idroperossidi: prodotti primari dell'autossidazione delle sostanze grasse espressi in meq di O<sub>2</sub> attivo/ kg di sostanza grassa.

La determinazione consiste in una titolazione con Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> • 5H<sub>2</sub>O dello iodio liberato per ossidazione di una soluzione di KI da parte dei perossidi.

Per l'esecuzione di questa analisi, in una beuta con tappo a smeriglio sono stati pesati circa 5 g di olio, a cui sono stati aggiunti 25 ml di una miscela di acido acetico-cloroformio (3:2) e 0,5 ml di una soluzione satura di KI. Dopo agitazione per circa un minuto, la soluzione è stata lasciata al buio per 5 minuti. Successivamente, la soluzione è stata diluita con 75 ml di acqua distillata e in presenza di salda d'amido lo iodio che si è liberato è stato titolato con una soluzione 0.01N di Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> • 5H<sub>2</sub>O.

Il N.P. è ricavato dalla seguente espressione:

$$NP = (N \cdot V \cdot 1000) / p \quad [4.2]$$

dove: V = ml della soluzione di Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> • 5H<sub>2</sub>O impiegati; N = normalità della soluzione di Na<sub>2</sub>O<sub>3</sub>S<sub>2</sub> • 5H<sub>2</sub>O; p = quantitativo di olio pesato espresso in grammi.

#### **4.2.7. Analisi del pH**

La valutazione del pH dei campioni è stata eseguita mediante l'ausilio di un pHmetro *Mettler Toledo mod. MP 220*, dotato di un elettrodo per i solidi (*mod. In Lab<sup>®</sup> 427*) e caratterizzato da un'accuratezza pari a ± 0.01.

Prima di effettuare la misura del pH dei campioni di maionese, è stata effettuata la taratura, utilizzando due soluzioni, a pH=4 e pH=7.

Le misure, per ogni campione, sono state sempre ripetute tre volte.

#### **4.2.8. Analisi colorimetrica**

La valutazione del colore è stata eseguita mediante un colorimetro a riflettanza *MINOLTA Chroma Meter, modello CR-300*, provvisto di una testa di misura ad immersione con un'apertura di 8mm di diametro, illuminante D65, geometria dell'illuminante d/0 e calibrazione standard CR-A43.

Le misure sono state espresse mediante le coordinate cromatiche *L*, *a* e *b*, dove: il parametro *L* (luminosità) indica lo spettro dal bianco al nero e varia da 0 (nero) a 100 (bianco), *a* rappresenta lo spettro dal verde al rosso e varia in un *range* tra -60 (verde) e +60 (rosso), *b* indica lo spettro dal blu al giallo e varia da -60 (blu) a +60 (giallo).

Prima di ogni misura è stato necessario procedere con la taratura dello strumento.

Per ogni campione, sono state effettuate sempre tre repliche.

#### **4.2.9. Analisi sensoriale**

##### **4.2.9.1. ANALISI QUANTITATIVA DESCRITTIVA**

La determinazione del profilo sensoriale dei campioni di maionese è stata effettuata mediante l'analisi quantitativa descrittiva (QDA). Sono stati utilizzati giudici precedentemente selezionati presso il laboratorio di analisi sensoriale del Dipartimento di Scienza degli Alimenti.

La giuria composta da otto assaggiatori è stata opportunamente addestrata nel corso di diversi incontri.

Durante la prima riunione sono stati presentati tre campioni di maionese contenenti rispettivamente 0%, 50%, 100% di olio di noce, in modo da permettere la familiarizzazione col prodotto.

Ogni assaggiatore ha ricevuto una scheda cartacea sulla quale ha riportato una lista di descrittori ritenuti caratterizzanti per i prodotti presentati; successivamente le singole liste sono state messe in discussione ottenendo così un unico elenco condiviso di descrittori.

Durante la stessa seduta i giudici in accordo con il panel leader hanno proposto le tecniche di valutazione per ogni descrittore individuato.

Durante la seconda riunione i giudici, utilizzando i campioni presentati nella seduta precedente, hanno iniziato l'addestramento con le scale lineari non strutturate, le hanno ancorate agli estremi ed hanno assegnato un valore di intensità a ciascun attributo preso in considerazione per i tre campioni presentati.

I descrittori, le relative tecniche di valutazione e le scale utilizzate sono elencati in tabella 4.6.

**Tab. 4.6.** Tecniche di valutazione sensoriale.

---

**VALUTAZIONE VISIVA:**

---

**colore:** valutazione dell'intensità del colore, la scala va da 0 = chiaro a 10 = scuro.

---

**VALUTAZIONE OLFATTO-GUSTATIVA:**

---

**odore di aceto:** tipico odore di acidità che deriva dall'aceto, rilevato con la tecnica dello sniffing, la scala va da 0 = assente a 10 = molto intenso.

**odore di limone:** tipico odore di limone, rilevato con la tecnica dello sniffing, la scala va da 0 = assente a 10 = molto intenso.

**odore di noce:** tipico odore di noce, rilevato con la tecnica dello sniffing, la scala va da 0 = assente a 10 = molto intenso.

**odore globale:** tipico odore di maionese, rilevato con la tecnica dello sniffing, la scala va da 0 = assente a 10 = molto intenso.

**sapore acido:** sapore fondamentale acido, la scala va da 0 = assente a 10 = molto intenso.

**sapore salato:** sapore fondamentale salato, la scala va da 0 = assente a 10 = molto intenso

**sapore amaro:** sapore fondamentale amaro, la scala va da 0 = assente a 10 = molto intenso.

**flavour di noce:** percezione del flavour di noce, l'intensità del flavour va da 0 = assente a 10 = molto

---

**VALUTAZIONE DELLA TEXTURE:**

---

**spalmabilità:** spalmare con la spatola i campioni posti sulla mattonella, e valutare la forza richiesta per effettuare l'operazione; la scala va da 0 = per niente spalmabile a 10 = molto spalmabile

**densità:** porre il campione tra lingua e palato e valutarne la densità; la scala va da 0 = poco denso a 10 = molto denso.

**untuosità:** sensazione di grasso nella bocca, che accompagna e segue la masticazione del campione; la scala va da 0 = assente a 10 = molto intenso.

**fluidità:** mescolare il campione col cucchiaino e valutare la forza richiesta per effettuare l'operazione, la scala va da 0 = per niente fluido a 10 = molto fluido.

---

Successivamente, sono state eseguite tre sedute di addestramento in cabina, in modo tale da verificare l'adeguatezza dei descrittori scelti e per consentire al panel *leader* di testare la riproducibilità dei giudici.

È seguita, poi, la fase di analisi vera e propria. Ad ogni seduta, sono stati presentati ai giudici campioni di maionese identificati mediante codici numerici a tre cifre e serviti in ordine randomizzato.

Ogni campione è stato presentato in un bicchierino di plastica bianco, a temperatura ambiente, in quantità pari a 15 g.

Oltre ai campioni è stato servito del pane bianco e dell'acqua a temperatura ambiente, per evitare affaticamento sensoriale nei giudici.

I campioni sono stati presentati in ordine randomizzato e serviti in bicchierini identificati da codici numerici a tre cifre, contenenti 15 g di campione. In un'unica seduta i giudici hanno valutato tutti i descrittori.

La valutazione degli attributi di *texture* è stata effettuata illuminando le cabine con luce rossa per evitare che il diverso colore dei campioni, dovuto al diverso contenuto in olio di noce, la influenzasse.

I dati forniti dal panel sono stati raccolti utilizzando il software FIZZ Acquisition, *Biosystemes Couternon, France*.

#### 4.2.9.2. FOCUS GROUP

Sono stati analizzati tre campioni di maionese (A, preparato sostituendo il 25% di olio di girasole con olio di noci, campione target; B, preparato sostituendo il 50% di olio di girasole con olio di noci, e C, preparato con il 100% di olio di girasole, campioni distrattori).

Sono stati organizzati tre incontri, ai quali hanno partecipato in media 7 persone con un'età media di 37 anni (*range* 20-50), nel corso dei quali sono stati utilizzati, come stimoli per la discussione, i tre campioni di maionese. I *Focus Group* hanno permesso di ottenere informazioni utili su: gli alimenti ai quali si accompagna la maionese; le opinioni dei consumatori sui prodotti funzionali; la terminologia adatta per il messaggio salutistico; gli attributi sensoriali della maionese.

Per facilitare la discussione sugli attributi sensoriali, durante l'ultima fase di ogni intervista è stato effettuato un assaggio dei campioni. Ogni intervista è durata circa un'ora, è stata registrata e trascritta.

#### 4.2.9.3. CONSUMER TEST

82 studenti della Facoltà di Agraria, dell'Università degli Studi di Napoli (28 uomini, età media di 23 anni) hanno valutato i tre campioni di maionese in due fasi. Durante la prima fase hanno valutato i tre campioni di maionese in *blind*. Circa 10g di ogni campione è stato presentato, in ordine randomizzato, in bicchierini di plastica corredati di cucchiaini e identificati da codici numerici a tre cifre. Per ogni campione, in ordine di presentazione, sono stati valutati diversi indici. Prima della valutazione dei campioni, i soggetti hanno risposto utilizzando apposite scale di valutazione ad alcune domande circa il gradimento (1 = non mi piace per niente, 9 = mi pica tantissimo), frequenza di consumo (1 = mai, 7 = ogni giorno) e il grado di appetito (1 = per niente affamato, 9 = veramente tanto affamato).

Successivamente, ai soggetti è stato chiesto di valutare prima l'aspetto e stimare il gradimento atteso dal campione, poi l'odore del campione e valutare il gradimento dell'odore, infine di assaggiare il campione servendosi del cucchiaino e valutare il gradimento globale, gradimento del sapore e gradimento della *texture*. Tutte le scale di valutazione utilizzate sono a nove punti con 1 =

non mi piacerà e 9 = mi piacerà molto, per il gradimento atteso e 1 = non mi piace e 9 = mi piace molto, per tutti gli altri gradimenti valutati.

All'uscita dalle cabine, i soggetti sono stati riuniti in sala riunioni per compilare un questionario; oltre alle informazioni sulle caratteristiche demografiche, il questionario comprendeva le seguenti scale: FNS (Pliner & Hobden, 1992), GHI (Roininen, Lähteenmäki & Tuorila, 1999), DSI (McCarthy, O'Sullivan, & O'Reily, 1999), e CSI (Steenkamp & Baumgartner, 1995).

Prima della seconda fase i soggetti sono stati suddivisi in due gruppi omogenei per età, sesso, gradimento e frequenza al consumo di maionese.

Il gruppo di controllo (C) ha valutato i campioni abbinati con i tre alimenti senza ricevere alcuna informazione. Il gruppo informato (I) ha valutato i campioni accompagnati dagli alimenti e dal messaggio salutistico senza alcuna informazione. Prima della valutazione dei campioni, i partecipanti hanno dato alcune informazioni circa il gradimento nei confronti dei cibi di accompagnamento. I tre campioni sono stati presentati in un totale di sei condizioni: il campione A in tre tempi veniva presentato con tutti gli alimenti; il campione B in due tempi veniva presentato con soltanto due alimenti; il campione C in un solo tempo, veniva accompagnato da un unico alimento. L'ordine di presentazione dei campioni è stato randomizzato.

I bicchierini di plastica contenenti ciascuno circa 10g di campione di maionese sono stati pesati prima e dopo l'assaggio, per calcolare il consumo di ogni campione.

#### **4.2.10. Analisi statistica dei dati: consumer test**

Il questionario è stato analizzato mediante analisi delle frequenze.

L'analisi della Varianza e il test di Duncan ( $p < 0,05$ ) sono stati utilizzati per analizzare i punteggi di gradimento *blind*.

I punteggi ottenuti dal campione A abbinato con i tre alimenti sono stati trasformati in differenze rispetto alla valutazione *blind*. Mediante l'analisi della varianza per misure ripetute è stato valutato l'effetto della modalità di consumo (tre livelli) sui giudizi di gradimento. I gruppi C ed I sono stati utilizzati come fattore tra soggetti. Le caratteristiche dei consumatori sono state utilizzate, una alla volta, come covariate nell'analisi della Varianza.

## 5. CARATTERIZZAZIONE REOLOGICA

Come è riportato in letteratura (Peressini *et al.*, 1998), la maionese esibisce un comportamento viscoelastico, dovuto al *network* formato dalle lipoproteine del tuorlo d'uovo intorno alle goccioline di olio.

Per poter analizzare il comportamento viscoelastico dei vari campioni di maionese prodotti, sono state eseguite due differenti prove dinamico-meccaniche:

- Prove di *strain sweep*
- Prove di *frequency sweep*

Le misure reologiche dinamico-meccaniche consentono di osservare i fenomeni di rilassamento che avvengono in tempi brevi, fornendo quindi informazioni sulla microstruttura dei campioni. In particolare, le prove di *strain sweep* sono state eseguite per determinare il campo di viscoelasticità lineare per ogni campione.

Tale campo rappresenta la regione in cui la risposta del materiale in esame risulta indipendente dall'ampiezza di deformazione ed è fondamentale per poter studiare la struttura ed il comportamento dei materiali viscoelastici (Ferry, 1980).

Le prove di *frequency sweep* sono state eseguite, mediante l'applicazione di una deformazione costante appartenente al campo di viscoelasticità lineare precedentemente individuato, monitorando l'andamento del modulo elastico ( $G'$ ) e del modulo dissipativo ( $G''$ ), entrambi espressi in Pa, in funzione della frequenza di oscillazione ( $\omega$ ), misurata in rad/s.

Per semplificare e rendere più chiara la discussione dei dati reologici, i campioni di maionese prodotti saranno identificati da lettere alfabetiche, come riportato in tabella 5.1.

**Tab. 5.1** Schematizzazione dei campioni di maionese prodotti a 600 e 1200 rpm.

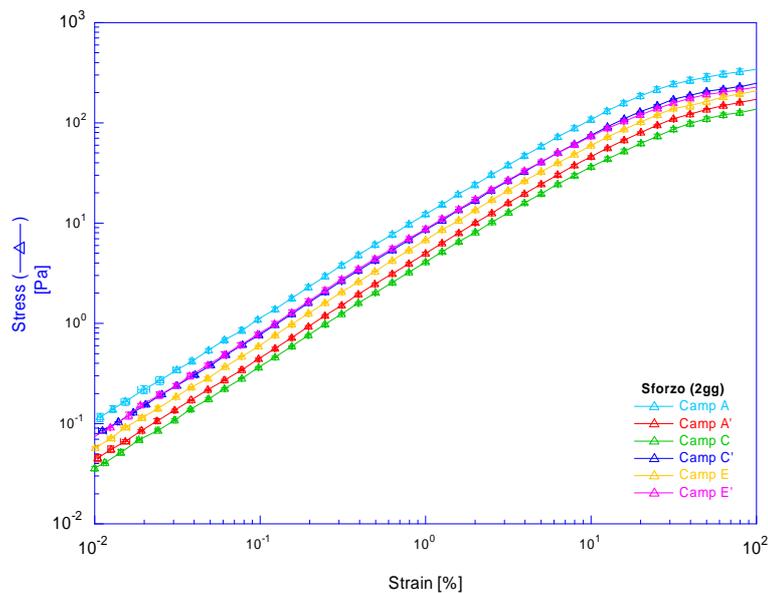
% olio di noci	600 rpm	1200 rpm
0	A	A'
25	B	B'
50	C	C'
75	D	D'
100	E	E'

### 5.1. Strain sweep test

In figura 5.1 sono rappresentati rispettivamente i risultati delle prove di *strain sweep* effettuate sui campioni di maionese A, A', C, C', E, E' conservati per 2; in particolare, per ogni campione sono riportati gli andamenti medi dello sforzo (Pa), di almeno tre ripetizioni, in funzione dell'ampiezza di deformazione (%).

Dalla figura 5.1, osservando l'andamento dello sforzo, è possibile notare che il campo di viscoelasticità lineare è molto ampio e si estende fino a valori dell'ampiezza di deformazione che vanno oltre 1 %.

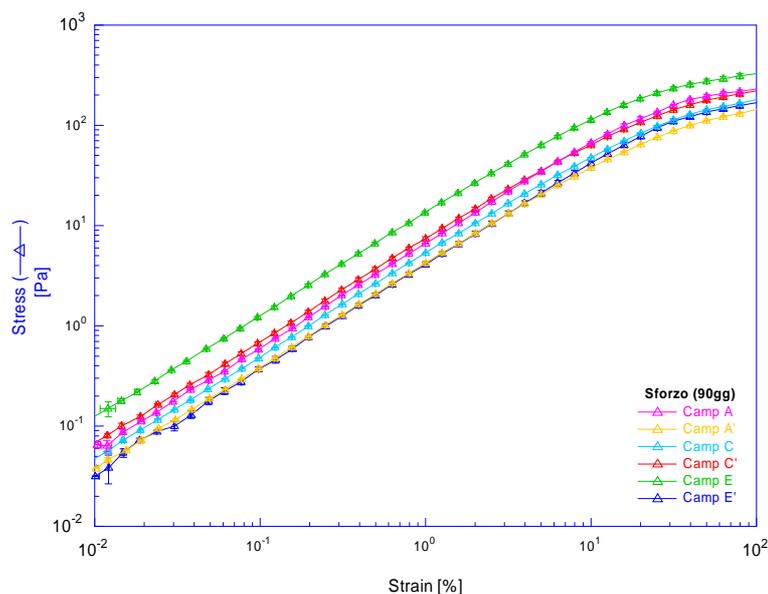
Nella regione di viscoelasticità lineare non si verificano fenomeni di slittamento del campione e la struttura stessa del prodotto rimane inalterata; superati i valori di ampiezza di deformazione entro il quale la risposta del campione resta costante, si ha una rottura della struttura con conseguente diminuzione delle proprietà elastiche della maionese in accordo con Mancini *et al.* (2002).



**Fig. 5.1** Sforzo (Pa) in funzione dell'ampiezza di deformazione (%) monitorati a 2 giorni di conservazione, per i campioni di maionese A, A', C, C', E e E'.

In figura 5.2 sono rappresentati rispettivamente i risultati delle prove di *strain sweep* effettuate sui campioni di maionese A, A', C, C', E, E' conservati per 90; in particolare, per ogni campione è riportato l'andamento medio dello sforzo, di almeno tre ripetizioni, in funzione dell'ampiezza di deformazione (%). Osservando tale figura possiamo affermare che con il trascorrere del tempo di conservazione non si hanno grandi cambiamenti di ampiezza della regione di viscoelasticità lineare.

Infatti, le prove di *frequency sweep* sono state svolte su tutti i campioni e per ogni tempo di conservazione utilizzando la stessa ampiezza di deformazione costante (0,05%).



**Fig. 5.2** Modulo elastico,  $G'$ , e modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione dell'ampiezza di deformazione (%) monitorati durante a 90 giorni di conservazione, per i campioni di maionese A, A', C, C', E e E'.

## 5.2. Frequency sweep test

In figura 5.3 e 5.4 è mostrato l'andamento dei moduli, elastico e viscoso, in funzione della frequenza di oscillazione rispettivamente dei campioni di maionese A e A', preparati a due differenti velocità dell'emulsionatore, 600 (Fig. 5.3) e 1200 (Fig. 5.4) rpm, e conservati per differenti tempi (2, 8, 18, 31, 45, 60 e 90 giorni).

Dai grafici (fig. 5.3) si evince chiaramente che i valori assunti dal modulo elastico sono maggiori, in tutti i giorni di conservazione considerati, dei valori assunti dal modulo viscoso, a tutte le frequenze investigate.

Inoltre, sia  $G'$  sia  $G''$  aumentano all'aumentare della frequenza in accordo con numerosi autori: Worrasinchai *et al.* (2006), Mancini *et al.* (2002), Santipanichwong *et al.* (2007), Ma & Barbosa-Canovàs (1995a e b).

Il comportamento reologico osservato nell'intervallo di frequenza investigato è strettamente correlato alla microstruttura della maionese, caratterizzata dalla presenza di una fase continua in cui le proteine dell'uovo costituiscono un network tridimensionale che circonda e interagisce con le goccioline di olio.

Secondo Peressini *et al.* (1998), questa emulsione può essere classificata come un gel debole poiché presenta un comportamento elastico più marcato di quello viscoso.

La microstruttura della maionese dipende fortemente dalla sua formulazione e dalle condizioni di processo adottate.

Inoltre, nel corso della conservazione possono intervenire numerosi eventi che potrebbero influenzare la stabilità della microstruttura conferita al prodotto in fase di produzione.

Dalle figure 5.3 e 5.4 è possibile evidenziare che:

1. i campioni preparati a 600 rpm (fig. 5.3) e a 1200 rpm (fig. 5.4) e conservati per soli due giorni, presentano differenti valori del modulo elastico solo nell'intervallo di frequenza di oscillazione che va da  $10^{-2}$  a  $10^0$  rad/s. In particolare, la maionese preparata a 1200 rpm risulta più elastica di quella prodotta a 600 rpm.

Il modulo viscoso del campione A risulta caratterizzato da valori più elevati dei valori del modulo viscoso del campione A' in tutto l'intervallo di frequenza osservato.

2. entrambi i moduli diminuiscono nel corso della conservazione. L'effetto tempo appare sicuramente più marcato per i campioni di maionese preparati a 600 rpm (fig. 5.3) rispetto a quelli preparati a 1200 rpm (fig. 5.4). In quest'ultimo caso, inoltre, il modulo elastico risente poco dell'effetto del tempo di conservazione.

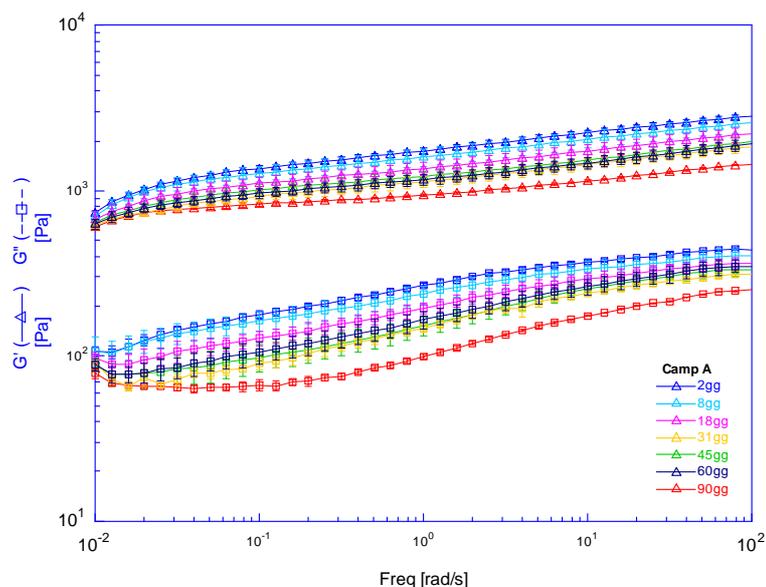
Il comportamento osservato può essere interpretato in termini di microstruttura: a velocità di rotazione dell'emulsionatore più basse corrispondono goccioline d'olio di maggiori dimensioni, quindi una struttura meno compatta.

Inoltre, a causa delle maggiori dimensioni, le goccioline d'olio tendono più facilmente al fenomeno della coalescenza, ovvero a fondersi per formare goccioline di massa e dimensioni maggiori.

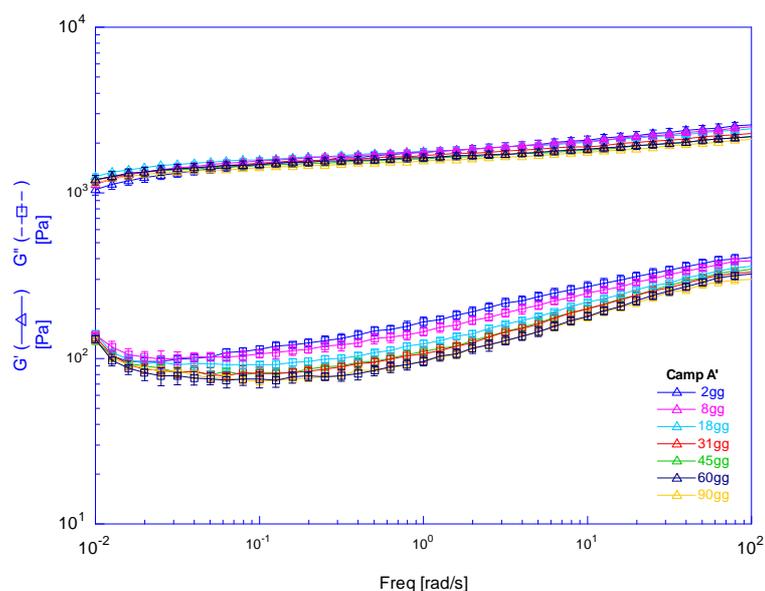
Infatti, è noto che le dimensioni della fase dispersa in emulsione, dipendono fortemente dalla velocità con la quale viene prodotta l'emulsione (Mc Clements, 1999).

Le maggiori dimensioni delle goccioline si ripercuotono sulla stabilità delle emulsioni prodotte, col passare del tempo i campioni diventano meno elastici, più fluidi, in accordo con quanto riportato nel lavoro sperimentale condotto da Mancini *et al.* nel 2002.

Dunque, la stabilità di un'emulsione può aumentare grazie alla riduzione delle dimensioni delle goccioline d'olio, ne consegue un effetto positivo anche sulla *shelf-life* del prodotto.



**Fig. 5.3** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione A.

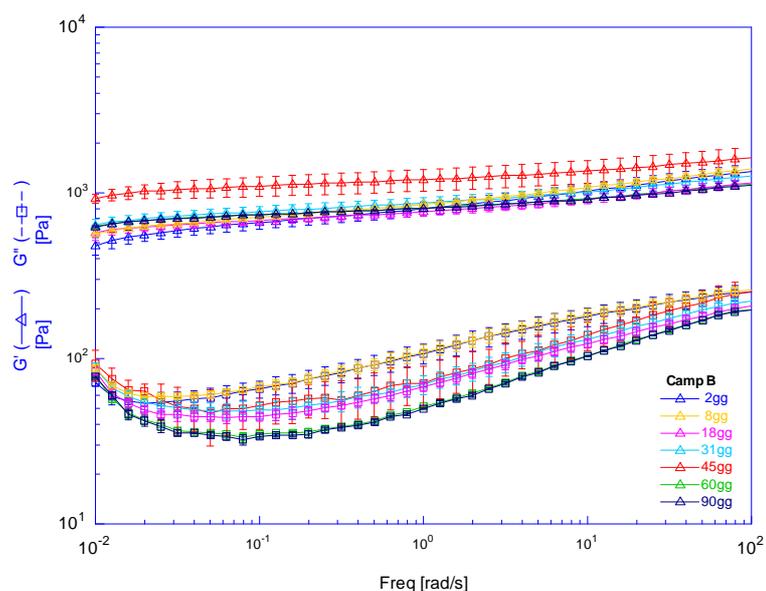


**Fig. 5.4** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione A'.

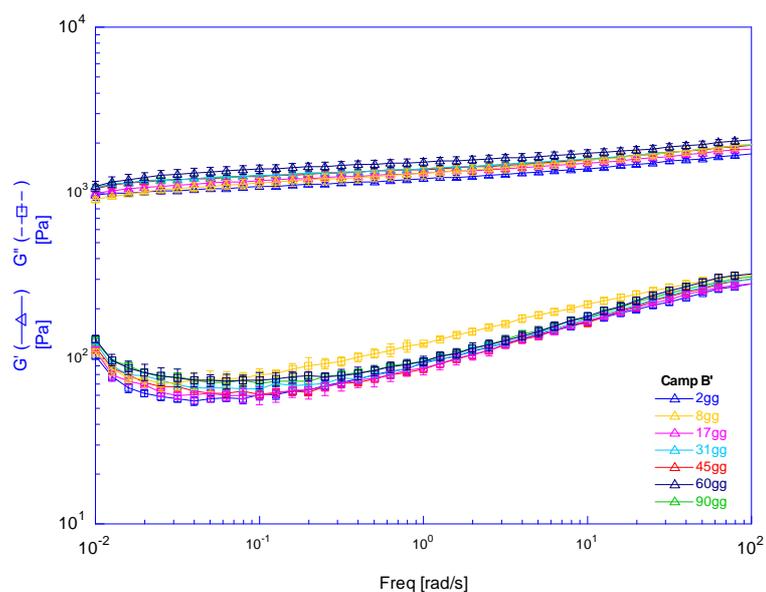
In figura 5.5 e 5.6 è mostrato l'andamento dei moduli, elastico e viscoso, in funzione della frequenza di oscillazione rispettivamente dei campioni di maionese B e B', preparati utilizzando il 25% di olio di noce, e conservati per differenti tempi (2, 8, 18, 31, 45, 60 e 90 giorni).

Dalle figure 5.5 e 5.6 è possibile evidenziare che:

1. i campioni preparati a 600 rpm (fig. 5.5) risultano meno elastici di quelli prodotti a 1200 rpm (fig. 5.6). Il modulo elastico del campione B, a bassi valori di frequenze investigate, assume valori molto inferiori a  $10^3$  Pa in quasi tutti tempi di conservazione considerati, solo nel giorno 45 tale valore sfiora  $10^3$  Pa. Al contrario, i moduli elastici del campione B' durante tutti i giorni di conservazione considerati assumono valori che si attestano intorno a  $10^3$  Pa.
2. nel corso della conservazione il campione B mostra un andamento del modulo elastico crescente fino al giorno 45 dopodiché il modulo  $G'$  registrato durante i giorni 60 e 90 si riporta intorno ai valori registrati nel giorno 31. Il campione B' nel corso della conservazione mostra anch'esso un andamento del modulo elastico crescente, ma in questo caso fino al giorno 60, il modulo  $G'$  registrato durante il giorno 90 si riporta intorno ai valori registrati nel giorno 31.
3. Come nel caso precedente, comunque, l'effetto tempo appare sicuramente più marcato per i campioni di maionese preparati a 600 rpm rispetto a quelli preparati a 1200 rpm. In quest'ultimo caso, inoltre, il modulo elastico risente poco dell'effetto del tempo di conservazione.



**Fig. 5.5** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione B.



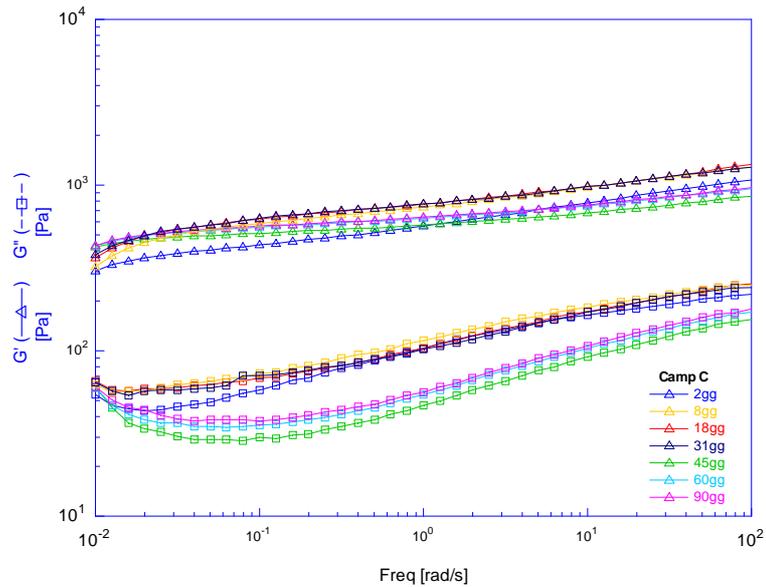
**Fig. 5.6** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione B'.

In figura 5.7 e 5.8 sono riportati i moduli dinamici in funzione della frequenza di oscillazione di campioni di maionese C e C', preparati con una sostituzione pari al 50% in olio di noce della frazione lipidica e conservati per tempi differenti.

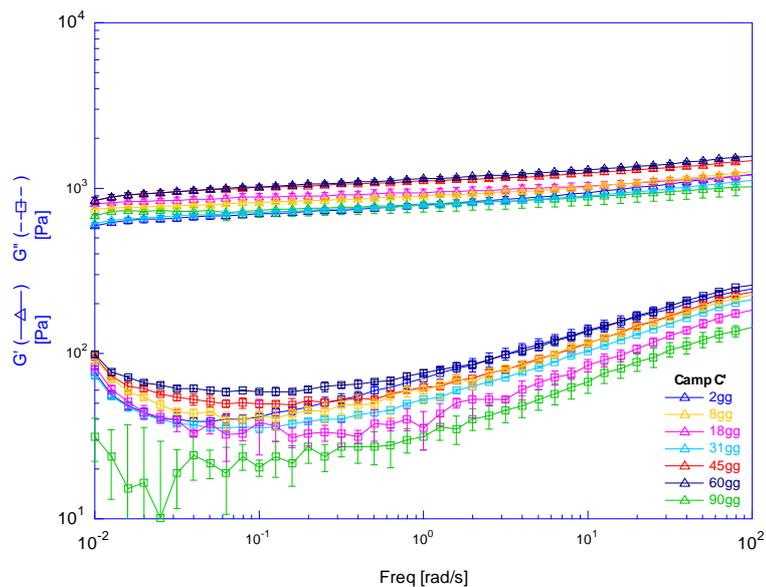
La sostituzione del 50% di olio di semi di girasole con olio di noce comporta, rispetto a quanto osservato per le due coppie di campioni precedenti A-A' e B-B', una generale riduzione dei valori

assunti dai moduli dinamici, che risulta essere più marcata per quelli preparati a 600 rpm rispetto a quelli preparati a 1200.

Quanto osservato potrebbe essere giustificato dalla presenza di una fase dispersa caratterizzata da goccioline di olio con una diversa distribuzione di dimensioni. Anche in questo caso, risulta evidente che nel corso della conservazione i moduli dinamici prima tendono ad aumentare per poi diminuire di nuovo.



**Fig. 5.7** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione C.



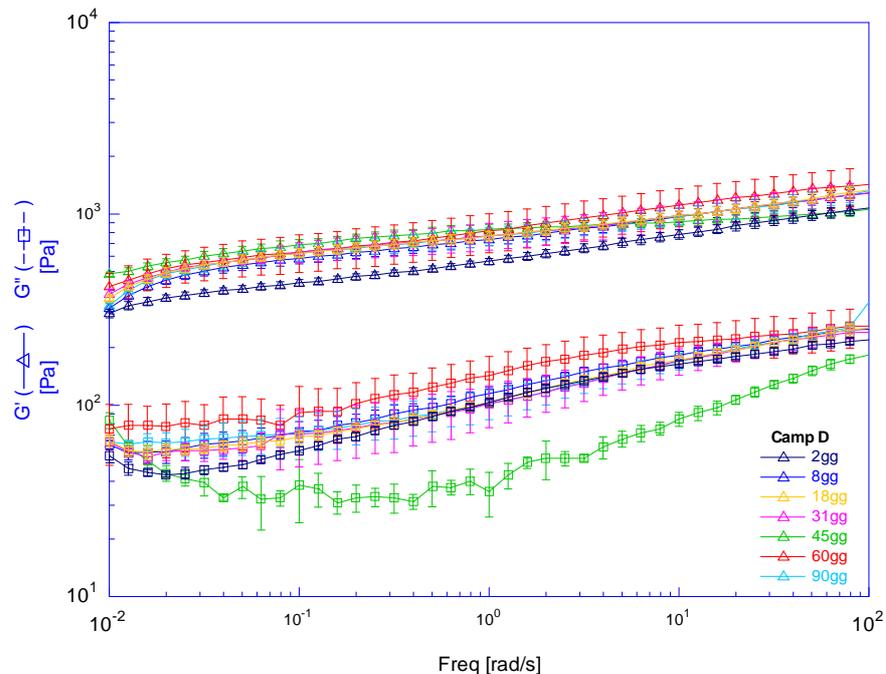
**Fig. 5.8** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione C'.

In figura 5.9 e 5.10 sono riportati i moduli dinamici in funzione della frequenza di oscillazione di campioni di maionese D e D', preparati con una sostituzione pari al 75% in olio di noce della frazione lipidica e conservati per tempi differenti.

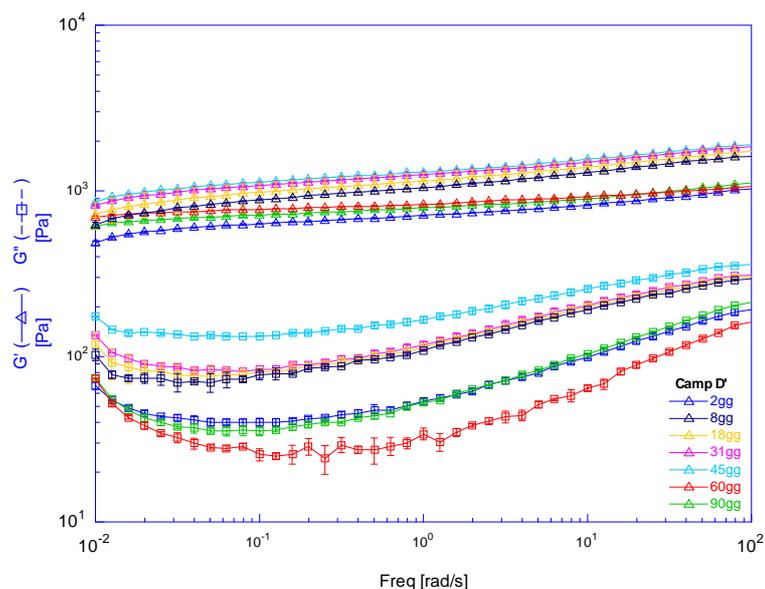
La sostituzione del 75% di olio di semi di girasole con olio di noce comporta una generale riduzione dei valori assunti dai moduli dinamici.

Dalle figure 5.9 e 5.10 è possibile evidenziare che:

1. i campioni preparati a 600 rpm risultano meno elastici di quelli prodotti a 1200 rpm.
2. nel corso della conservazione sia il campione D sia il campione D' mostrano un andamento del modulo elastico crescente fino al giorno 45 dopodiché il modulo  $G'$  registrato durante i giorni 60 e 90 si riporta intorno a valori inferiori.
3. come nei casi precedenti, comunque, l'effetto tempo appare sicuramente più marcato per i campioni di maionese preparati a 600 rpm rispetto a quelli preparati a 1200 rpm.



**Fig. 5.9** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione D.

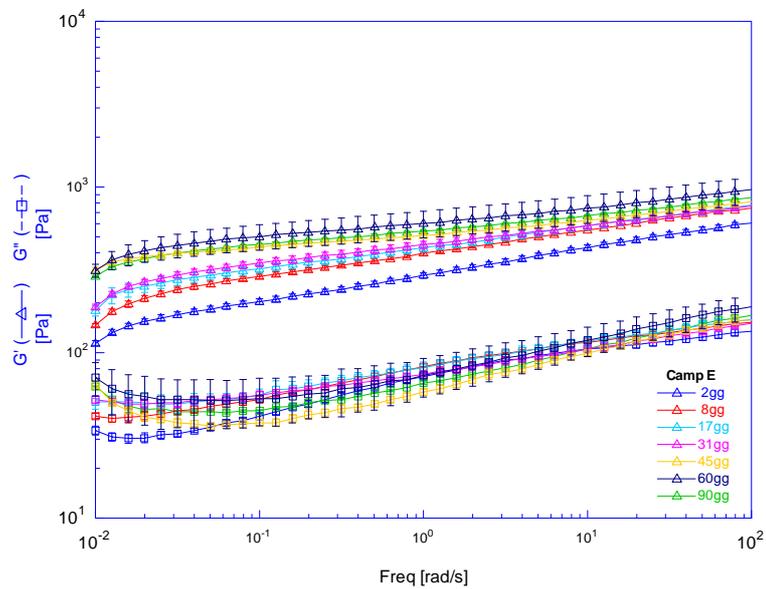


**Fig. 5.10** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione D'.

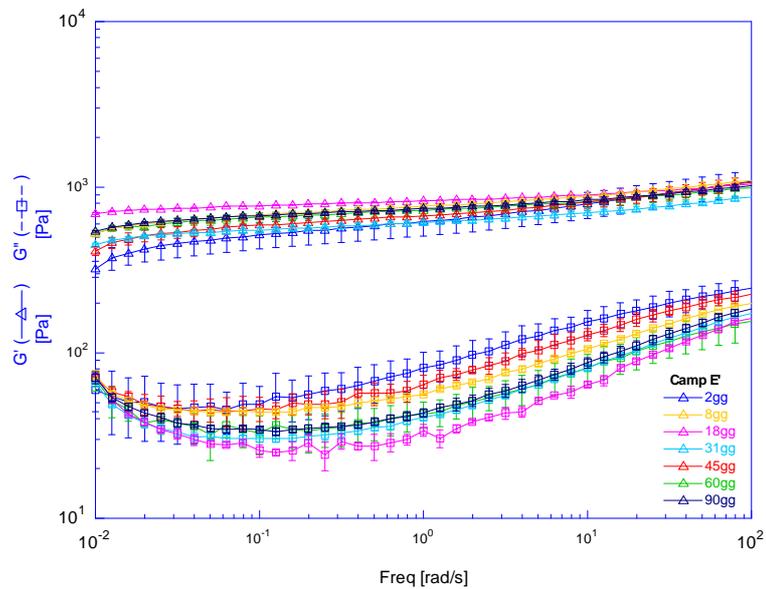
Al fine di evidenziare le differenze tra i campioni causate esclusivamente dal livello di sostituzione dell'olio di girasole con olio di noce è possibile notare come i campioni di maionese prodotti con il 100% di olio di noce (fig.5.11 e 5.12), manifestino un comportamento completamente inverso a quello registrato per i campioni preparati esclusivamente con olio di girasole (fig.5.4.); mentre il comportamento reologico dei campioni prodotti con il 25, 50 e 75 % di olio di noce è intermedio. Questa differenza è causata dall'utilizzo di due diverse matrici lipidiche che pur avendo caratteristiche reologiche paragonabili (vedi figura 5.13) differiscono sicuramente per altre caratteristiche fisico-chimiche (tensione superficiale).

Comunque, osservando le figure 5.11 e 5.12 è possibile evidenziare anche in questo caso che:

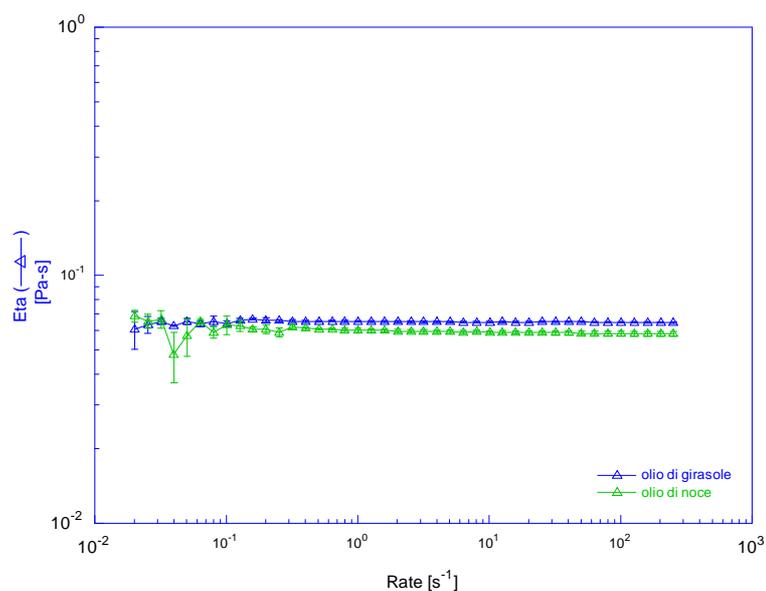
4. i campioni preparati a 600 rpm risultano meno elastici di quelli prodotti a 1200 rpm.
5. nel corso della conservazione il campione E mostra un andamento del modulo elastico crescente, mentre il campione E' nel corso della conservazione il campione mostra un andamento del modulo elastico alquanto altalenante. Quest'ultimo comportamento reologico potrebbe essere spiegato da un fenomeno di solubilizzazione-desolubilizzazione delle goccioline lipidiche.
6. come nei casi precedenti, comunque, l'effetto tempo appare sicuramente più marcato per i campioni di maionese preparati a 600 rpm rispetto a quelli preparati a 1200 rpm.



**Fig. 5.11** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione E.



**Fig. 5.12** Andamento nel tempo del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per il campione E'.

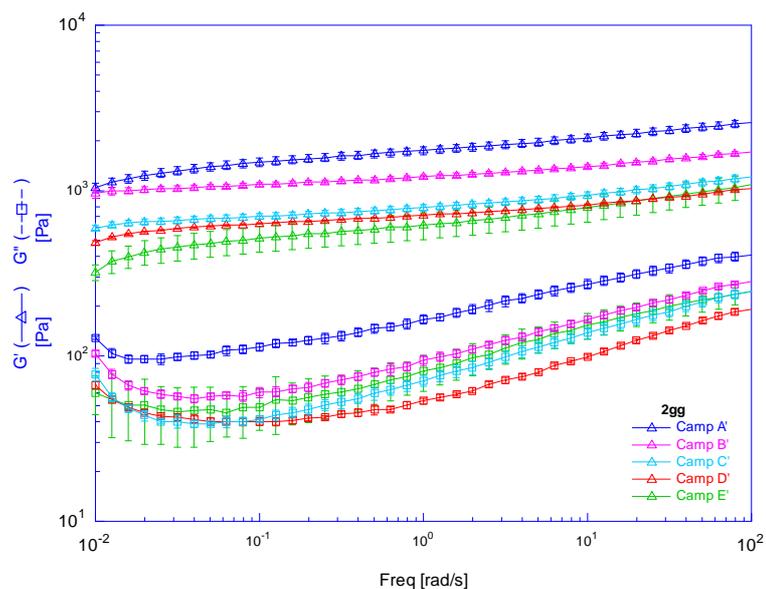


**Fig. 5.13** Viscosità (Pa\*s) dell'olio di noce e dell'olio di girasole in funzione della velocità di scorrimento (s<sup>-1</sup>).

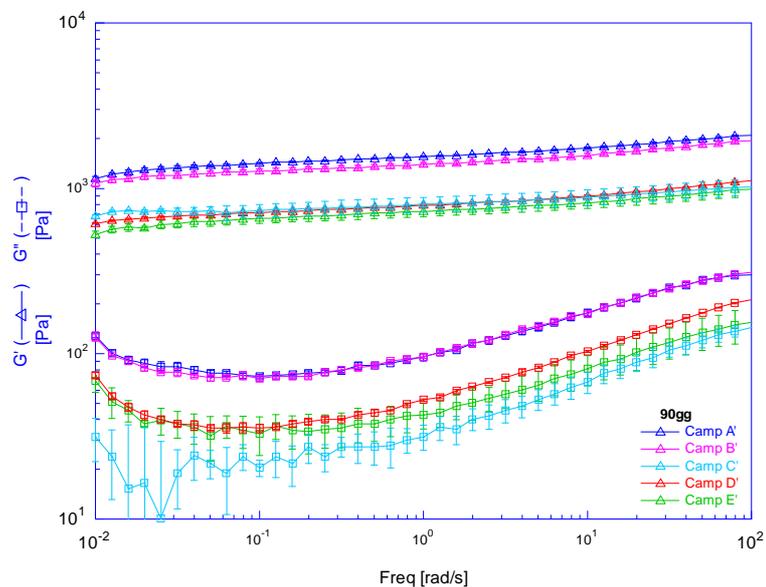
Le figure da 5.14 a 5.15 sono state inserite nel presente lavoro allo scopo di mettere in evidenza l'effetto della composizione, in termini percentuale di olio di noce sulla microstruttura di campioni di maionese durante diversi tempi di conservazione, in particolare durante i giorni 2 e 90.

Maggiore è la concentrazione dell'olio di noce, minore è l'elasticità dei campioni.

La differenza osservata potrebbe essere causata dall'utilizzo di due diverse matrici lipidiche; queste ultime pur avendo caratteristiche reologiche paragonabili (vedi figura 5.13) potrebbero differire per altre caratteristiche fisico-chimiche (ad esempio la tensione superficiale).



**Fig. 5.14** Andamento del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per i campioni prodotti a 1200 rpm e conservati per 2 giorni.



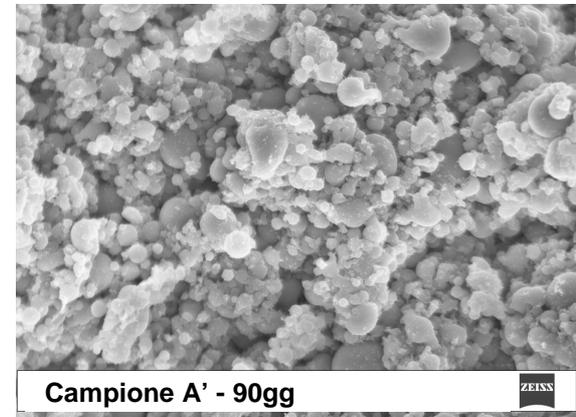
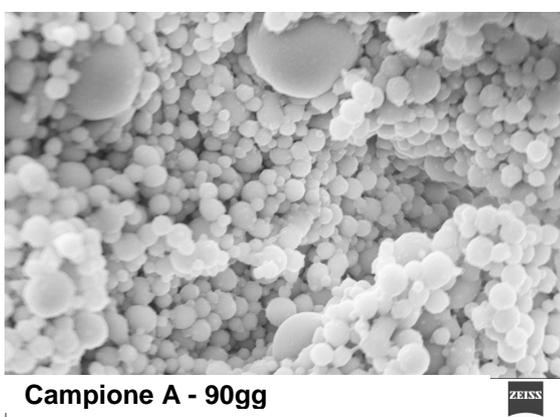
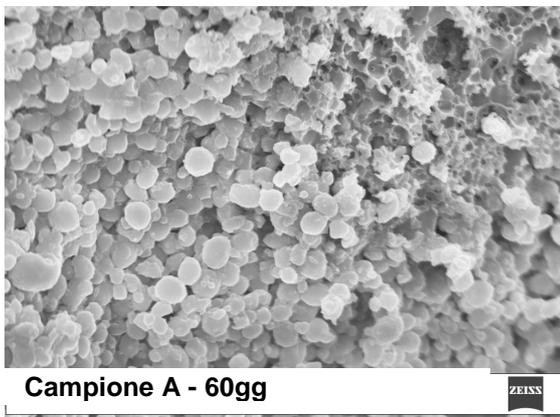
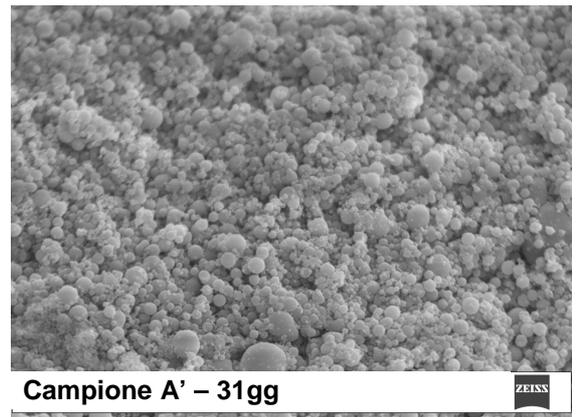
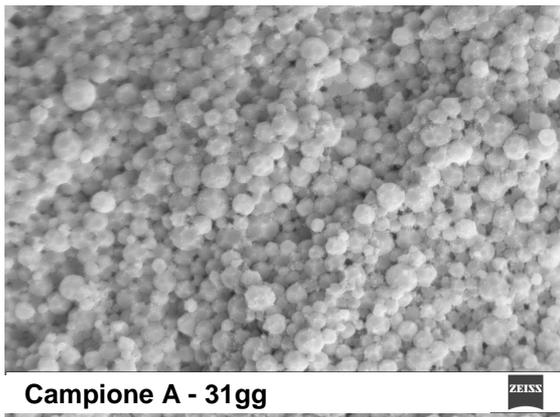
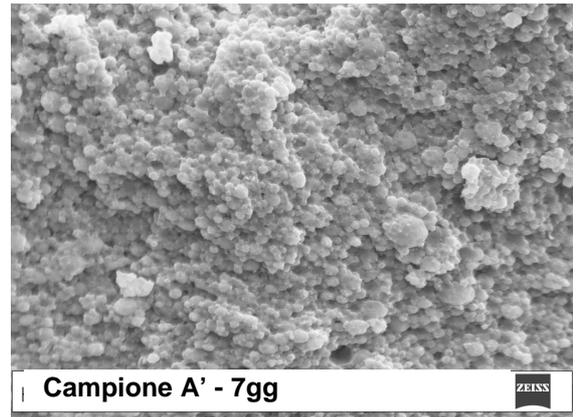
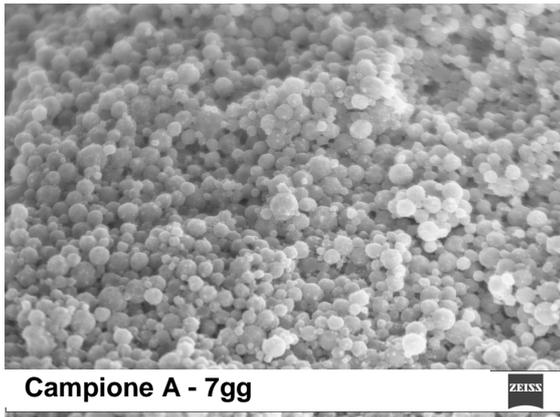
**Fig. 5.15** Andamento del modulo elastico,  $G'$ , e del modulo viscoso,  $G''$ , (Pa) in funzione della frequenza di oscillazione (rad/s), per i campioni prodotti a 1200 rpm e conservati per 90 giorni.

## **6. OSSERVAZIONE E DISCUSSIONE DELLE MICROGRAFIE**

Nelle figure da 6.1 a 6.5 sono mostrate le micrografie dei campioni di maionese prodotti a 600 e 1200 rpm; in particolare, in figura 6.1, si può osservare la microstruttura dei campioni contenenti il 100% di olio di girasole prodotti a 600 e 1200 rpm durante i diversi giorni di conservazione.

Osservando la figura 6.1, possiamo notare che sia per il campione A sia per il campione A' le goccioline lipidiche durante i primi giorni di conservazione sembrano alquanto monodisperse; con il passare del tempo, per entrambi i campioni si nota che la microstruttura sembra essere sempre più caratterizzata da goccioline polidisperse soprattutto durante il giorno 90, con un'unica differenza: il campione A' nel tempo sembra essere caratterizzato da goccioline lipidiche di dimensioni non tanto diverse, mentre, il campione A, osservando le micrografie scattate durante i giorni 7 e 90, sembra essere caratterizzato da goccioline lipidiche di dimensioni molto diverse. Comunque, le goccioline lipidiche del campione prodotto a 1200 rpm sono caratterizzate, in tutti i giorni di conservazione considerati, da dimensioni del diametro minori rispetto alle dimensioni del diametro delle goccioline del campione prodotto a 600 rpm.

In questo caso, l'osservazione della microstruttura di questi campioni ci porta a confermare quanto osservato e dedotto attraverso gli studi reologici riportati nel paragrafo 5.1.2; infatti, il campione A' risulta essere caratterizzato nel tempo da una maggiore elasticità rispetto al campione A, a causa delle dimensioni ridotte delle goccioline lipidiche; inoltre, nel tempo l'elasticità di questo campione risulta alquanto stabile, contrariamente a quanto accade per il campione A, infatti, le goccioline lipidiche nel tempo sembrano acquistare una maggiore polidispersione, comunque le dimensioni di queste goccioline sembrano non variare troppo nel tempo.



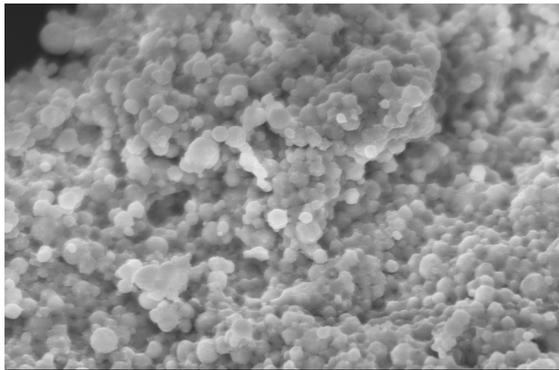
**Fig. 6.1** Micrografie SEM dei campioni di maionese prodotti con il 100% di olio di girasole a 600 (A) e a 1200 (A') rpm a diversi tempi di conservazione (7, 31, 60 e 90 giorni). Ingrandimento 4000X, WD (*work distance*) 12.

Osservando la figura 6.2, possiamo notare che sia per il campione B sia per il campione B' le goccioline lipidiche durante i primi giorni di conservazione sembrano alquanto monodisperse, ma già durante il giorno 31 di conservazione, per entrambi i campioni si nota che la microstruttura sembra essere caratterizzata da goccioline polidisperse.

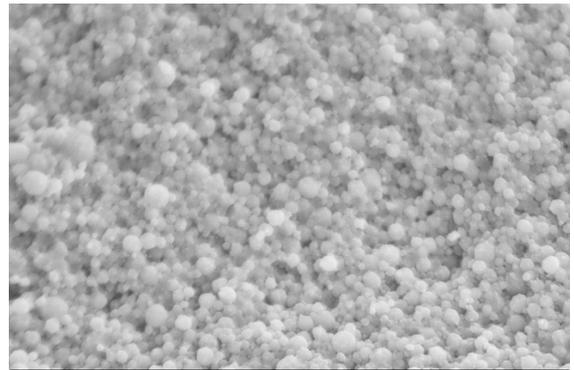
È possibile notare che durante l'ultimo giorno di conservazione considerato, entrambi i campioni sono caratterizzati da emulsioni polidisperse caratterizzate da dimensioni dei diametri che sembrano lievemente contratti rispetto alle dimensioni dei diametri delle goccioline in emulsione durante il giorno 31 e 60.

Anche in questo caso, comunque, le goccioline lipidiche del campione prodotto a 1200 rpm sono caratterizzate, in tutti i giorni di conservazione considerati, da dimensioni del diametro minori rispetto alle dimensioni del diametro delle goccioline del campione prodotto a 600 rpm.

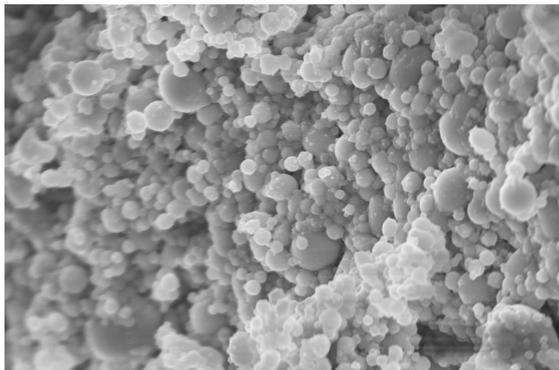
L'osservazione della microstruttura di questi campioni ci porta a confermare nuovamente quanto osservato e dedotto attraverso gli studi reologici riportati nel paragrafo 5.1.2; il campione B' risulta essere caratterizzato nel tempo da una maggiore elasticità rispetto al campione B, a causa delle dimensioni ridotte delle goccioline lipidiche; inoltre, nel tempo l'elasticità di questo campione risulta alquanto stabile, contrariamente a quanto accade per il campione B; inoltre, col trascorrere del tempo entrambi i campioni mostrano un recupero della componente elastica forse dovuta ad una contrazione delle dimensioni delle goccioline lipidiche.



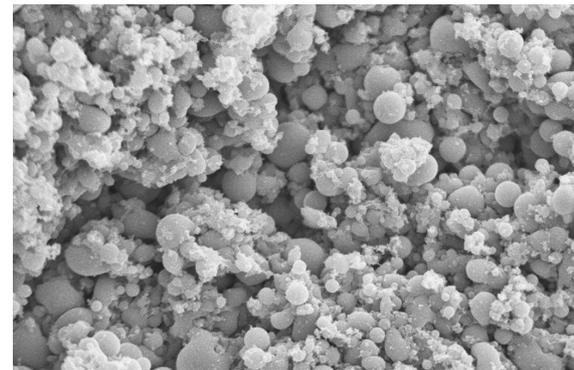
**Campione B - 7gg**



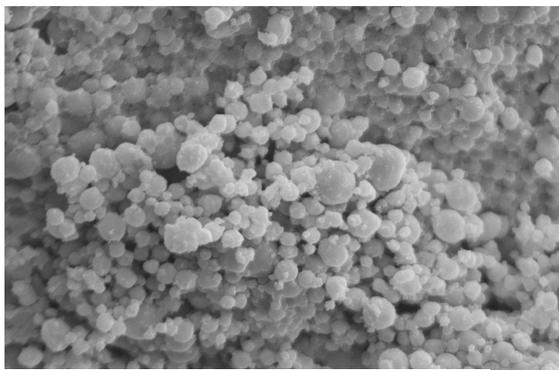
**Campione B' - 7gg**



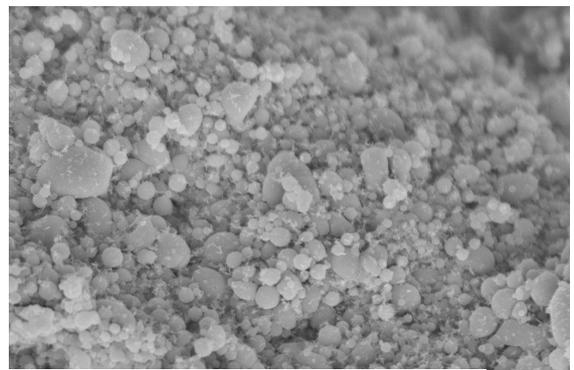
**Campione B - 31gg**



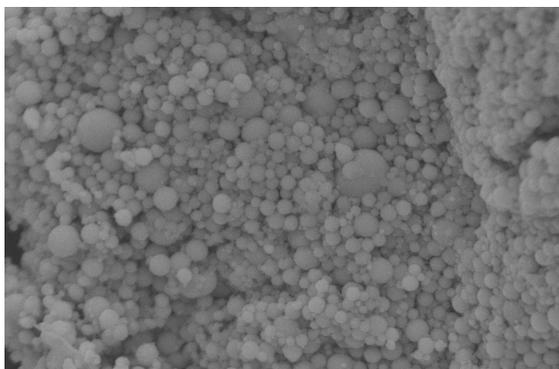
**Campione B' - 31gg**



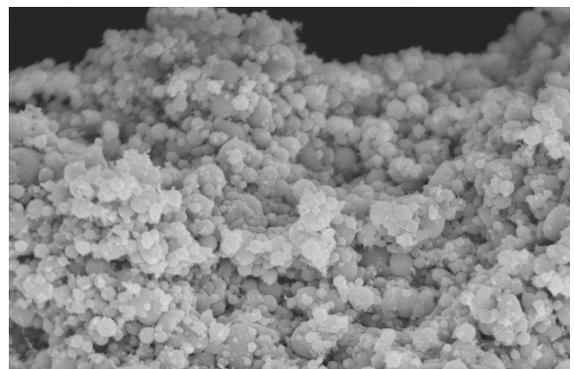
**Campione B - 60gg**



**Campione B' - 60gg**



**Campione B - 90gg**



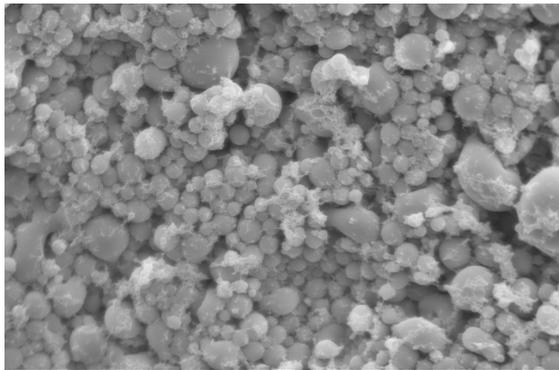
**Campione B' - 90gg**



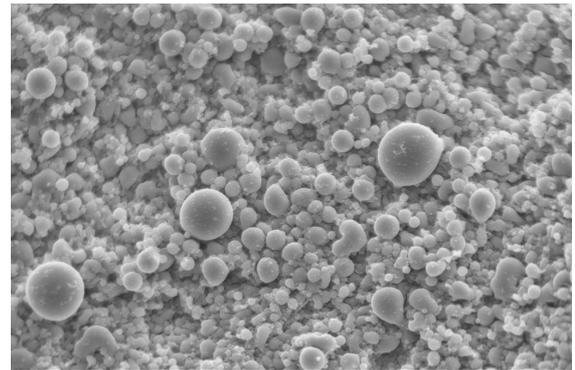
**Fig. 6.2** Micografie SEM dei campioni di maionese prodotti con il 25% di olio di noce a 600 (B) e a 1200 (B') rpm a diversi tempi di conservazione (7, 31, 60 e 90 giorni). Ingrandimento 4000X, WD (*work distance*) 12.

In figura 6.3 sono mostrate le microstrutture dei campioni C e C' con il trascorrere del tempo di conservazione; è possibile osservare che le microstrutture di questi due campioni sono caratterizzate da goccioline polidisperse. Il campione C mostra una contrazione delle dimensioni delle goccioline lipidiche tra il giorno 7 e 31, dopodiché le dimensioni cominciano a crescere. Il campione C', mostra, come in precedenza, una contrazione delle dimensioni delle goccioline lipidiche tra il giorno 7 e 31 dopodiché le dimensioni rimangono pressoché invariate. Comunque, le goccioline lipidiche del campione prodotto a 1200 rpm sono caratterizzate, in tutti i giorni di conservazione considerati, da dimensioni del diametro minori rispetto alle dimensioni del diametro delle goccioline del campione prodotto a 600 rpm.

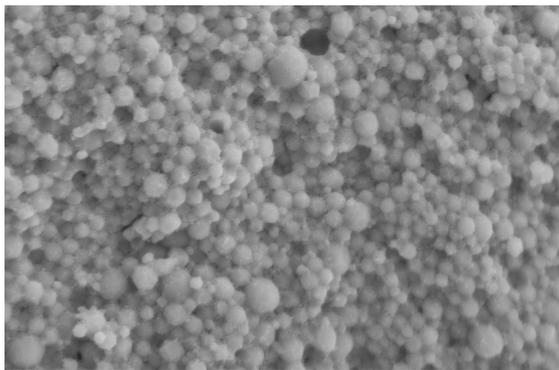
Anche in questo caso l'osservazione delle micrografie ci conferma quanto dedotto attraverso gli studi reologici.



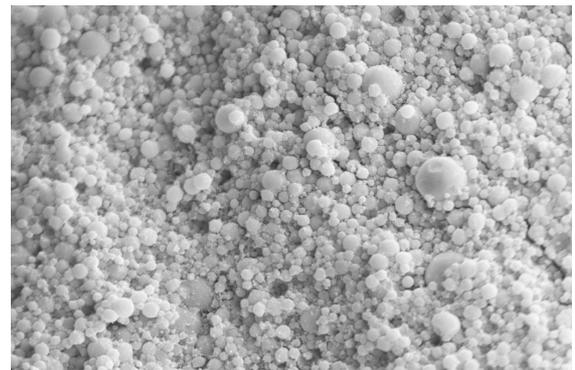
**Campione C - 7gg**



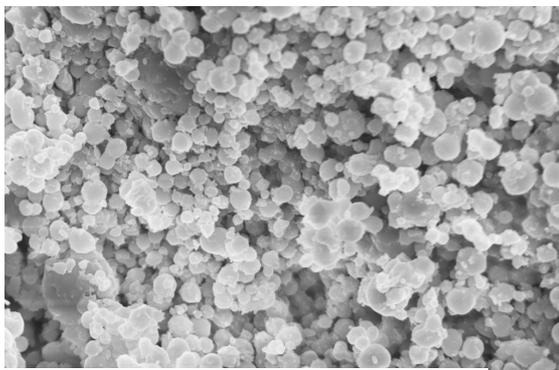
**Campione C' - 7gg**



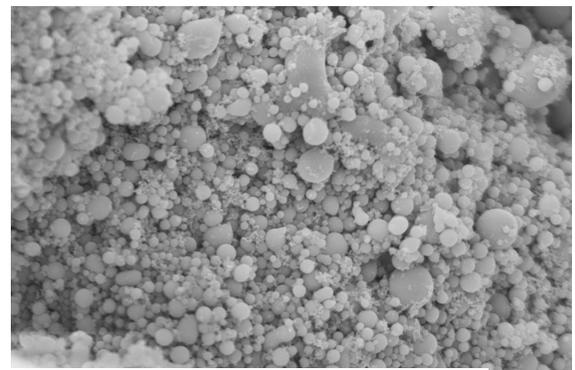
**Campione C - 31gg**



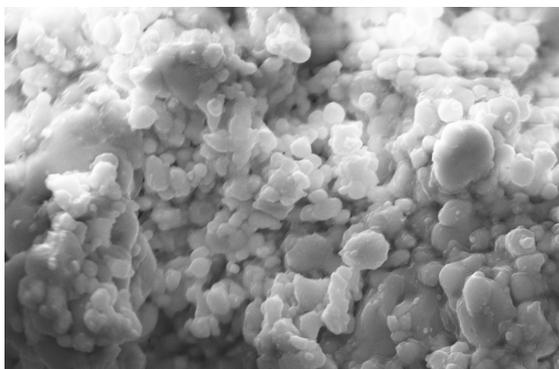
**Campione C' - 31gg**



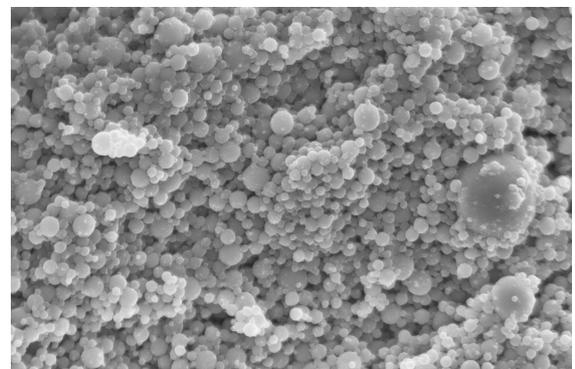
**Campione C - 60gg**



**Campione C' - 60gg**



**Campione C - 90gg**



**Campione C' - 90gg**



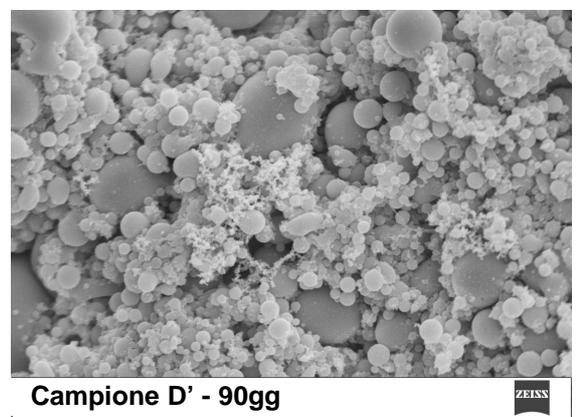
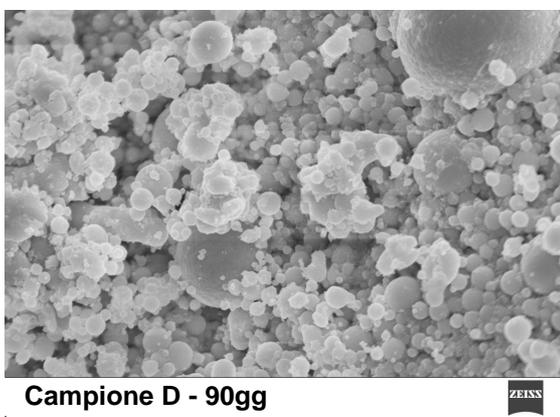
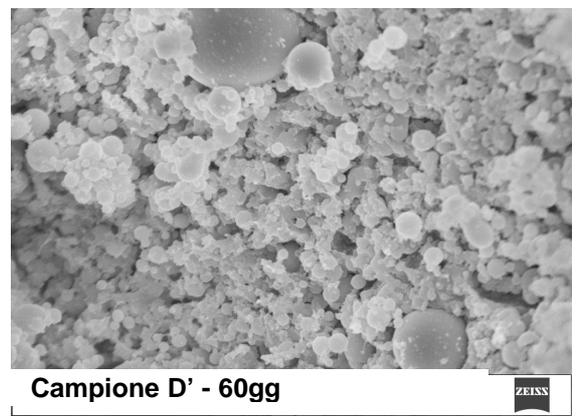
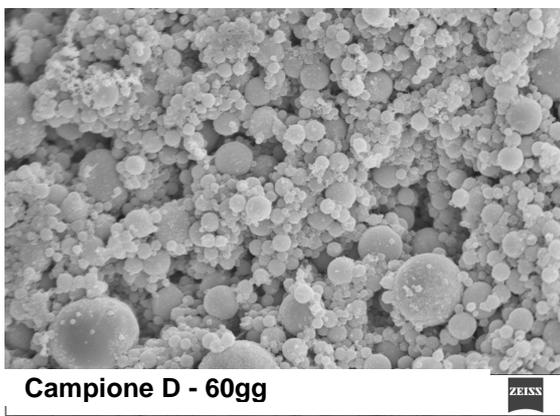
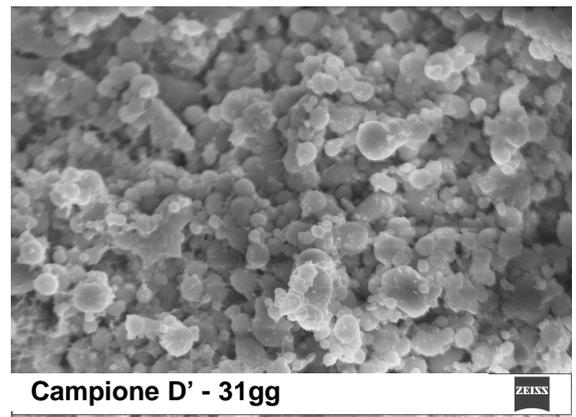
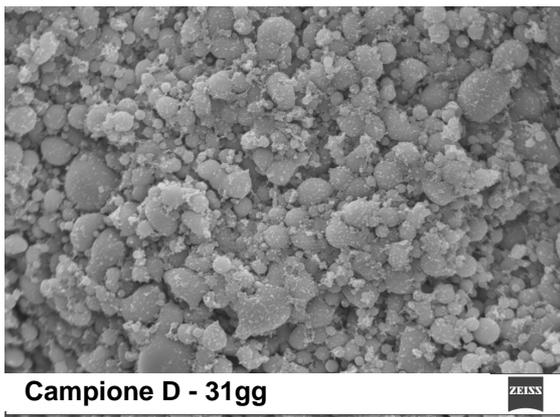
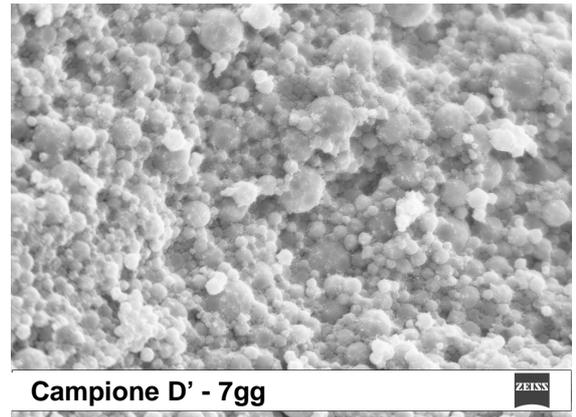
**Fig. 6.3** Micrografie SEM dei campioni di maionese prodotti con il 50% di olio di noce a 600 (C) e a 1200 (C') rpm a diversi tempi di conservazione (7, 31, 60 e 90 giorni). Ingrandimento 4000X, WD (work distance) 12.

In figura da 6.4 sono mostrate le micrografie dei campioni di maionese prodotti a 600 e 1200 rpm, in particolare, si può osservare la microstruttura dei campioni contenenti il 75% di olio di noce durante i diversi giorni di conservazione.

Osservando la figura 6.4, possiamo notare che sia per il campione D sia per il campione D' le goccioline lipidiche durante tutti i giorni di conservazione sono polidisperse. Il campione D mostra una contrazione delle dimensioni delle goccioline lipidiche tra il giorno 7 e 31, dopodiché le dimensioni delle goccioline rimangono invariate tra il giorno 31 e 60 e poi cominciano a crescere. Il campione D', mostra, come in precedenza, una contrazione delle dimensioni delle goccioline lipidiche tra il giorno 7 e 60 dopodiché le dimensioni rimangono pressoché invariate.

Comunque, le goccioline lipidiche del campione prodotto a 1200 rpm sono caratterizzate, in tutti i giorni di conservazione considerati, da dimensioni del diametro minori rispetto alle dimensioni del diametro delle goccioline del campione prodotto a 600 rpm.

Anche in questo caso, l'osservazione della microstruttura di questi campioni ci porta a confermare quanto osservato e dedotto attraverso gli studi reologici riportati nel paragrafo 5.1.2; infatti, il campione D' risulta essere caratterizzato nel tempo da una maggiore elasticità rispetto al campione D, a causa delle dimensioni ridotte delle goccioline lipidiche; inoltre, nel tempo l'elasticità di entrambi i campioni aumenta lievemente, per poi decrescere per il campione prodotto a 600 rpm e rimanere più o meno invariato per i campione prodotto a 1200 rpm.



**Fig. 6.4** Micografie SEM dei campioni di maionese prodotti con il 75% di olio di noce a 600 (D) e a 1200 (D') rpm a diversi tempi di conservazione (7, 31, 60 e 90 giorni). Ingrandimento 4000X, WD (work distance) 12.

In figura da 6.5 sono mostrate le micrografie dei campioni di maionese contenenti il 100% di olio di noce durante i diversi giorni di conservazione.

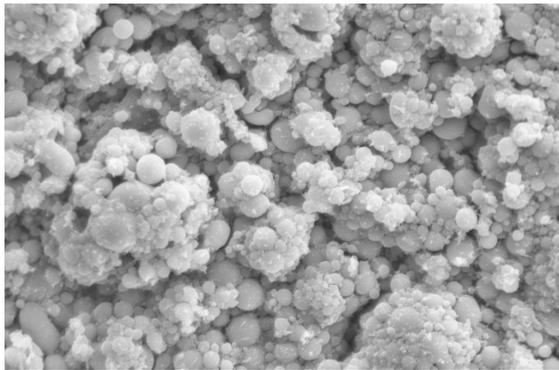
Osservando la figura 6.5, possiamo notare che sia per il campione E sia per il campione E' le goccioline lipidiche durante tutti i giorni di conservazione sono polidisperse. In questo caso sembra evidenziata la differenza in termini di polidispersione delle goccioline nel campione prodotto a 600 rpm.

Il campione E mostra una contrazione delle dimensioni delle goccioline lipidiche tra il giorno 7 e 60, dopodiché le dimensioni delle goccioline cominciano a crescere. Il campione E', mostra, come in precedenza, una contrazione delle dimensioni delle goccioline lipidiche tra il giorno 7 e 31 dopodiché le dimensioni aumentano per poi diminuire nuovamente.

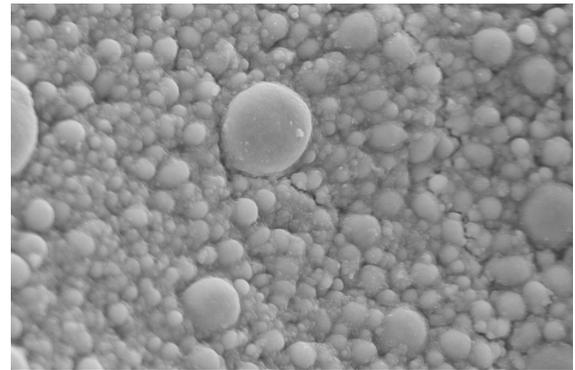
Comunque, le goccioline lipidiche del campione prodotto a 1200 rpm sono caratterizzate, in tutti i giorni di conservazione considerati, da dimensioni del diametro minori rispetto alle dimensioni del diametro delle goccioline del campione prodotto a 600 rpm.

Anche in questo caso, l'osservazione della microstruttura di questi campioni ci porta a confermare quanto osservato e dedotto attraverso gli studi reologici riportati nel paragrafo 5.1.2:

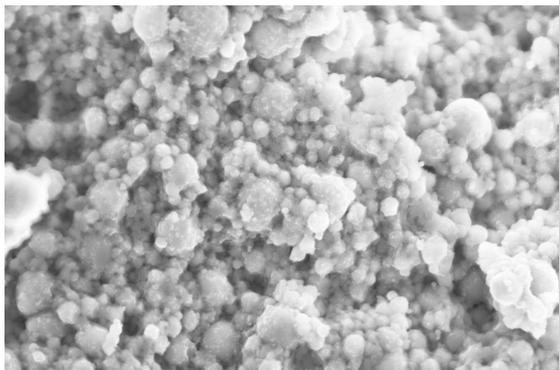
7. i campioni preparati a 600 rpm risultano meno elastici di quelli prodotti a 1200 rpm.
8. nel corso della conservazione il campione E mostra un aumento dell'elasticità, mentre il campione E' nel corso della conservazione mostra un andamento del modulo elastico alquanto altalenante. Quest'ultimo comportamento reologico potrebbe essere spiegato da un fenomeno di solubilizzazione-desolubilizzazione delle goccioline lipidiche.



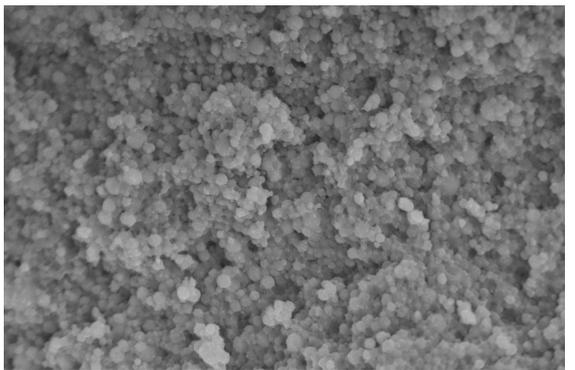
**Campione E - 7gg**



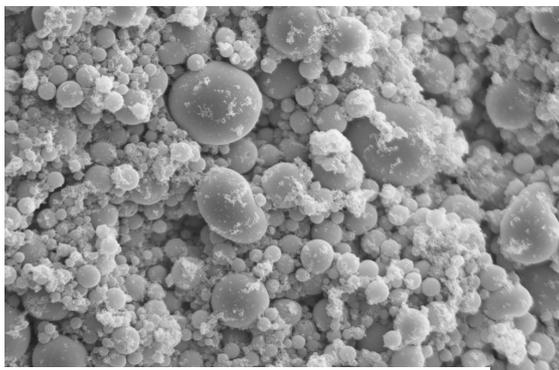
**Campione E' - 7gg**



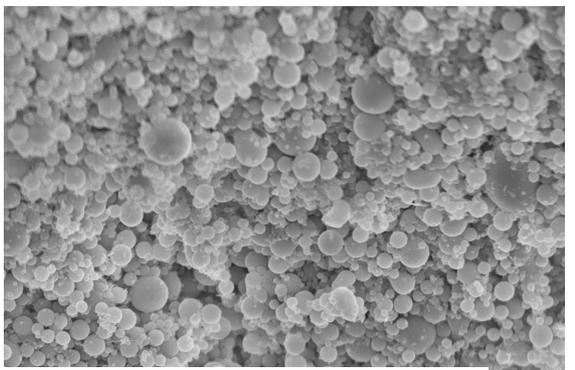
**Campione E - 31gg**



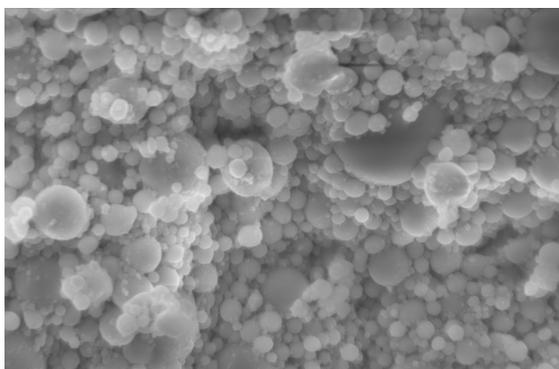
**Campione E' - 31gg**



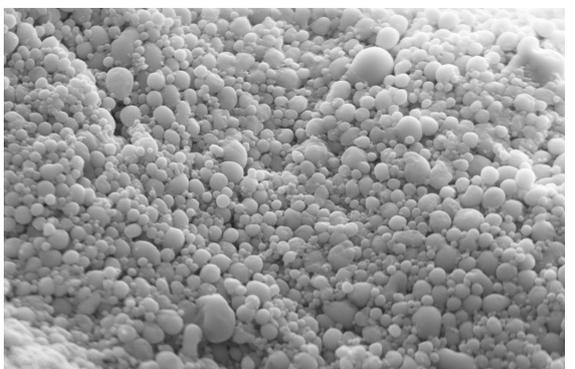
**Campione E - 60gg**



**Campione E' - 60gg**



**Campione E - 90gg**



**Campione E' - 90gg**



**Fig. 6.5** Micografie SEM dei campioni di maionese prodotti con il 75% di olio di noce a 600 (E) e a 1200 (E') rpm a diversi tempi di conservazione (7, 31, 60 e 90 giorni). Ingrandimento 4000X, WD (work distance) 12.

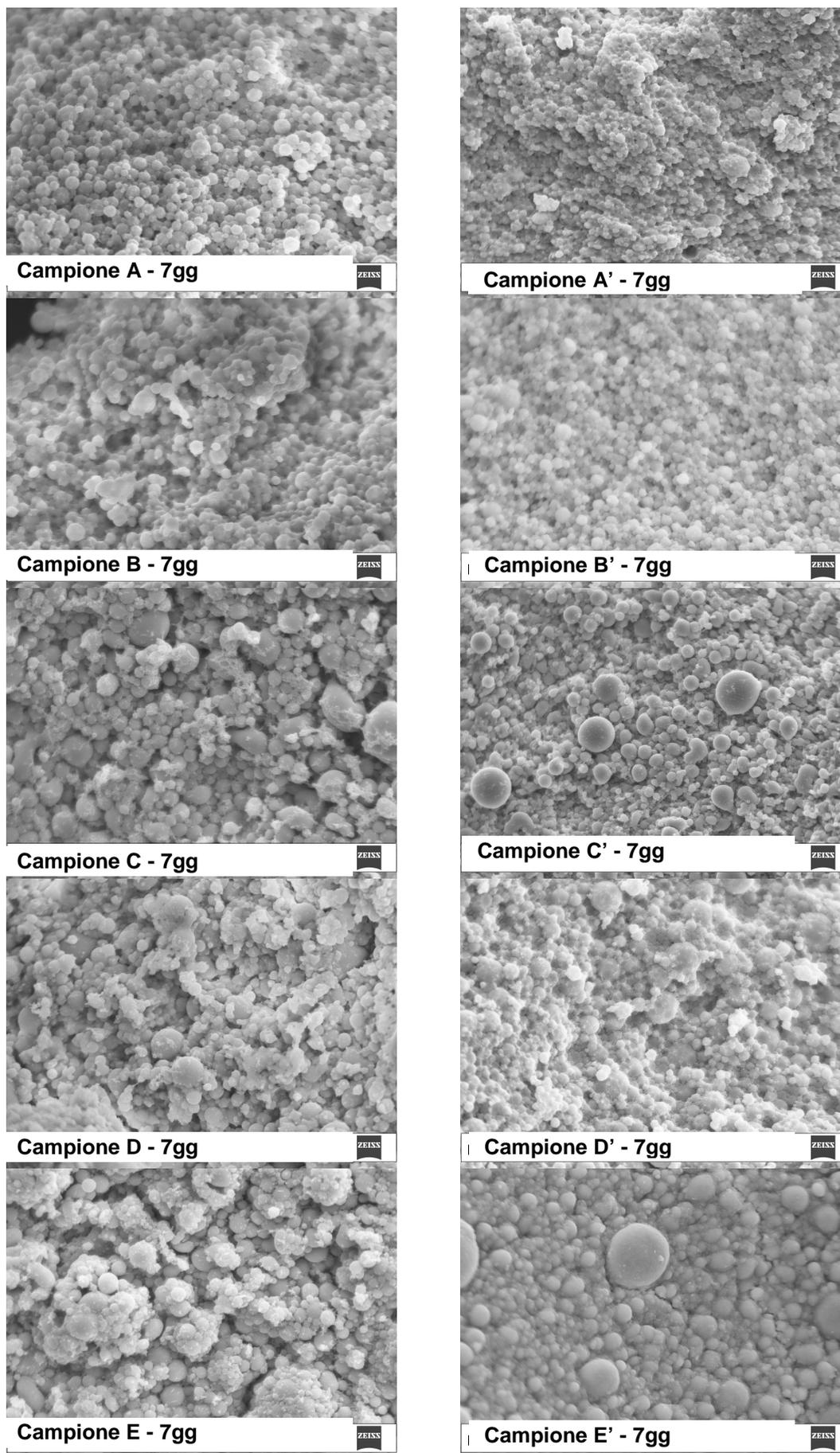
Fino ad ora abbiamo messo in evidenza l'effetto che il tempo di conservazione ha sulla microstruttura dei campioni di maionese prodotti, ma anche l'effetto che la velocità di rotazione con cui i campioni sono stati emulsionati. La grandezza delle goccioline può essere ridotta aumentando la quantità di energia trasferita nel processo di omogeneizzazione, quindi aumentando il numero di giri al minuto o aumentando il tempo di omogeneizzazione (Mc Clements, 1999).

In figura 6.6, invece, le microstrutture dei campioni di maionese illustrate mostrano l'effetto del contenuto di olio di noce sia per i campioni prodotti a 600 rpm sia per quelli prodotti a 1200 rpm: le emulsioni sono caratterizzate da goccioline lipidiche con differenti grandezze e dispersione.

Come è possibile osservare, i campioni A e A', B e B' sono caratterizzati da una struttura strettamente impacchettata formata da goccioline sferiche uniformi (monodisperse) di piccolo diametro. Comunque, queste micrografie mettono sempre in evidenza la differenza esistente tra i campioni prodotti a 600 e a 1200 rpm; questi ultimi sono caratterizzati da goccioline con diametro più piccolo.

Con l'aumentare della percentuale dell'olio di noce le goccioline lipidiche sono caratterizzate da una maggiore polidispersione, ed infine nei campioni contenenti il 100% di olio di noce le goccioline lipidiche oltre ad essere polidisperse sono caratterizzate anche da dimensioni dei diametri maggiori e dalla presenza di goccioline piccole e grandi che si riuniscono formando delle strutture fortemente aggregate..

Inoltre, con l'aumentare della concentrazione dell'olio di noce sia i campioni prodotti a 600 rpm sia i campioni prodotti a 1200 rpm mostrano una struttura meno chiusa, meno strettamente impacchettata.



**Fig. 6.6** Micrografie SEM dei campioni di maionese prodotti a 600 (A, B, C, D e E) e a 1200 (A', B', C', D' e E') a 7 giorni di conservazione. Ingrandimento 4000X, WD (*work distance*) 12.

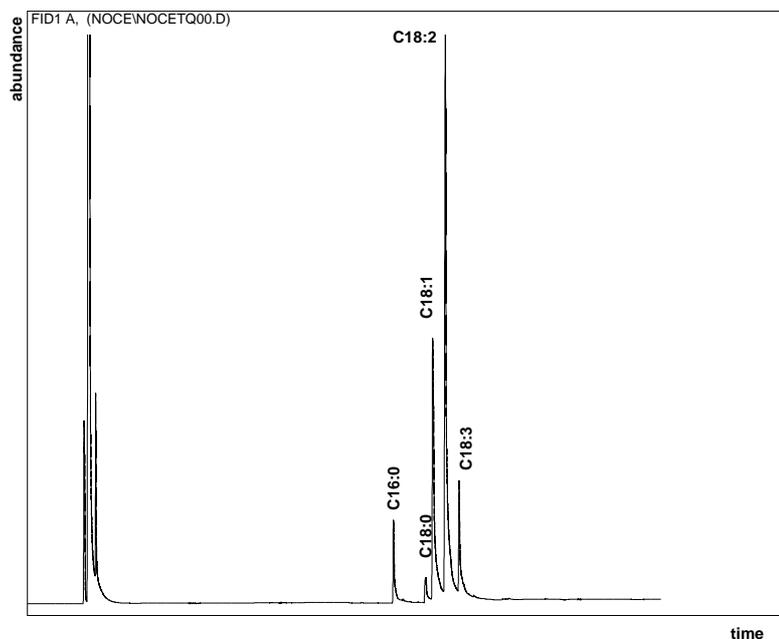
## 7. CARATTERIZZAZIONE DELLA COMPONENTE LIPIDICA

### 7.1. Caratterizzazione della componente lipidica degli oli

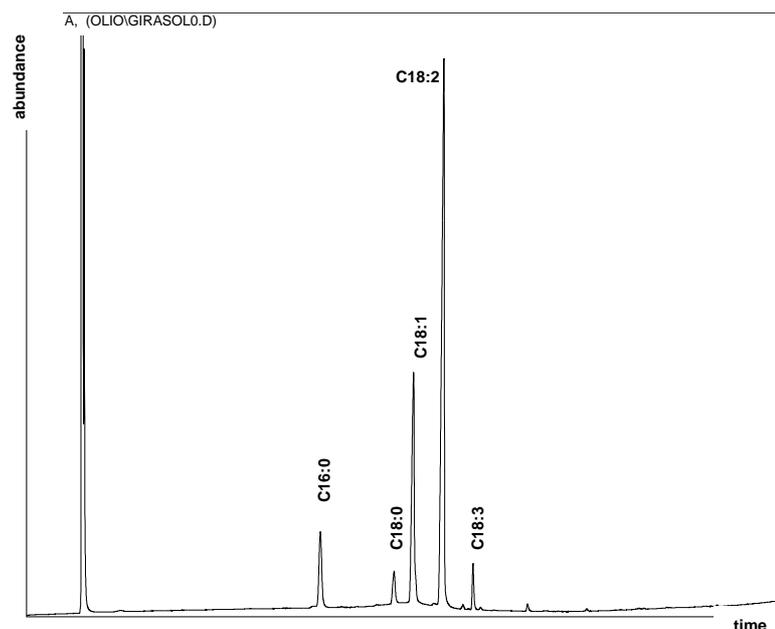
Come abbiamo già detto nel paragrafo 4.2.4, la determinazione quantitativa della composizione acidica della componente lipidica della maionese è stata effettuata su tutti i campioni preparati a 600 e 1200 rpm considerando quattro tempi di conservazione: 2, 31, 60 e 90 giorni.

L'identificazione dei picchi gas-cromatografici è stata effettuata confrontando i tempi di ritenzione ottenuti iniettando una miscela di *standards* di esteri metilici di acidi grassi puri. Per la quantificazione è stato utilizzato il metodo della normalizzazione interna previo calcolo del fattore di correzione.

In figura 7.1 e 7.2 sono riportati, a titolo di esempio, i gas-cromatogrammi ottenuti rispettivamente dall'analisi dell'olio di noce e dell'olio di girasole.



**Fig. 7.1** Gas-cromatogramma degli acidi grassi che compongono l'olio di noce.



**Fig. 7.1** Gas-cromatogramma degli acidi grassi che compongono l'olio di girasole.

Dall'integrazione dei picchi rilevati durante le analisi effettuate sugli oli utilizzati per la produzione dei campioni sperimentali di maionese e dalla successiva normalizzazione delle aree degli stessi, è stata quantificata la seguente composizione acidica:

<b>Area media % normalizzata</b>	<b>Ac. Palmitico C16:0</b>	<b>Ac. Stearico C18:0</b>	<b>Ac. Oleico C18:1</b>	<b>Ac. Linoleico C18:2</b>	<b>Ac. Linolenico C18:3</b>
Olio di noce	6,21	3,08	24,93	53,42	11,18
Olio di girasole	9,23	3,86	22,64	58,96	3,53

È' chiaro che la composizione dei due oli differisce più o meno sensibilmente per il contenuto di tutti gli acidi grassi; naturalmente ciò che maggiormente ci interessa è il contenuto in acido linoleico e linolenico e soprattutto il rapporto tra questi acidi grassi; infatti, la FAO/WHO (1994) raccomanda di assumere con la dieta acidi grassi polinsaturi con un rapporto di acidi grassi n-3:n-6 di 1:5-1:10. Tale rapporto nell'olio di noce è di circa 1:4,7, mentre nell'olio di girasole è di 1:16,7.

### 7.1.1. *Composizione acidica della frazione lipidica della maionese*

I valori percentuali delle aree normalizzate dell'acido palmitico (C16:0), stearico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) e linolenico (C18:3) durante i giorni di conservazione 2, 31, 60 e 90 dei campioni prodotti a 600 e 1200 rpm sono stati sottoposti inizialmente ad analisi della varianza bivariata, utilizzando i giorni di conservazione ed il contenuto di olio di noce come fattori di variazione.

Nelle tabelle da 7.1 a 7.5 sono riportati i valori di F e della significatività ( $p < 0.05$ ) ottenuti. Da questa prima analisi si evince che, per tutti gli acidi grassi, entrambi i fattori considerati hanno un effetto significativo sui valori percentuali calcolati delle aree normalizzate, poiché per entrambi il valore della significatività è inferiore a 0.05.

**Tab. 7.1** Risultati dell'analisi della varianza bivariata effettuata sull' Area % normalizza (C16:0): valori di F e della significatività.

Sorgente di variazione	600 rpm		1200rpm	
	F	Sig.	F	Sig.
gg	3,546	0,023	84,478	<<0,05
% olio di noce	90,394	<<0,05	29,345	<<0,05
gg*% olio di noce	33,992	<<0,05	90,556	<<0,05
R <sup>2</sup>	0,951		0,961	

**Tab. 7.2** Risultati dell'analisi della varianza bivariata effettuata sull' Area % normalizza (C18:0): valori di F e della significatività.

Sorgente di variazione	600 rpm		1200rpm	
	F	Sig.	F	Sig.
gg	1105,984	<<0,05	44,453	<<0,05
% olio di noce	246,846	<<0,05	224,793	<<0,05
gg*% olio di noce	143,889	<<0,05	39,476	<<0,05
R <sup>2</sup>	0,993		0,974	

**Tab. 7.3** Risultati dell'analisi della varianza bivariata effettuata sull' Area % normalizza (C18:1): valori di F e della significatività.

Sorgente di variazione	600 rpm		1200rpm	
	F	Sig.	F	Sig.
gg	252,699	<<0,05	28,655	<<0,05
% olio di noce	2015,122	<<0,05	727,020	<<0,05
gg*% olio di noce	504,958	<<0,05	108,035	<<0,05
R <sup>2</sup>	0,997		0,991	

**Tab. 7.4** Risultati dell'analisi della varianza bivariata effettuata sull' Area % normalizza (C18:2): valori di F e della significatività.

Sorgente di variazione	600 rpm		1200rpm	
	F	Sig.	F	Sig.
gg	214,607	<<0,05	275,306	<<0,05
% olio di noce	2771,157	<<0,05	2920,101	<<0,05
gg*% olio di noce	489,120	<<0,05	110,720	<<0,05
R <sup>2</sup>	0,998		0,997	

**Tab. 7.5** Risultati dell'analisi della varianza bivariata effettuata sull' Area % normalizza (C18:3): valori di F e della significatività.

Sorgente di variazione	600 rpm		1200rpm	
	F	Sig.	F	Sig.
gg	218,027	<<0,05	109,060	<<0,05
% olio di noce	17446,88	<<0,05	7265,110	<<0,05
gg*% olio di noce	369,420	<<0,05	85,012	<<0,05
R <sup>2</sup>	0,999		0,999	

Dopo questa prima indagine statistica, i valori percentuali dell'area normalizza dei cinque acidi grassi monitorati sono stati nuovamente sottoposti ad analisi della varianza (ad una via) utilizzando come sorgente di variazione il livello di olio di noce utilizzato e a test di Duncan, tali analisi sono state effettuate su tutti i campioni, prodotti a 600 e a 1200 rpm.

Per quanto riguarda l'effetto del livello di sostituzione dell'olio di girasole con olio di noce sui valori della percentuale dei cinque acidi grassi ritrovati nella frazione lipidica estratta da tutti i campioni di maionese durante il giorno 2 di conservazione (tab. 7.6 e 7.7), possiamo affermare che con l'aumentare della concentrazione di olio di noce la concentrazione di tutti gli acidi grassi oscilla non assumendo un andamento definito; esso risulta essere altalenante per tutti i campioni prodotti (600 e 1200 rpm) fatta eccezione per la concentrazione di acido linolenico che naturalmente aumenta con l'aumentare del livello di olio di noce utilizzato. Da queste tabelle (7.6 e 7.7) possiamo anche mettere in evidenza la composizione acidica della frazione lipidica estratta dai campioni prodotti sperimentalmente; tutti i campioni hanno una composizione acidica percentuale simile per quanto riguarda la concentrazione di acido palmitico, stearico ed oleico, invece per quanto concerne le concentrazioni di acido linoleico e linolenico queste cambiano con l'aumentare del livello di olio di noce utilizzato e soprattutto il loro rapporto (n3:n6) si sposta da valori di 1:72 (Tab. 7.6, campione con lo 0% di olio di noce) a 1:4,9 (Tab. 7.6, campione con il 100% di olio di noce).

**Tab.7.6** Effetto della percentuale di olio di noce sui valori medi percentuali dell'aree normalizzate degli acidi grassi calcolati durante il giorno 2 per i campioni prodotti a 600 rpm: risultati del test di Duncan.

2 gg	600 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
0% O.N.	7,49d	3,62c	26,76d	57,63c	0,89a
25% O.N.	7,49c	2,97b	25,87c	56,53b	5,57b
50% O.N.	6,87a	2,96b	23,25a	60,62e	6,11c
75% O.N.	7,54c	2,91b	23,54b	58,55d	6,12c
100% O.N.	7,12b	2,70a	25,84c	52,67a	10,65d
F	162,064	58,612	726,138	752,372	3359,827
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab.7.7** Effetto della percentuale di olio di noce sui valori medi percentuali dell'aree normalizzate degli acidi grassi calcolati durante il giorno 2 per i campioni prodotti a 1200 rpm: risultati del test di Duncan.

2 gg	1200 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
0% O.N.	7,53c	4,67e	27,81c	58,10d	0,82a
25% O.N.	7,53b	4,48d	28,36d	53,81b	3,95c
50% O.N.	6,83a	3,20b	23,22a	61,83e	3,38b
75% O.N.	7,80bc	3,36c	29,08e	55,32c	6,07d
100% O.N.	6,87a	2,95a	25,52b	52,18a	11,28e
F	14,995	1352,522	404,073	1312,028	524,442
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

Per quanto riguarda l'effetto del livello di sostituzione dell'olio di girasole con olio di noce sui valori della percentuale dei cinque acidi grassi ritrovati nella frazione lipidica estratta da tutti i campioni di maionese durante i giorni 31 (tab. 7.8 e 7.9), 60 (tab. 7.10 e 7.11) e 90 (tab. 7.12 e 7.13) di conservazione, possiamo confermare quanto detto per i campioni analizzati durante il secondo giorno di conservazione e cioè che con l'aumentare della concentrazione di olio di noce la concentrazione di tutti gli acidi grassi oscilla non assumendo un andamento definito, fatta eccezione per la concentrazione di acido linolenico che aumenta con l'aumentare del livello di olio di noce utilizzato. Inoltre durante i vari giorni di conservazione tutti i campioni hanno una composizione acidica percentuale simile per quanto riguarda la concentrazione di acido palmitico, stearico ed oleico, invece per quanto concerne le concentrazioni di acido linoleico e linolenico queste cambiano con l'aumentare del livello di olio di noce utilizzato e soprattutto il loro rapporto

(n3:n6) si sposta verso il rapporto di assunzione raccomandato nel 1994 dalla FAO/WHO (1:5, 1:10).

**Tab.7.8** Effetto della percentuale di olio di noce sui valori medi percentuali dell'aree normalizzate degli acidi grassi calcolati durante il giorno 31 per i campioni prodotti a 600 rpm: risultati del test di Duncan.

31 gg	600 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
0% O.N.	8,49d	3,50b	26,85d	55,36b	0,80a
25% O.N.	7,15b	3,89d	28,61e	55,56b	2,71b
50% O.N.	7,36c	2,92a	23,30a	59,17c	5,90c
75% O.N.	6,48a	3,72c	26,44c	53,57a	8,31d
100% O.N.	7,35c	2,91a	24,97b	53,25a	10,33e
F	1725,513	271,909	339,780	135,220	2138,081
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab.7.9** Effetto della percentuale di olio di noce sui valori medi percentuali dell'aree normalizzate degli acidi grassi calcolati durante il giorno 31 per i campioni prodotti a 1200 rpm: risultati del test di Duncan.

31 gg	1200 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
0% O.N.	8,03d	4,48d	27,41d	58,03e	0,31a
25% O.N.	7,58c	3,98c	28,06e	55,36c	3,05b
50% O.N.	6,84a	4,01c	23,93a	57,05d	6,86c
75% O.N.	6,95b	3,70a	26,68c	53,71b	7,54d
100% O.N.	8,25e	3,87b	25,84b	50,05a	10,84e
F	122965,56	802,310	235982,52	23174,793	24890,310
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab.7.10** Effetto della percentuale di olio di noce sui valori medi percentuali dell'aree normalizzate degli acidi grassi calcolati durante il giorno 60 per i campioni prodotti a 600 rpm: risultati del test di Duncan.

60 gg	600 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
0% O.N.	7,23c	3,88a	23,21a	63,94e	0,70a
25% O.N.	7,51d	4,08b	27,92e	54,96c	3,56b
50% O.N.	7,92e	4,12b	24,30b	56,55d	5,73c
75% O.N.	7,10b	4,38c	27,81d	51,36b	7,76d
100% O.N.	6,69a	4,58d	25,78c	51,25a	10,54e
F	798,559	291,413	9455,535	1272807,8	247131,48
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab.7.11** Effetto della percentuale di olio di noce sui valori medi percentuali dell'aree normalizzate degli acidi grassi calcolati durante il giorno 60 per i campioni prodotti a 1200 rpm: risultati del test di Duncan.

60 gg	1200 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
0% O.N.	7,43d	4,02c	28,63e	57,67e	0,68a
25% O.N.	7,91e	5,03e	27,82d	54,60c	2,77b
50% O.N.	6,52a	3,60b	24,69a	57,53d	6,20c
75% O.N.	6,66b	4,05d	27,54c	52,67b	7,47d
100% O.N.	6,79c	3,37a	25,99b	51,19a	11,44e
F	10691,310	544,564	428131,71	522012,11	40725,540
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab.7.12** Effetto della percentuale di olio di noce sui valori medi percentuali dell'aree normalizzate degli acidi grassi calcolati durante il giorno 90 per i campioni prodotti a 600 rpm: risultati del test di Duncan.

90 gg	600 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
0% O.N.	7,84b	3,49c	22,92a	63,61e	0,47a
25% O.N.	8,28b	4,10d	28,28e	54,28c	3,11b
50% O.N.	6,84a	2,92a	23,47b	57,62d	7,90c
75% O.N.	6,99a	4,30e	26,89d	53,12b	7,16d
100% O.N.	6,66a	3,19b	24,24c	51,31a	13,72e
F	16,820	262,008	1993,931	2810,030	6919,879
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab.7.13** Effetto della percentuale di olio di noce sui valori medi percentuali dell'aree normalizzate degli acidi grassi calcolati durante il giorno 90 per i campioni prodotti a 1200 rpm: risultati del test di Duncan.

90 gg	1200 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
0% O.N.	7,90b	3,74b	25,29a	55,74d	0,64a
25% O.N.	7,15a	4,20c	29,11c	54,31c	3,16b
50% O.N.	10,08c	3,66b	26,48b	57,94e	6,38c
75% O.N.	7,83b	3,63b	26,53b	52,82b	7,92d
100% O.N.	7,00a	3,15a	24,70a	51,22a	12,97e
F	117,842	9,989	76,033	182,995	2861,425
Sig.	<<0,05	0,002	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

I valori percentuali dell'area normalizzata dei cinque acidi grassi monitorati sono stati inoltre sottoposti ad analisi della varianza (ad una via) utilizzando come sorgente di variazione il tempo di conservazione e a test di Duncan, tali analisi sono state effettuate su tutti i campioni, prodotti a 600 e a 1200 rpm (Tab. 7.14 a 7.23).

Nelle tabelle 7.14 e 7.15 sono riportati i risultati dell'ANOVA e del test di Duncan, ottenuti per i diversi tempi di conservazione dei campioni di maionese prodotti senza sostituzione dell'olio di girasole rispettivamente a 600 e a 1200 rpm.

E' possibile notare che in entrambi i casi, i valori dell'area normalizzata del C16:0 tendono a diminuire nel tempo fino al giorno 60 di conservazione, dopo il quale c'è un recupero da parte di entrambi i campioni.

E' possibile notare che nel caso del campione prodotto a 600 rpm (Tab. 7.14) la percentuale di acido stearico è alquanto stabile nel tempo; mentre, per il campione prodotto a 1200 rpm (Tab. 7.15), i valori dell'area normalizzata del C18:0 tendono a diminuire nel tempo.

Inoltre, a parità di giorno di conservazione, l'area percentuale normalizzata di acido stearico dei campioni prodotti a 1200 rpm è sempre superiore a quella dei campioni prodotti a 600 rpm.

La percentuale di acido oleico, invece, diminuisce nel tempo sia per il campione prodotto a 600 rpm sia per il campione prodotto a 1200 rpm. Inoltre, a parità di giorno di conservazione, l'area percentuale normalizzata di acido oleico dei campioni prodotti a 1200 rpm è sempre superiore a quella dei campioni prodotti a 600 rpm.

La percentuale di acido linoleico aumenta nel tempo anche se in maniera non costante per il campione prodotto a 600 rpm (Tab. 7.14); per il campione prodotto a 1200 rpm (Tab. 7.15), la percentuale di acido linoleico è statisticamente costante durante i primi 60 giorni di conservazione, dopodiché diminuisce.

Sempre osservando le tabelle 7.14 e 7.15, è interessante notare che, per entrambi i campioni (600 e 1200 rpm) prodotti esclusivamente con olio di girasole, la percentuale di acido linolenico,

sebbene sia effettivamente minima, diminuisce nel tempo. Ciò a dimostrazione del fatto che col tempo avviene una degradazione di tali acidi grassi che sia essa di natura enzimatica o ossidativa. In diversi casi abbiamo ribadito che a parità di giorno di conservazione, l'area percentuale normalizzata di un acido grasso dei campioni prodotti a 1200 rpm è superiore a quella dei campioni prodotti a 600 rpm; questa affermazione potrebbe essere supportata dalla maggiore stabilità dei campioni dovuta alla microstruttura più chiusa e compatta dei campioni prodotti a 1200 rpm; forse una maggiore stabilità fisica può dare riflesso ad una maggiore stabilità chimica dei campioni stessi.

**Tab. 7.14** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 600 rpm contenenti lo 0% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

0% olio noce	600 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	8,31c	3,62a	26,76c	57,63b	0,89d
31 gg	8,49c	3,50a	26,85c	55,36a	0,80c
60 gg	7,23a	3,88b	23,21b	63,94d	0,70b
90 gg	7,84b	3,49a	22,92a	63,61c	0,47a
F	30,00	9,31	1072,02	3720,33	68,75
Sig.	<<0,05	0,005	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab. 7.15** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 1200 rpm contenenti lo 0% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

0% olio noce	1200 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	8,12c	4,67d	27,81b	58,10b	0,82c
31 gg	8,03bc	4,48c	27,41b	58,03b	0,31a
60 gg	7,43a	4,02b	28,63c	57,67b	0,68b
90 gg	7,90b	3,74a	25,29a	55,74a	0,64b
F	28,87	1024,04	64,74	29,75	337,467
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

Nelle tabelle 7.16 e 7.17 sono riportati i risultati dell'ANOVA e del test di Duncan, ottenuti per i diversi tempi di conservazione dei campioni di maionese prodotti con il 25% di olio di noce rispettivamente a 600 e a 1200 rpm.

I campioni di maionese prodotti con il 25% di olio di noce, sia a 600 che a 1200 rpm, si differenziano nel tempo per i valori percentuali di acido palmitico contenuto; come si può osservare dalla tabella 7.16, il campione prodotto a 600 rpm subisce un decremento iniziale di tale valore, poi dopo il giorno 31 tale valore cresce nel tempo. Per il campione prodotto a 1200 rpm (Tab. 7.17), il valore dell'area percentuale normalizzata di acido palmitico aumenta nel tempo fino al giorno 60, dopo il quale diminuisce.

Anche per i valori percentuali di acido stearico contenuto, entrambi i gruppi di campioni si differenziano nel tempo; come si può osservare, il campione prodotto a 600 rpm subisce un incremento nel tempo di tale valore. Per il campione prodotto a 1200 rpm il valore dell'area percentuale normalizzata di C18:0 mostra nel tempo un andamento altalenante.

In questo caso, a parità di giorno di conservazione, l'area percentuale normalizzata di acido stearico dei campioni prodotti a 1200 rpm è superiore a quella dei campioni prodotti a 600 rpm.

Per quanto riguarda i valori percentuali di acido oleico contenuto, come si può osservare dalle tabelle 7.16 e 7.17, entrambi i campioni mostrano nel tempo un andamento altalenante dei valori dell'area percentuale normalizzata di C18:1.

In questo caso, a parità di giorno di conservazione, l'area percentuale normalizzata di acido oleico dei campioni prodotti a 1200 rpm non è tanto diversa da quella dei campioni prodotti a 600 rpm.

Il campione prodotto a 600 rpm (Tab. 7.16) mostra nel tempo un andamento decrescente dei valori dell'area percentuale normalizzata di C18:2; il campione prodotto a 1200 rpm (Tab. 7.17), invece, mostra un andamento di tale valore inizialmente crescente (tra i giorni 2 e 31), poi dopo il giorno 31 si ha un decremento di tale valore. Anche in questo caso, a parità di giorno di conservazione, l'area percentuale normalizzata di acido linoleico dei campioni prodotti a 1200 rpm non è tanto diversa da quella dei campioni prodotti a 600 rpm, eccetto durante il giorno 2 di conservazione.

Per quanto concerne i valori percentuali di acido linolenico, il campione prodotto a 600 rpm mostra nel tempo un andamento decrescente dei valori dell'area percentuale normalizzata di C18:3 fino al giorno 31, dopo il quale c'è un lieve recupero; anche il campione prodotto a 1200 rpm, mostra un andamento di tale valore decrescente fino al giorno 60, poi dopo il quale si ha un lieve recupero.

**Tab. 7.16** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 600 rpm contenenti il 25% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

25% olio noce	600 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	7,49b	2,97a	25,87a	56,53d	5,57d
31 gg	7,15a	3,89b	28,61d	55,56c	2,71a
60 gg	7,51b	4,08c	27,92b	54,96b	3,56c
90 gg	8,28c	4,10c	28,28c	54,28a	3,11b
F	389,35	2570,22	2132,05	26718,15	20619,50
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab. 7.17** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 1200 rpm contenenti il 25% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

25% olio noce	1200 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	7,53b	4,48c	28,36c	53,81a	3,95d
31 gg	7,58c	3,98a	28,06b	55,36d	3,05b
60 gg	7,91d	5,03b	27,82a	54,60c	2,77a
90 gg	7,15a	4,20d	29,11d	54,31b	3,16c
F	3803,61	23977,94	33684,33	233874,11	3598,84
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

Per quanto riguarda i campioni prodotti con il 50% di olio di noce, quello prodotto a 600 rpm (Tab. 7.18) è caratterizzato da un incremento nel tempo, fino al giorno 60, della percentuale di C16:0; il campione prodotto a 1200 rpm (Tab. 7.18) è caratterizzato da valori percentuali statisticamente uguali durante i primi 60 giorni e da un forte incremento del valore percentuale dell'area normalizzata di tale acido grasso soltanto nell'ultimo giorno di conservazione monitorato.

I valori percentuali di acido stearico per il campione prodotto a 600 rpm sono alquanto stabili nel tempo, eccetto durante il giorno 60; mentre, per il campione prodotto a 1200 rpm, i valori dell'area normalizzata del C18:0 tendono ad essere anch'essi alquanto stabili nel tempo, eccetto che nel giorno 31. Inoltre, a parità di giorno di conservazione, l'area percentuale normalizzata di acido palmitico dei campioni prodotti a 1200 rpm è superiore a quella dei campioni prodotti a 600 rpm; nel giorno 60, invece, la quantità di C18:0 del campione prodotto a 1200 rpm supera in valore percentuale quella del campione prodotto a più bassa velocità.

Osservando la tabella 7.18, possiamo notare che i valori percentuali di acido oleico non sono molto diversi nel tempo, anche se statisticamente risultano differenti; inoltre, per entrambi i campioni, prodotti rispettivamente a 600 e 1200 rpm, i valori dell'area normalizzata del C18:1 crescono nel tempo. In questo caso, a parità di giorno di conservazione, l'area percentuale normalizzata di acido oleico dei campioni prodotti a 1200 rpm è superiore a quella dei campioni prodotti a 600 rpm soltanto durante il giorno 90 di conservazione.

Per quanto riguarda i valori dell'area normalizzata del C18:2, questi decrescono nel tempo, con un piccolo recupero per entrambi i campioni (Tab. 7.18 e 7.19) nel giorno 90 di conservazione.

Infine, entrambi i gruppi di campioni si differenziano nel tempo per i valori percentuali di acido linolenico contenuto; come si può osservare, il campione prodotto a 600 rpm (Tab. 7.18) mostra nel tempo un andamento di tale valore decrescente fino al giorno 60, dopo il quale si ha un lieve recupero; il campione prodotto a 1200 rpm (Tab. 7.19), invece, mostra un andamento di tale valore inizialmente crescente (tra i giorni 2 e 31), poi dopo il giorno 31 si ha un andamento altalenante, di lievissima intensità, di tale valore.

**Tab. 7.18** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 600 rpm contenenti il 50% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

50% olio noce	600 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	6,87a	2,96a	23,25a	60,62d	6,11b
31 gg	7,36b	2,92a	23,30a	59,17c	5,90ab
60 gg	7,92c	4,12b	24,30c	56,55a	5,73a
90 gg	6,84a	2,92a	23,47b	57,62b	7,90c
F	16,17	1180,20	129,83	416,12	122,69
Sig.	0,001	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab. 7.19** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 1200 rpm contenenti il 50% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

50% olio noce	1200 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	6,83a	3,20a	23,22a	61,83d	3,38a
31 gg	6,84a	4,01b	23,93b	57,05a	6,86c
60 gg	6,52a	3,60ab	24,69c	57,53b	6,20b
90 gg	10,08b	3,66b	26,48d	57,94c	6,38b
F	184,18	6,44	107,21	623,85	550,87
Sig.	<<0,05	0,016	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

Come si può osservare dalle tabelle 7.20 e 7.21, entrambi i campioni prodotti con il 75% di olio di noce, mostrano valori percentuali dell'area normalizzata del C16:0 altalenante nel tempo.

I campioni prodotti a 600 rpm, mostrano valori percentuali dell'area normalizzata del C18:0 crescenti nel tempo; i campioni prodotti a 1200 rpm, invece, mostrano nel tempo un andamento del valore percentuale di tale acido grasso altalenante.

Per quanto riguarda i valori percentuali dell'area normalizzata del C18:1, per il campione prodotto a 600 rpm (Tab. 7.20) mostra valori crescenti nel tempo fino al giorno 60; i campioni prodotti a 1200 rpm (Tab. 7.21), invece, mostrano nel tempo un andamento altalenante del valore percentuale di tale acido grasso.

I campioni prodotti con il 75% di olio di noce a 600 rpm, mostrano valori percentuali dell'area normalizzata del C18:2 decrescenti nel tempo fino al giorno 60; mentre i campioni prodotti a 1200 rpm mostrano valori percentuali dell'area normalizzata del C18:2 decrescenti nel tempo fino all'ultimo giorno di conservazione considerato. In questo caso, a parità di giorno di conservazione,

l'area percentuale normalizzata di acido linoleico dei campioni prodotti a 1200 rpm è inferiore a quella dei campioni prodotti a 600 rpm soltanto durante il giorno 2 di conservazione.

Infine, come si può osservare dalla tabella 7.20, i campioni prodotti a 600 rpm, mostrano valori percentuali dell'area normalizzata del C18:3 crescenti nel tempo fino al giorno 31; mentre i campioni prodotti a 1200 rpm (Tab. 7.21) mostrano valori percentuali dell'area normalizzata del C18:3 crescenti nel tempo fino all'ultimo giorno di conservazione considerato.

**Tab. 7.20** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 600 rpm contenenti il 75% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

75% olio noce	600 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	7,54d	2,91a	23,54a	58,55d	6,12a
31 gg	6,48a	3,72b	26,44b	53,57c	8,31d
60 gg	7,10c	4,38d	27,81d	51,36a	7,76c
90 gg	6,99b	4,30c	26,89c	53,12b	7,16b
F	1055,84	2481,51	2125,18	7251,75	11833,50
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab. 7.21** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 1200 rpm contenenti il 75% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

75% olio noce	1200 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	7,80b	3,36a	29,08c	55,32c	6,07a
31 gg	6,95a	3,70c	26,68a	53,71b	7,54b
60 gg	6,66a	4,05d	27,54b	52,67a	7,47b
90 gg	7,83b	3,63b	26,53a	52,82a	7,92c
F	38,84	1610,41	111,379	420,09	266,18
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

In tabella 7.22 e 7.23, sono riportati i risultati dell'ANOVA e del test di Duncan delle aree percentuali normalizzate dei cinque acidi grassi, ottenuti per i diversi tempi di conservazione dei campioni di maionese prodotti con il 100% di olio di noce, rispettivamente a 600 e a 1200 rpm.

In questo caso, per il campione prodotto a 600 rpm (Tab. 7.22), sembra che la quantità di C16:0 diminuisca nel tempo; per il campione prodotto a 1200 rpm (Tab. 7.23), invece, c'è un andamento

piuttosto altalenante; in entrambi i casi comunque, i campioni non sono ben differenziati, si formano infatti soltanto due gruppi (a e b).

Per il campione prodotto a 600 rpm, sembra che la quantità di C18:0 aumenti nel tempo fino al giorno 60, dopodiché decresce; per il secondo campione invece c'è un andamento piuttosto altalenante.

Per quanto riguarda che la quantità di C18:1, per il campione prodotto a 600 rpm, sembra che questa sia altalenante nel tempo, anche se i valori dell'area percentuale media di tale acido grasso sembrano pressoché simili durante i quattro tempi di conservazione presi in considerazione; per il campione prodotto a 1200 rpm, invece, c'è un andamento decrescente nel tempo, anche se, come nel caso del campione prodotto a 600 rpm, i valori dell'area percentuale media di tale acido grasso sembrano pressoché simili durante i quattro tempi di conservazione monitorati. Inoltre, a parità di giorno di conservazione, l'area percentuale normalizzata di acido oleico dei campioni prodotti a 1200 rpm non è tanto diversa da quella dei campioni prodotti a 600 rpm.

Sempre osservando le tabelle 7.22 e 7.23, per entrambi i campioni prodotti rispettivamente a 600 e 1200 rpm, sembra che la quantità di C18:2 sia sostanzialmente decrescente nel tempo. Inoltre, i valori dell'area percentuale media di tale acido grasso sembrano pressoché simili durante i tempi di conservazione presi in considerazione, fatta eccezione dei valori registrati nel giorno 31.

Infine, sembra che la quantità di C18:3 sia sostanzialmente crescente nel tempo per entrambi i campioni. Inoltre, i valori dell'area percentuale media di tale acido grasso sembrano pressoché simili durante i tempi di conservazione presi in considerazione.

**Tab. 7.22** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 600 rpm contenenti il 100% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

100% olio noce	600 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	7,12b	2,70a	25,84c	52,67b	10,65a
31 gg	7,35b	2,91b	24,97b	53,25b	10,33a
60 gg	6,69a	4,58d	25,78c	51,25a	10,54a
90 gg	6,66a	3,19c	24,24a	51,31a	13,72b
F	9,09	474,72	39,63	16,14	281,48
Sig.	0,006	<<0,05	<<0,05	0,001	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab. 7.23** Effetto del tempo di conservazione sui valori medi percentuali delle aree normalizzate degli acidi grassi dei campioni prodotti a 1200 rpm contenenti il 100% di olio di noce: risultati del test di Duncan.

100% olio noce	1200 rpm				
	Area % Norm C16:0	Area % Norm C18:0	Area % Norm C18:1	Area % Norm C18:2	Area % Norm C18:3
2 gg	6,87a	2,95a	25,52b	52,18c	11,28a
31 gg	8,25b	3,87d	25,84c	50,05a	10,84a
60 gg	6,79a	3,37c	25,99c	51,19b	11,44a
90 gg	7,00a	3,15b	24,70a	51,22b	12,97b
F	30,78	264,66	102,09	99,03	21,17
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

## 7.2. Acidità

Questo indice esprime il contenuto in peso percentuale di acidi grassi liberi e presenta particolare valore analitico per stabilire lo stato di conservazione dei grassi e per valutare la loro qualità. Il valore dell'acidità della frazione lipidica dei campioni prodotti è stato determinato come descritto nel paragrafo 4.2.5.

La misura dell'acidità è stata effettuata anche sulle due matrici lipidiche utilizzate, l'olio di girasole presenta valori dell'acidità pari a 0,3, l'olio di noce, invece presenta valori dell'acidità pari a circa 1,3.

Comunque, bisogna considerare che le misure di acidità sono state effettuate sulla frazione lipidica estratta dai campioni di maionese; la frazione lipidica estratta è composta da olio e dalla componente lipidica del tuorlo d'uovo utilizzato per produrre i campioni sperimentali.

I valori assunti dall'acidità durante i giorni di conservazione 2, 31, 60 e 90 dei campioni prodotti a 600 e 1200 rpm sono stati sottoposti inizialmente ad analisi della varianza bivariata, utilizzando i giorni di conservazione ed il contenuto di olio di noce come fattori di variazione.

In tabella 7.24 sono riportati i valori di F e della significatività ( $p < 0,05$ ) ottenuti. Da questa prima analisi si evince che entrambi i fattori considerati hanno un effetto significativo sull'acidità, poiché per entrambi il valore della significatività è inferiore a 0.05.

**Tab. 7.24** Risultati dell'analisi della varianza bivariata effettuata sul acidità: valori di F e della significatività.

Sorgente di variazione	600 rpm		1200rpm	
	F	Sig.	F	Sig.
gg	55,559	<<0,05	136,783	<<0,05
% olio di noce	1390,919	<<0,05	429,038	<<0,05
gg*% olio di noce	79,478	<<0,05	253,211	<<0,05
R <sup>2</sup>	0,994		0,989	

Dopo questa prima indagine statistica, i valori dell'acidità sono stati sottoposti ad analisi della varianza univariata e a test di Duncan, utilizzando come sorgente di variazione prima il tempo di conservazione, poi la percentuale di olio di noce utilizzata.

Tali analisi sono state effettuate su tutti i campioni, prodotti a 600 e a 1200 rpm; nelle tabelle 7.25 e 7.26 sono riportati i valori medi dell'acidità ed i risultati del test di Duncan; in ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ) per l'effetto tempo di conservazione, in ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ) per l'effetto livello di olio di noce utilizzato.

Per osservare l'effetto del tempo sui valori di acidità misurati per tutti i campioni prodotti, occorre prendere in considerazione le tabelle 7.25 e 7.26 e confrontare i valori sulla stessa colonna (lettere minuscole).

Per quanto riguarda i campioni prodotti esclusivamente con olio di girasole, è interessante notare che, i campioni prodotti a 600 rpm mostrano valori dell'acidità che decresce nel tempo; al contrario, l'acidità dei campioni prodotti a 1200 rpm cresce con il trascorrere del tempo.

I campioni prodotti con il 25% di olio di noce, sia a 600 che a 1200 rpm, sono caratterizzati da valori dell'acidità che diminuiscono nel tempo. Entrambi i campioni sono comunque caratterizzati da una bassissima acidità durante tutti i tempi di conservazione considerati.

Per quanto riguarda i campioni prodotti con il 50% di olio di noce, il campione prodotto a 600 rpm (Tab. 7.25) è caratterizzato da valori dell'acidità altalenanti nel tempo, mentre il campione prodotto a 1200 rpm (Tab. 7.26) è caratterizzato da valori dell'acidità decrescenti nel tempo.

Invece, entrambi i campioni prodotti con il 75% di olio di noce si differenziano nel tempo per i valori dell'acidità ed entrambi i gruppi mostrano nel tempo un andamento di tale valore altalenante.

Infine, i campioni prodotti con il 100% di olio di noce a 600 rpm, mostrano valori dell'acidità decrescenti nel tempo fino al giorno 60, dopo il quale tale valore si posiziona tra i valori dell'acidità misurati durante i giorni 2 e 31; mentre il campione prodotto a 1200 rpm mostra valori dell'acidità decrescenti durante i giorni 2 e 31, e successivamente statisticamente invariati col trascorrere del tempo di conservazione. A parità di giorno di conservazione, i valori di acidità del campione prodotto a 1200 rpm sono inferiore a quelli del campione prodotto a 600 rpm, eccetto durante il giorno 60 di conservazione per il quale i due valori sono uguali.

Per quanto riguarda l'effetto del livello di sostituzione dell'olio di girasole con olio di noce (lettere maiuscole, confrontare i valori sulla stessa riga) sui valori dell'acidità, possiamo affermare che con l'aumentare della concentrazione di olio di noce il valore di tale indice aumenta per tutti i campioni prodotti sia a 600 (Tab. 7.25) sia a 1200 rpm (Tab. 7.26) durante tutti i tempi di conservazione considerati.

**Tab. 7.25** Effetto del tempo di conservazione e del livello di olio di noce sui valori medi dell'acidità di tutti i campioni prodotti a 600 rpm: risultati del test di Duncan.

ACIDITA'	600 rpm				
	0% olio noce	25% olio noce	50% olio noce	75% olio noce	100% olio noce
2 gg	0,70 <b>cB</b>	0,62 <b>bA</b>	0,97 <b>cD</b>	0,89 <b>cC</b>	1,34 <b>dE</b>
31 gg	0,66 <b>bA</b>	0,61 <b>bA</b>	0,89 <b>bC</b>	0,83 <b>bB</b>	1,28 <b>cD</b>
60 gg	0,65 <b>bA</b>	0,65 <b>cA</b>	0,78 <b>aB</b>	1,05 <b>dC</b>	1,09 <b>aD</b>
90 gg	0,39 <b>aA</b>	0,51 <b>aB</b>	1,13 <b>dC</b>	0,78 <b>aD</b>	1,15 <b>bE</b>
F	196,24	130,08	42,49	652,00	42,84
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ). In ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab. 7.26** Effetto del tempo di conservazione e del livello di olio di noce sui valori medi dell'acidità di tutti i campioni prodotti a 1200 rpm: risultati del test di Duncan.

ACIDITA'	1200 rpm				
	0% olio noce	25% olio noce	50% olio noce	75% olio noce	100% olio noce
2 gg	0,28 <b>aA</b>	0,86 <b>dB</b>	1,05 <b>cC</b>	0,84 <b>aB</b>	1,20 <b>bD</b>
31 gg	0,29 <b>aA</b>	0,79 <b>cB</b>	0,88 <b>bC</b>	0,99 <b>cD</b>	1,07 <b>aE</b>
60 gg	0,45 <b>bA</b>	0,61 <b>bB</b>	0,83 <b>abC</b>	0,92 <b>bD</b>	1,09 <b>aE</b>
90 gg	1,51 <b>cE</b>	0,59 <b>aA</b>	0,77 <b>aB</b>	1,01 <b>cC</b>	1,11 <b>aD</b>
F	7649,81	671,03	18,52	33,69	5,16
Sig.	<<0,05	<<0,05	0,001	<<0,05	0,028

In ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ). In ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

### 7.3. Numero di perossidi

Il numero dei perossidi esprime il contenuto di perossidi ed idroperossidi presenti nell'olio. Questi sono naturalmente presenti nei grassi vegetali, ma tendono ad aumentare a contatto con l'ossigeno atmosferico e con la presenza di enzimi, pigmenti, metalli e radiazione ultravioletta. In questo fenomeno ossidativo si formano anche gruppi aldeidici e chetonici.

Il grado di irrancidimento ossidativo dell'olio è stato valutato mediante la determinazione del numero di perossidi secondo quanto riportato nel paragrafo 4.2.6.

La misura del numero di perossidi è stata effettuata anche sulle due matrici lipidiche utilizzate. In questo caso l'olio di girasole e l'olio di noce presentano valori uguali e pari a 7,6.,

La determinazione del numero di perossidi è stata effettuata per tutti i campioni prodotti a 600 e 1200 rpm durante i giorni di conservazione 2, 31, 60 e 90; tali valori sono stati sottoposti inizialmente ad analisi della varianza bivariata, utilizzando i giorni di conservazione ed il contenuto di olio di noce come fattori di variazione.

In tabella 7.27 sono riportati i valori di F e della significatività ( $p < 0.05$ ) ottenuti. Da questa prima analisi si evince che entrambi i fattori considerati hanno un effetto significativo sull'acidità, poiché per entrambi il valore della significatività è inferiore a 0.05.

**Tab. 7.27** Risultati dell'analisi della varianza bivariata effettuata sul NP: valori di F e della significatività.

Sorgente di variazione	600 rpm		1200rpm	
	F	Sig.	F	Sig.
gg	5294,305	<<0,05	861,511	<<0,05
% olio di noce	820,926	<<0,05	536,380	<<0,05
gg*% olio di noce	632,176	<<0,05	282,093	<<0,05
R <sup>2</sup>	0,999		0,993	

Dopo questa prima indagine statistica, i valori del numero di perossidi sono stati sottoposti ad analisi della varianza univariata e a test di Duncan, utilizzando come sorgente di variazione prima il tempo di conservazione, poi la percentuale di olio di noce utilizzata.

Tali analisi sono state effettuate su tutti i campioni, prodotti a 600 e a 1200 rpm; nelle tabelle 7.28 e 7.29 sono riportati i valori medi del numero di perossidi ed i risultati del test di Duncan; in ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ) per l'effetto tempo di conservazione, in ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ) per l'effetto livello di olio di noce utilizzato.

Per osservare l'effetto del tempo sui valori del numero di perossidi misurati per tutti i campioni prodotti, occorre prendere in considerazione le tabelle 7.28 e 7.29 e confrontare i valori sulla stessa colonna (lettere minuscole).

Per quanto riguarda i campioni prodotti esclusivamente con olio di girasole, è interessante notare che, i campioni prodotti a 600 rpm mostrano valori di tale parametro che cresce nel tempo; al contrario, il numero di perossidi dei campioni prodotti a 1200 rpm decresce con il trascorrere del tempo.

Per i campioni prodotti con il 25% di olio di noce, sia a 600 che a 1200 rpm è interessante notare che, per entrambi, i valori dell'acidità aumentano nel tempo. Entrambi i campioni sono comunque caratterizzati da numero di perossidi simili durante i primi tempi di conservazione considerati, 2 e 31 giorni.

I campioni prodotti con il 50% di olio di noce, sia a 600 che a 1200 rpm si differenziano nel tempo per i valori del numero di perossidi; come si può osservare, il campione prodotto a 600 rpm (Tab. 7.28) mostra nel tempo un andamento di tale valore crescente fino al giorno 60, dopo il quale si ha una lieve diminuzione di tale parametro; il campione prodotto a 1200 rpm (Tab. 7.29) mostra un andamento del numero di perossidi uguale a quello descritto per il campione prodotto a 600 rpm.

Anche i campioni contenenti il 75% di olio di noce, prodotti sia a 600 che a 1200 rpm, si differenziano nel tempo per i valori dell'acidità ed entrambi i gruppi mostrano nel tempo un andamento di tale valore crescente.

Infine, i campioni prodotti con il 100% di olio di noce sia a 600 sia a 1200 rpm, mostrano valori del numero di perossidi crescenti nel tempo. A parità di giorno di conservazione, i valori del numero di perossidi del campione prodotto a 1200 rpm è inferiore a quelli del campione prodotto a 600 rpm, eccetto durante il giorno 31 di conservazione .

Per quanto riguarda l'effetto del livello di sostituzione dell'olio di girasole con olio di noce (lettere maiuscole, confrontare i valori sulla stessa riga) sui valori del numero di perossidi, possiamo affermare che con l'aumentare della concentrazione di olio di noce il valore di tale indice è altalenante per tutti i campioni prodotti sia a 600 (Tab. 7.28) sia a 1200 (Tab. 7.29) rpm durante tutti i tempi di conservazione considerati. Si deduce quindi che l'aumento del valore di questo parametro non è dovuto al maggiore livello di sostituzione dell'olio di noce.

**Tab. 7.28** Effetto del tempo di conservazione e del livello di olio di noce sui valori medi del numero di perossidi di tutti i campioni prodotti a 600 rpm: risultati del test di Duncan.

N.P.	600 rpm				
	0% olio noce	25% olio noce	50% olio noce	75% olio noce	100% olio noce
2 gg	9,00aD	7,03aC	10,60bE	3,67aA	6,67aB
31 gg	9,07aC	12,09bE	10,32aD	8,13bB	8,06bA
60 gg	11,15bB	13,23cC	13,66dD	14,25cE	10,36cA
90 gg	11,40bB	14,68dC	11,30cB	14,92dC	10,88dA
F	207,83	9827,87	327,18	2221,70	3238,12
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ). In ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab. 7.29** Effetto del tempo di conservazione e del livello di olio di noce sui valori medi del numero di perossidi di tutti i campioni prodotti a 1200 rpm: risultati del test di Duncan.

N.P.	1200 rpm				
	0% olio noce	25% olio noce	50% olio noce	75% olio noce	100% olio noce
2 gg	13,44cE	7,40aC	10,50aD	3,97aA	5,19aB
31 gg	13,21cE	12,59bD	11,12bC	7,56bA	8,68bB
60 gg	11,26bB	12,90cD	12,70dC	13,73cE	9,10bA
90 gg	10,75aA	13,08dB	12,33cB	13,95dD	10,07cA
F	206,63	13548,82	387,85	23499,61	53,65
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ). In ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

## 8. CARATTERIZZAZIONE STRUMENTALE

### 8.1. pH

I valori assunti dal pH durante i giorni di conservazione 2, 31, 60 e 90 dei campioni prodotti a 600 e 1200 rpm sono stati sottoposti inizialmente ad analisi della varianza bivariata, utilizzando i giorni di conservazione ed il contenuto di olio di noce come fattori di variazione.

In tabella 8.1 sono riportati i valori di F e della significatività ( $p < 0.05$ ) ottenuti. Da questa prima analisi si evince che entrambi i fattori considerati hanno un effetto significativo sul pH, poiché per entrambi il valore della significatività è inferiore a 0.05.

**Tab. 8.1** Risultati dell'analisi della varianza bivariata effettuata sul pH: valori di F e della significatività.

Sorgente di variazione	600 rpm		1200rpm	
	F	Sig.	F	Sig.
gg	481,703	<<0,05	953,049	<<0,05
% olio di noce	698,431	<<0,05	1704,369	<<0,05
gg*% olio di noce	196,398	<<0,05	347,626	<<0,05
R <sup>2</sup>	0,991		0,996	

Dopo questa prima indagine statistica, i valori del pH sono stati sottoposti ad analisi della varianza univariata e a test di Duncan, utilizzando come sorgente di variazione prima il tempo di conservazione, poi la percentuale di olio di noce utilizzata.

Tali analisi sono state effettuate su tutti i campioni, prodotti a 600 e a 1200 rpm; nelle tabelle 8.2 e 8.3 sono riportati i valori medi del pH ed i risultati del test di Duncan; in ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ) per l'effetto tempo di conservazione, in ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ) per l'effetto livello di olio di noce utilizzato.

Osservando le tabelle 8.2 e 8.3 possiamo notare che per i campioni di maionese prodotti senza sostituzione dell'olio di girasole, sia a 600 sia a 1200 rpm, i valori del pH tendono ad aumentare col passare del tempo, anche se in modo non costante, fino a raggiungere un massimo al giorno 60 di conservazione, il giorno 90 è invece caratterizzato da valori di pH simili a quelli registrati nel primo giorno di conservazione considerato; comunque, per entrambi i gruppi, i campioni si suddividono in tre gruppi.

Per quanto riguarda i campioni prodotti utilizzando il 25% di olio di noce, per entrambe le velocità di rotazione utilizzate, i valori di pH non seguono un andamento preciso col passare del tempo di conservazione, essi infatti sono alquanto altalenanti.

Al contrario di quanto successo per i campioni con lo 0% ed il 25% di olio di noce, i campioni prodotti con il 50% di olio di noce mostrano valori di pH che decrescono col trascorrere del tempo di conservazione; per il campione prodotto a 600 rpm i valori di pH si suddividono in tre gruppi, mentre per quello prodotto a 1200 rpm i valori di pH si suddividono addirittura in quattro gruppi.

Per i campioni di maionese prodotti con il 75% di olio di noce, sia a 600 sia a 1200 rpm, si possono osservare due diverse tendenze. Il campione prodotto a 600 rpm è caratterizzato da valori di pH altalenanti durante il tempo di conservazione, in realtà al giorno 31 si raggiunge un picco mentre tra il giorno 60 e 90 non si notano variazioni. Il campione prodotto a 1200 rpm è caratterizzato da valori di pH crescenti nel tempo, anche se in realtà non vi sono differenze statisticamente significative tra i valori di pH al giorno 2 e 31 e tra i valori di pH al giorno 60 e 90.

Infine, per entrambi i campioni prodotti con il 100% di olio di noci i valori assunti dal pH diminuiscono col trascorrere del tempo; comunque, per entrambi i gruppi, i campioni si suddividono in ben quattro gruppi differenti.

Per quanto riguarda l'effetto del livello di sostituzione dell'olio di girasole con olio di noce sui valori assunti dal pH da tutti i campioni prodotti, possiamo affermare che con l'aumentare della concentrazione di olio di noce il pH non assume nessun andamento; esso risulta essere altalenante per tutti i campioni prodotti (600 e 1200 rpm) durante tutti i tempi di conservazione considerati.

**Tab. 8.2** Effetto del tempo di conservazione e del livello di olio di noce sui valori medi del pH di tutti i campioni prodotti a 600 rpm: risultati del test di Duncan.

pH	600 rpm				
	0% olio noce	25% olio noce	50% olio noce	75% olio noce	100% olio noce
2 gg	4,41 <b>bC</b>	4,44 <b>dD</b>	4,36 <b>cB</b>	4,11 <b>aA</b>	4,44 <b>cD</b>
31 gg	4,57 <b>cD</b>	4,28 <b>aA</b>	4,35 <b>cB</b>	4,26 <b>cA</b>	4,47 <b>dC</b>
60 gg	4,58 <b>cE</b>	4,39 <b>cD</b>	4,18 <b>bA</b>	4,20 <b>bB</b>	4,29 <b>bC</b>
90 gg	4,22 <b>aC</b>	4,37 <b>bD</b>	4,10 <b>aA</b>	4,20 <b>bBC</b>	4,19 <b>aB</b>
F	1709,50	74,73	496,56	29,75	400,06
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05	<<0,05

In ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ). In ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab. 8.3** Effetto del tempo di conservazione e del livello di olio di noce sui valori medi del pH di tutti i campioni prodotti a 1200 rpm: risultati del test di Duncan.

pH	1200 rpm				
	0% olio noce	25% olio noce	50% olio noce	75% olio noce	100% olio noce
2 gg	4,15 <b>aB</b>	4,29 <b>cC</b>	4,49 <b>dD</b>	4,03 <b>aA</b>	4,55 <b>dE</b>
31 gg	4,31 <b>bC</b>	4,17 <b>aB</b>	4,43 <b>cD</b>	4,05 <b>aA</b>	4,45 <b>cD</b>
60 gg	4,35 <b>cC</b>	4,22 <b>bB</b>	4,40 <b>bD</b>	4,10 <b>bA</b>	4,37 <b>bC</b>
90 gg	4,17 <b>aD</b>	4,17 <b>aD</b>	4,08 <b>aA</b>	4,11 <b>bB</b>	4,13 <b>aC</b>
F	304,94	204,44	1984,61	18,81	1128,92
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	0,001	<<0,05

In ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ). In ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

Possiamo quindi concludere che le variazioni di pH riscontrate nel tempo per tutti i campioni di maionese prodotti non seguono un andamento ben preciso; inoltre, poiché tali variazioni si verificano un range molto ristretto, allora è possibile considerare che tale parametro non varia, cioè rimane alquanto costante.

## 8.2. Colore

I risultati delle rilevazioni colorimetriche, espresse mediante le coordinate cromatiche  $L$ ,  $a$  e  $b$ , sono stati utilizzati per valutare il White Index (WI), tale parametro è stato calcolato utilizzando l'equazione 8.1.

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2} \quad [8.1]$$

Per poter studiare l'effetto della sostituzione percentuale dell'olio di girasole con olio di noce, l'effetto della velocità di rotazione e l'effetto del tempo di conservazione, i valori assunti dall'indice di bianchezza (WI) sono stati sottoposti ad analisi della varianza e test di Duncan.

I valori assunti dal WI durante i giorni di conservazione 2, 31, 60 e 90 dei campioni prodotti a 600 e 1200 rpm sono stati sottoposti inizialmente ad analisi della varianza bivariata, utilizzando i giorni di conservazione ed il contenuto di olio di noce come fattori di variazione. In tabella 8.4 sono riportati i valori di F e della significatività ( $p < 0.05$ ) ottenuti. Da questa prima analisi si evince che entrambi i fattori considerati hanno un effetto significativo sul WI, poiché per entrambi il valore della significatività è inferiore a 0.05.

**Tab. 8.4** Risultati dell'analisi della varianza bivariata effettuata sul WI: valori di F e della significatività.

Sorgente di variazione	600 rpm		1200rpm	
	F	Sig.	F	Sig.
gg	129,564	<<0,05	318,878	<<0,05
% olio di noce	393,701	<<0,05	113,054	<<0,05
gg*% olio di noce	43,400	<<0,05	230,479	<<0,05
R <sup>2</sup>	0,997		0,985	

Dopo questa prima indagine statistica, i valori del pH sono stati sottoposti ad analisi della varianza univariata e a test di Duncan, utilizzando come sorgente di variazione prima il tempo di conservazione, poi la percentuale di olio di noce utilizzata.

Tali analisi sono state effettuate su tutti i campioni, prodotti a 600 e a 1200 rpm; nelle tabelle 8.5 e 8.6 sono riportati i valori medi del WI ed i risultati del test di Duncan; in ogni colonna a lettere

(minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ) per l'effetto tempo di conservazione, in ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ) per l'effetto livello di olio di noce utilizzato.

Osservando le tabelle 8.5 e 8.6 possiamo notare che i campioni di maionese prodotti senza sostituzione dell'olio di girasole, sia a 600 sia a 1200 rpm, sono caratterizzati da valori del White Index che tendono ad aumentare col passare del tempo, anche se in modo non costante, fino a raggiungere un massimo al giorno 90 di conservazione. La maionese tende ad assumere una colorazione via via più chiara col passare dei giorni di conservazione.

Inoltre, i campioni prodotti a 600 rpm si distribuiscono in 3 gruppi a dimostrazione del fatto che sono significativamente differenti tra loro, mentre per i campioni preparati a 1200 rpm si registra una sorta di appiattimento di tale differenza, dato che si distribuiscono in soli 2 gruppi. Per i campioni preparati a 1200 rpm, durante i primi 60 giorni di conservazione la bianchezza del campione rimane pressoché inalterata e subisce un notevole incremento, di circa 10 punti, soltanto al giorno 90.

Un'ulteriore osservazione dei risultati ottenuti per i campioni prodotti esclusivamente con olio di girasole ci porta ad affermare che l'indice di bianchezza, a parità di giorno di conservazione, assume valori sempre più elevati per i campioni preparati a 1200 giri.

Per quanto concerne i campioni di maionese prodotti con il 25% di olio di noce, sia a 600 sia a 1200 rpm, i valori del *White Index* tendono ad aumentare col passare del tempo di conservazione per il campione prodotto a 600 rpm suddividendosi in tre gruppi, in questo caso l'incremento del WI continua fino al giorno 60. Per quanto riguarda il campione prodotto a 1200 rpm, si ha comunque un incremento dell'indice colorimetrico monitorato nel tempo, escludendo però il valore assunto dal WI il giorno 31.

Escludendo il giorno 31 di conservazione e confrontando i dati sperimentali ottenuti per i due campioni prodotti a 600 e 1200 rpm, possiamo affermare che le differenze tra i valori assunti dal WI sono lievissime al giorno 2 di conservazione e tendono a scomparire al giorno 90 di conservazione. Per i campioni con un livello di sostituzione pari al 50% di olio di noce, i valori di WI riscontrati si suddividono in tre gruppi e seguono un andamento crescente con l'aumentare dei tempi di conservazione per i campioni prodotti a 600 rpm; per i campioni prodotti con lo stesso livello di olio di noce, ma prodotti a 1200 rpm i valori del WI aumentano col tempo ma subendo uno sbalzo caratterizzato da un forte incremento al giorno 31.

I valori più alti di WI si raggiungono intorno al giorno 90 di conservazione per la maionese prodotta a 600 rpm e verso il giorno 31 e 90 per quella a 1200 rpm.

Anche per questi due campioni la differenza, a parità di giorno di conservazione, tra i valori dell'indice di bianchezza è minima, comunque resta che il campione prodotto a 1200 rpm risulta più "bianco" di quello prodotto a 600 rpm eccetto al giorno 2 di conservazione.

Per quanto riguarda i campioni prodotti utilizzando il 75% di olio di noce, dall'osservazione dei risultati dell'analisi della varianza e del test di Duncan risulta chiaro che l'indice di bianchezza non subisce nessuna variazione statisticamente significativa durante la conservazione per i campioni prodotti a 600 rpm, mentre la variazione subita nel tempo dall'indice WI per i campioni prodotti a

1200 rpm esiste, ma non è eccessivamente significativa dal punto di vista statistico ( $p=0,015$ ). Per questa coppia di campioni, inoltre, le differenze tra i valori assunti dal WI considerando lo stesso tempo di conservazione sono veramente minime, soltanto al giorno 90 diventano superiori ad un punto; comunque, anche in questo caso, i campioni prodotti con un maggiore numero di giri al minuto risultano avere sempre un indice di bianchezza maggiore.

Nel caso dei campioni in cui la frazione lipidica è stata sostituita completamente con olio di noce, l'andamento dell'indice colorimetrico considerato risulta non ben definito. In particolare, per il campione prodotto a 600 rpm si ha un picco al giorno 31 e successivamente un abbassamento dei valori assunti dal WI, dove il valore più basso si raggiunge al giorno 90; per il campione di maionese prodotto a 1200 rpm, si ha sempre un picco al giorno 31, ma dopo il giorno 60 i valori assunti dal WI aumentano.

Per questa coppia di campioni, la differenza esistente tra i valori assunti dal WI durante il medesimo giorno di conservazione è marcata al giorno 2 (circa 6 punti) per poi diminuire fino al giorno 60 e aumentare nuovamente durante l'ultimo giorno di conservazione considerato. In questo caso, utilizzando esclusivamente olio di noce per la preparazione dei campioni di maionese, la differenza in termini di bianchezza tra i due campioni non sembra evidente come per i campioni prodotti esclusivamente con olio di girasole.

Dalle tabelle 8.5 e 8.6 si evince che vi sono delle differenze significative tra i cinque campioni con 0, 25, 50, 75 e 100% di olio di noce, prodotti rispettivamente a 600 e 1200 rpm.

Per quanto concerne le preparazioni a 600 rpm, i cinque campioni risultano significativamente differenti suddividendosi in tre gruppi.

I campioni prodotti a 1200 rpm risultano, come nel caso precedente, anch'essi suddivisi in tre gruppi; in questo caso i campioni prodotti con il 50, 75 e 100% di olio di noce appartengono tutti allo stesso gruppo caratterizzato da valori più elevati del WI.

Naturalmente bisogna considerare che i valori assunti dal WI sono calcolati secondo l'equazione 8.1, per cui i campioni sebbene siano stati prodotti con una percentuale di olio di noce maggiore risultano più "bianchi" di quelli prodotti con una percentuale di olio di noce minore.

Inoltre, è possibile notare, a parità di olio di noce utilizzato, l'effetto dovuto alle differenti modalità di processo confrontando i valori medi assunti dall'indice di bianchezza. Osservando sempre la tabella 8.6 si può affermare che i campioni prodotti con lo 0% e il 100% di olio di noce a 1200 rpm sono caratterizzati da un indice di bianchezza maggiore di circa 6 punti rispetto ai campioni prodotti a 600 rpm (Tab. 8.5).

Anche al giorno 31 di conservazione i campioni con 0, 25, 50, 75 e 100% di olio di noce risultano significativamente differenti tra loro rispettivamente a 600 e 1200 rpm. Osservando la tabella 8.5 si può notare che per i campioni prodotti a 600 rpm il valore medio del WI aumenta con l'aumentare del livello di sostituzione dell'olio di noce, mentre per i campioni prodotti a 1200 rpm (Tab. 8.6) tale parametro assume valori altalenanti con l'aumentare della percentuale di olio di noce. Inoltre, possiamo affermare che a parità di livello di sostituzione di olio di noce, i valori assunti dal WI per i campioni prodotti a 1200 rpm risultano sempre maggiori di quelli dei campioni prodotti a velocità di giri inferiore.

Per quanto riguarda i tempi più lunghi di conservazione, l'indice colorimetrico WI assume valori altalenanti con l'aumentare della percentuale di olio di noce sia per i campioni prodotti a 600 rpm sia per quelli prodotti a 1200 rpm.

Inoltre, sia al giorno 60 sia al giorno 90, i campioni prodotti con lo 0% e il 100% di olio di noce a 1200 rpm sono caratterizzati da un indice di bianchezza maggiore rispetto ai campioni prodotti a 600 rpm.

Possiamo quindi concludere che le variazioni dell'indice di bianchezza riscontrate nel tempo per tutti i campioni di maionese prodotti non seguono un andamento ben preciso; ciò che maggiormente è stato evidenziato è che i campioni di maionese prodotti a velocità maggiori risultano più "bianchi" dei campioni prodotti a velocità inferiori, ciò è valido sia a parità di tempo di conservazione sia a parità di livello di olio di noce utilizzato. Questo fenomeno è sicuramente spiegato dalla struttura che caratterizza i campioni; la maionese risulta più luminosa e meno gialla (in accordo con Worrasinchai *et al.*, 2006 e Santipanichwong & Supphantharika, 2007), ciò potrebbe essere dovuto alla minore grandezza delle particelle che diffrangono la luce più efficientemente; nelle emulsioni la diffrazione è il fenomeno che determina la lucentezza, mentre l'assorbimento della luce ne determina il colore.

Per quanto riguarda la stabilità del colore durante i 90 giorni di conservazione possiamo affermare che nella maionese la lucentezza diminuisce rapidamente nei primi sette giorni e poi più lentamente, probabilmente a causa dell'aumento della grandezza delle goccioline e quindi ad una diminuzione dell'efficienza di diffrazione (in accordo con Worrasinchai *et al.*, 2006 e Santipanichwong & Supphantharika, 2007).

**Tab. 8.5** Effetto del tempo di conservazione e del livello di olio di noce sui valori medi del WI di tutti i campioni prodotti a 600 rpm: risultati del test di Duncan.

WI	600 rpm				
	0% olio noce	25% olio noce	50% olio noce	75% olio noce	100% olio noce
2 gg	49,93 <b>aA</b>	52,60 <b>aB</b>	59,16 <b>aC</b>	58,92 <b>aC</b>	52,71 <b>aB</b>
31 gg	52,66 <b>bA</b>	54,36 <b>bB</b>	60,03 <b>bC</b>	58,71 <b>aC</b>	59,24 <b>bC</b>
60 gg	53,20 <b>bA</b>	58,49 <b>cC</b>	60,16 <b>bB</b>	59,10 <b>aC</b>	54,57 <b>aB</b>
90 gg	56,64 <b>cB</b>	58,34 <b>cC</b>	64,10 <b>cD</b>	58,78 <b>aC</b>	54,40 <b>aA</b>
F	117,79	218,57	130,48	0,89	25,90
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	0,49	<<0,05

In ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ). In ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

**Tab. 8.6** Effetto del tempo di conservazione e del livello di olio di noce sui valori medi del WI di tutti i campioni prodotti a 1200 rpm: risultati del test di Duncan.

WI	1200 rpm				
	0% olio noce	25% olio noce	50% olio noce	75% olio noce	100% olio noce
2 gg	55,43 <b>aB</b>	50,93 <b>aA</b>	58,41 <b>aC</b>	59,12 <b>abC</b>	58,44 <b>aC</b>
31 gg	55,97 <b>aA</b>	60,01 <b>dC</b>	62,82 <b>cE</b>	59,01 <b>aB</b>	61,79 <b>cD</b>
60 gg	55,61 <b>aA</b>	57,59 <b>bB</b>	59,53 <b>bC</b>	59,93 <b>bcC</b>	57,40 <b>aB</b>
90 gg	65,24 <b>bE</b>	58,47 <b>cA</b>	62,18 <b>cD</b>	60,44 <b>cC</b>	59,76 <b>bB</b>
F	450,65	445,23	86,18	6,65	26,51
Sig.	<<0,05	<<0,05	<<0,05	0,015	<<0,05

In ogni colonna a lettere (minuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ). In ogni riga a lettere (maiuscole) diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ ).

## 9. CARATTERIZZAZIONE SENSORIALE

### 9.1. Analisi descrittiva quantitativa

Per tutti i campioni di maionese preparati al tempo zero, è stato determinato il profilo sensoriale. A tale scopo è stata effettuata l'analisi quantitativa descrittiva (QDA) utilizzando un panel costituito da otto giudici opportunamente addestrati.

#### 9.1.1. Fase di addestramento

La fase di addestramento è stata suddivisa in due steps. Inizialmente sono state svolte sedute d'assaggio aperte, in cui i giudici hanno familiarizzato con tre diversi campioni di maionese a 0%, 50%, 100% di olio di noce.

Successivamente l'addestramento è stato condotto in cabina, dove i giudici hanno valutato gli attributi visivi, olfattivi, gustativi e di texture dei prodotti in analisi con l'aiuto di apposite scale di valutazione.

Per valutare la riproducibilità dei giudici e la capacità discriminativa degli attributi analizzati, i risultati ottenuti durante la fase di addestramento sono stati sottoposti ad analisi della varianza a tre vie, valutando l'effetto campione, l'effetto replica e l'effetto giudice.

**Tab.9.1** Analisi della varianza (giudici, repliche e campioni come sorgenti di variazione) sui risultati della fase di addestramento.

	EFFETTO CAMPIONE		EFFETTO GIUDICE		EFFETTO REPLICA	
	F	p	F	p	F	p
<b>FLUIDITÀ</b>	201,28	<<0,05	0,27	0,96	0,03	0,97
<b>SPALMABILITÀ</b>	191,51	<<0,05	0,27	0,96	0,09	0,91
<b>COLORE</b>	159,40	<<0,05	0,22	0,98	0,25	0,78
<b>ODORE DI ACETO</b>	25,13	<<0,05	1,84	0,09	0,62	0,54
<b>ODORE DI LIMONE</b>	28,94	<<0,05	2,32	<<0,05	0,19	0,83
<b>ODORE DI NOCE</b>	132,18	<<0,05	0,09	1,00	0,01	0,99
<b>ODORE GLOBALE</b>	73,06	<<0,05	0,44	0,88	0,20	0,82
<b>SAPORE ACIDO</b>	17,81	<<0,05	1,96	0,07	0,84	0,44
<b>FLAVOUR DI NOCE</b>	173,80	<<0,05	0,04	1,00	0,06	0,94
<b>SAPORE SALATO</b>	7,05	0,002	4,88	<0,05	1,07	0,35
<b>SAPORE AMARO</b>	125,69	<<0,05	0,14	0,99	0,08	0,92
<b>DENSITÀ</b>	105,66	<<0,05	0,09	1,00	0,20	0,82
<b>UNTUOSITÀ</b>	45,04	<<0,05	0,23	0,98	0,50	0,61

Nella tabella 9.1 sono riportati i valori di F e p, relativi rispettivamente all'effetto campione, effetto giudice ed effetto replica.

I risultati emersi, mostrano una differenza significativa tra i campioni, in quanto il valore p risulta essere sempre <0.05 tranne nel caso del sapore salato, per il quale i giudici non hanno evidenziato grosse differenze.

L'effetto replica, invece, non è significativo per nessuno degli attributi valutati, cosa che accade anche per l'effetto giudice, con la sola esclusione per l'odore di limone e per il sapore salato.

Appurata la buona riproducibilità del panel e quindi il giusto accordo tra i giudici, si è passati alla fase di analisi vera e propria.

### **9.1.2. Determinazione dei profili sensoriali**

I campioni di maionese sono stati analizzati in tre blocchi distinti, i primi due erano costituiti da maionese contenente 0%, 50% e 100% di olio di noce rispetto all'olio totale, prodotte rispettivamente a 600 e a 1200 rpm.

Il terzo blocco era costituito da 5 prodotti ovvero: un campione di maionese al 50% di olio di noce prodotta a 600 rpm; due campioni al 25% di olio di noce prodotti rispettivamente a 600 ed a 1200 rpm e, infine, altri due campioni al 75% di olio di noce prodotti rispettivamente a 600 e a 1200 rpm.

Tali campioni sono stati sottoposti alla valutazione dei giudici e, in particolare, per gli attributi di *texture* la valutazione è stata effettuata utilizzando la luce rossa al fine di evitare che il colore dei prodotti potesse influenzare il loro responso finale.

I dati sperimentali sono stati successivamente sottoposti ad analisi della varianza, utilizzando come sorgenti di variazione i campioni e le repliche, e test di Duncan.

Questo tipo di analisi, effettuata distintamente sui campioni di maionese prodotti a 600 e 1200 rpm, evidenzia, in entrambi i casi, una differenza significativa tra i campioni.

Dalle tab.9.2 e 9.3 è possibile notare come i vari campioni di maionese prodotti a 600 e 1200 rpm sono suddivisi in differenti gruppi.

Osservando la tab. 9.2. i campioni di maionese prodotti a 600 rpm a diverse concentrazioni di olio di noce, si distribuiscono nei vari gruppi in modo differente a seconda del descrittore preso in esame.

Infatti, per gli attributi colore e fluidità, si registra la stessa classificazione, i prodotti mostrano valori di entrambi gli attributi crescenti con l'aumentare del livello di sostituzione dell'olio di noce; tali valori per i due attributi sopra menzionati sono significativamente differenti, infatti i campioni di maionese si collocano in ben cinque gruppi, come evidenziato in tabella.

Per l'attributo spalmabilità si può notare un andamento simile a quello descritto per colore e fluidità, sebbene in questo caso la maionese al 75% di olio di noce e quella al 100% non siano significativamente differenti.

Inoltre, i risultati emersi dal test di Duncan, evidenziano che gli attributi di *texture*, cioè spalmabilità e densità, seguono andamenti opposti tra loro; infatti, i valori della densità aumentano al decrescere del livello di sostituzione di olio di noce, mentre, come già detto, quelli della spalmabilità diminuiscono al decrescere del livello di sostituzione di olio di noce, per entrambi gli

attributi i campioni al 100% e al 75% di olio di noce non differiscono significativamente tra loro. L'odore di aceto e di limone mostrano un andamento opposto a quello di noce, infatti, i loro valori diminuiscono all'aumentare della percentuale di olio di noce sostituita nei campioni di maionese. Inoltre, non sono significativamente diversi tra loro, ciò potrebbe essere dovuto alla presenza massiccia di olio di noce che copre tali odori; infatti, per tali prodotti i valori assunti dall'attributo odore di noce sono più elevati. Per quanto concerne l'odore e il *flavour* di noce e il sapore amaro, si può affermare, come ci attendevamo, che i valori assunti da questi descrittori aumentano sensibilmente con l'aumentare del livello di sostituzione di olio di noce. Il sapore acido e quello salato non seguono un andamento preciso, ma la sua percezione risulta essere indebolita nei campioni in cui è presente l'olio di noce. Per il sapore salato, i campioni di maionese prodotti con diversi livelli di sostituzione percentuale di olio di noce, si concentrano tutti nello stesso gruppo, il campione preparato esclusivamente con olio di girasole assume valori più elevati e si differenzia significativamente dagli altri. Il sapore amaro, invece, aumenta gradualmente all'aumentare della percentuale di olio di noce presente. Il *flavour* di noce è correlato negativamente a quello globale: all'aumentare del livello di sostituzione di olio di noce, il primo aumenta mentre l'altro diminuisce. I valori relativi all'untuosità non sono correlabili a quelli di nessun altro descrittore preso in esame, tuttavia essi tendono ad aumentare man mano che aumenta la percentuale di olio di noce nei campioni prodotti.

**Tab. 9.2** Intensità media degli attributi sensoriali dei campioni di maionese prodotti a 600 rpm e del confronto multiplo tra le medie ( test di Duncan).

<b>ATTRIBUTO</b>	<b>100% olio noce</b>	<b>75% olio noce</b>	<b>50% olio noce</b>	<b>25% olio noce</b>	<b>0% olio noce</b>	<b>Sig.</b>
Fluidità	7,82e	6,96d	5,86c	4,80b	3,13a	<<0,05
Spalmabilità	7,95d	7,18d	6,35c	4,76b	3,23a	<<0,05
Colore	7,95e	6,94d	5,91c	3,59b	2,58a	<<0,05
Od. di aceto	1,14a	1,48a	1,65a	2,99b	4,34c	<<0,05
Od. di limone	0,64a	1,03a	0,93a	1,96b	3,07c	<<0,05
Od. di noce	8,43d	6,08c	5,98c	2,17b	0,60a	<<0,05
<i>Flavour</i> globale	1,96a	2,59a	3,57b	5,65c	7,24d	<<0,05
Sapore acido	2,15a	3,20ab	2,56a	3,87bc	5,00c	<<0,05
Sapore di noce	8,54d	6,08c	6,57c	2,54b	0,42a	<<0,05
Sapore salato	2,54a	2,35a	2,91a	2,50a	4,02b	0,001
Sapore amaro	8,07d	5,92c	6,43c	2,54b	0,81a	<<0,05
Densità	2,35a	2,98a	4,00b	6,13c	7,25d	<<0,05
Untuosità	7,02c	6,91c	5,73b	3,67a	3,21a	<<0,05

**In ogni riga a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ )**

Per quanto riguarda le preparazioni a 1200 rpm, è possibile rilevare similitudini tra alcune coppie di attributi come ad esempio tra la fluidità ed il colore e tra l'odore di aceto e quello di limone. Per tali coppie di descrittori si registra la stessa classificazione. I valori corrispondenti alla fluidità e al colore tendono ad aumentare con la percentuale di olio di noce utilizzata per la preparazione della maionese, al contrario quelli relativi all'odore di aceto e di limone, diminuiscono.

L'odore globale e l'odore di noce esibiscono andamenti completamente opposti l'uno rispetto all'altro. Infatti per l'attributo: odore di noce, i prodotti mostrano valori crescenti all'aumentare del livello di sostituzione dell'olio di noce, mentre i valori dell'odore globale decrescono man mano che aumenta la percentuale di olio di noce.

Per il sapore acido e quello salato, la distribuzione dei campioni in gruppi risulta essere più complessa. Infatti, per il sapore acido, i campioni al 75% e al 50% di olio di noce si dispongono in due gruppi e rispettivamente **bc** ed **ab**.

Per il sapore salato, i campioni di maionese prodotta con il 75%, 50% e 25% di olio di noce si presentano rispettivamente nei gruppi **ab**, **ab** e **bc**.

Per il sapore salato, i campioni di maionese prodotti con diversi livelli di sostituzione di olio di noce non risultano significativamente differenti.

**Tab. 9.3** Intensità media degli attributi sensoriali dei campioni di maionese prodotti a 1200 rpm e del confronto multiplo tra le medie ( test di Duncan).

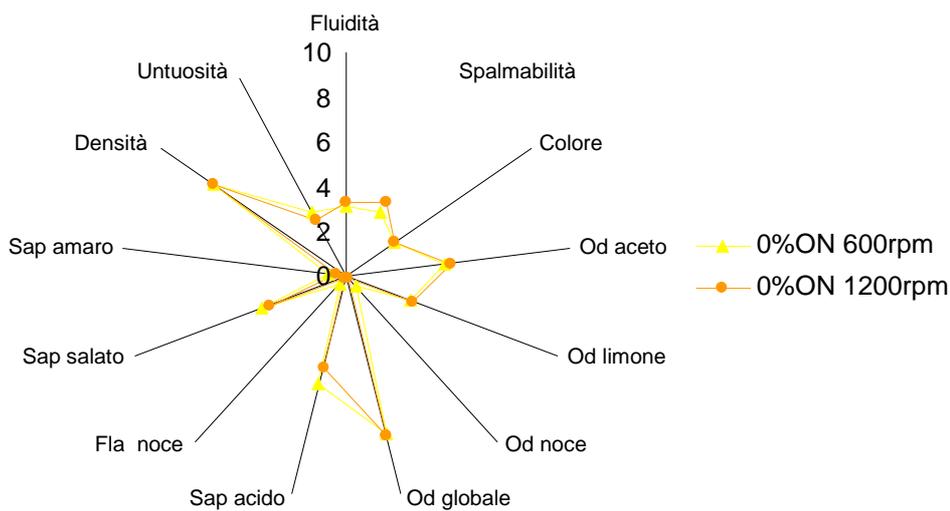
ATTRIBUTO	100% olio noce	75% olio noce	50% olio noce	25% olio noce	0% olio noce	Sig.
Fluidità	7,71c	5,93b	5,76b	3,46a	3,29a	<<0,05
Spalmabilità	7,80d	6,81 c	5,79b	4,22a	3,77a	<<0,05
Colore	7,95c	6,30b	5,60b	2,91a	2,58a	<<0,05
Od. di aceto	1,18a	1,89a	1,84a	3,94b	4,68b	<<0,05
Od. di limone	0,67a	0,73a	0,93a	2,48b	3,15b	<<0,05
Od. di noce	8,68e	6,21d	4,93c	1,68 b	0,21a	<<0,05
Flavour globale	1,70a	2,75b	3,80c	6,34d	7,33e	<<0,05
Sapore acido	1,55a	3,10bc	2,31ab	4,22c	4,16c	<<0,05
Sapore di noce	8,77d	6,34c	5,72c	1,78b	0,17a	<<0,05
Sapore salato	1,90a	2,38ab	2,28ab	2,86bc	3,66c	0,001
Sapore amaro	8,31d	6,08c	5,82c	2,08b	0,44a	<<0,05
Densità	3,24a	3,59a	4,87b	6,41c	7,15c	<<0,05
Untuosità	7,81d	6,19c	5,79c	3,84b	2,87a	<<0,05

**In ogni riga a lettere diverse corrispondono campioni significativamente diversi ( $p \leq 0,05$ )**

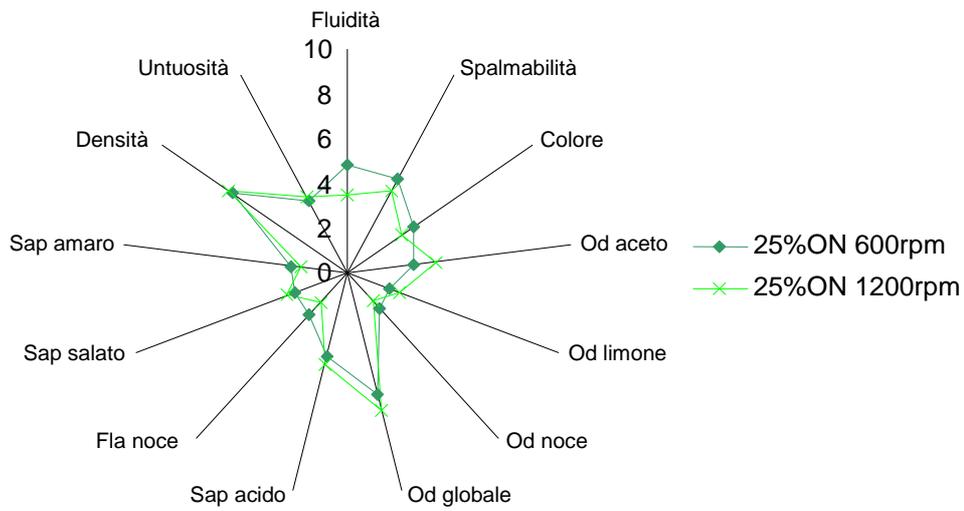
Le differenze riscontrate tra i diversi campioni di maionese, possono essere evidenziate anche osservando i profili sensoriali riportati nei grafici 9.1 a 9.5.

I valori assunti dai diversi descrittori sono fortemente correlati al livello di sostituzione di olio di noce utilizzato ed inoltre, i campioni contenenti la stessa quantità di olio di noce ma prodotti a 600 e 1200 rpm non differiscono tra loro per i diversi attributi valutati. Quindi, è possibile affermare che la variabile di processo non influenza le caratteristiche sensoriali dei prodotti analizzati.

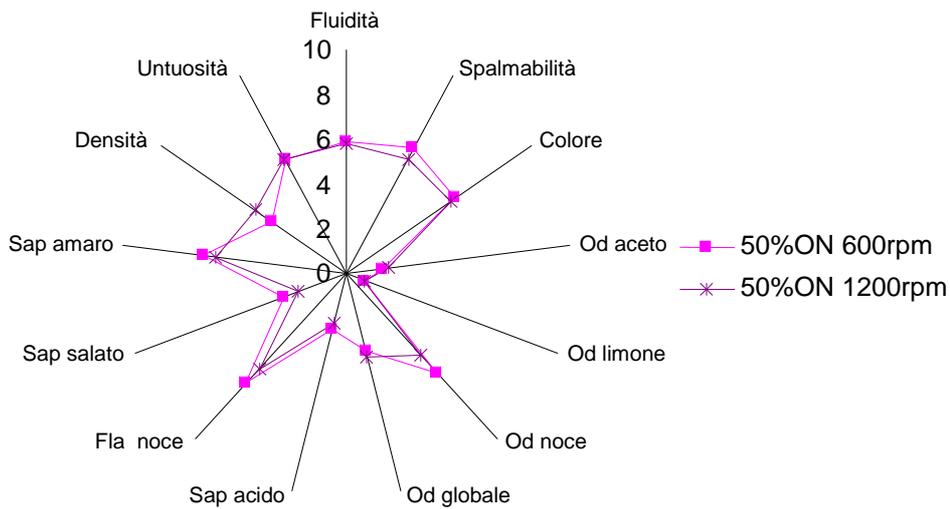
Infine, è stato utilizzato il t-test per poter confrontare i campioni prodotti a 600 e a 1200 rpm, relativamente a ciascun descrittore. Come si evince dall'osservazione dei profili sensoriali, non si rilevano differenze statisticamente significative tra i campioni alle diverse percentuali di olio di noce, tranne che per pochi casi.



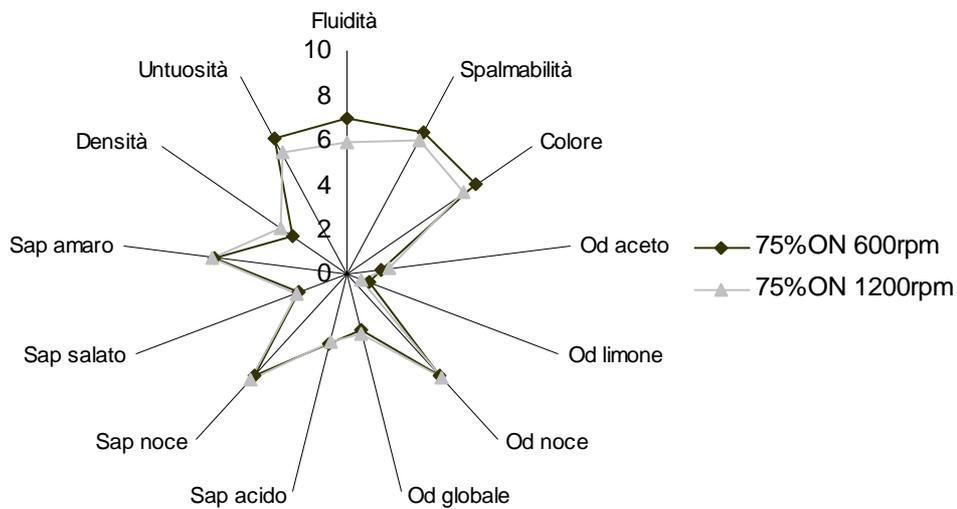
**Fig. 9.1** Confronto tra maionese allo 0% di olio di noce prodotta a 600 rpm e maionese allo 0% di olio di noce prodotta a 1200 rpm.



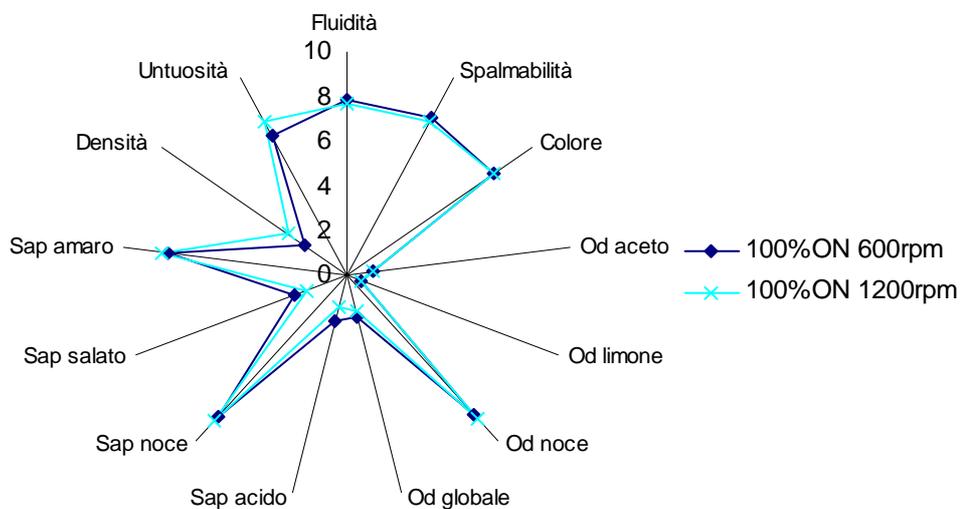
**Fig. 9.2** Confronto tra maionese al 25% di olio di noce prodotta a 600 rpm e maionese al 25% di olio di noce prodotta a 1200 rpm.



**Fig. 9.3** Confronto tra maionese al 50% di olio di noce prodotta a 600 rpm e maionese al 50% di olio di noce prodotta a 1200 rpm.



**Fig. 9.4** Confronto tra maionese al 100% di olio di noce prodotta a 600 rpm e maionese al 50% di olio di noce prodotta a 1200 rpm.



**Fig. 9.5** Confronto tra maionese al 100% di olio di noce prodotta a 600 rpm e maionese al 75% di olio di noce prodotta a 1200 rpm.

## 9.2. Discussione dati *Focus Group*

In seguito ai tre incontri effettuati, è stato dedotto che gli alimenti ai quali maggiormente si accompagna la maionese sono: patatine fritte, hamburger, insalata di riso, meno di frequente tartine, insalata russa, carne e pesce.

Abbiamo quindi scelto di accompagnare, durante i consumer test, la maionese a due alimenti molto utilizzati, *patatine fritte* e *hamburger*, ed a un alimento poco utilizzato, *anelli di totano bolliti*.

Per quanto riguarda le opinioni dei consumatori sui prodotti funzionali, la metà dei soggetti ha le idee confuse sul significato di funzionale; gli unici alimenti funzionali consumati sono yogurt con probiotici e latte con acidi grassi omega-3.

Comunque, come messaggio da associare a tali prodotti, quasi tutti i partecipanti parlano di “*prodotti arricchiti in acidi grassi omega-3*”, anche se molti sono scettici sul ritenere “funzionale” una salsa da condimento. Sulla base di questi risultati si è deciso di utilizzare il seguente messaggio salutistico: “*I prodotti presentati sono arricchiti in acidi grassi omega-3 che aiutano a controllare il livello di colesterolo nel sangue*”.

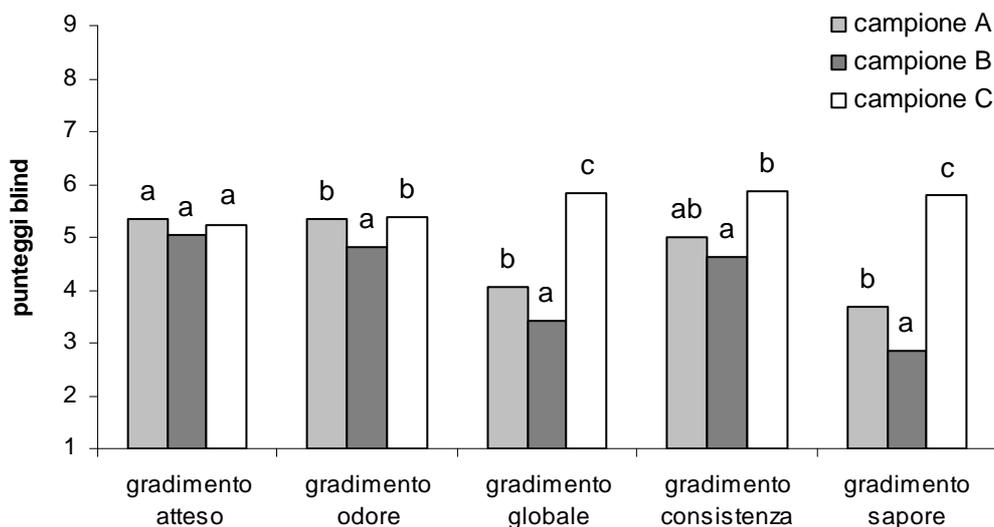
Infine, durante l'ultima fase di ogni intervista è stato effettuato un assaggio dei campioni e per quanto riguarda gli attributi sensoriali, i partecipanti hanno innanzitutto notato una differenza di colore, di odore, di sapore e di consistenza tra i campioni preparati con olio di noce, A e B, e il campione C. Ricordiamo che in questa fase del lavoro ai campioni sono state attribuite le seguenti lettere alfabetiche: A, preparato sostituendo il 25% di olio di girasole con olio di noci, campione target; B, preparato sostituendo il 50% di olio di girasole con olio di noci, e C, preparato con il 100% di olio di girasole, campioni distruttori.

Concludendo, solo alcuni intervistati hanno associato la nota amara dei campioni A e B alla “frutta secca”. Da questi risultati si è deciso di far valutare ai consumatori, durante i successivi consumer test, il *gradimento atteso*, l'*odore*, il *gradimento globale*, il *sapore* e la *consistenza*.

### **9.3. Discussione dati Consumer test**

I tre campioni di maionese sono stati valutati in due fasi da 82 studenti della Facoltà di Agraria, dell'Università degli Studi di Napoli. Durante la prima fase hanno valutato i tre campioni di maionese in blind e all'uscita dalle cabine hanno compilato un questionario per raccogliere informazioni su caratteristiche demografiche, gradimento e frequenza al consumo di maionese, ecc.

Quando i tre campioni sono assaggiati in condizioni *blind*, non si evidenziano differenze significative tra i punteggi di gradimento atteso. Per quanto riguarda il gradimento di odore e consistenza il campione B riceve punteggi significativamente più bassi di A e C. Il gradimento globale e del sapore sono i punteggi che più discriminano tra i campioni (fig. 9.6). I punteggi di gradimento in tutti i casi sono bassi probabilmente perché la condizione di valutazione è molto diversa dalla reale condizione di consumo della maionese.



**Fig. 9.6** Per ogni punteggio di gradimento a lettere diverse corrispondono valori significativamente diversi.

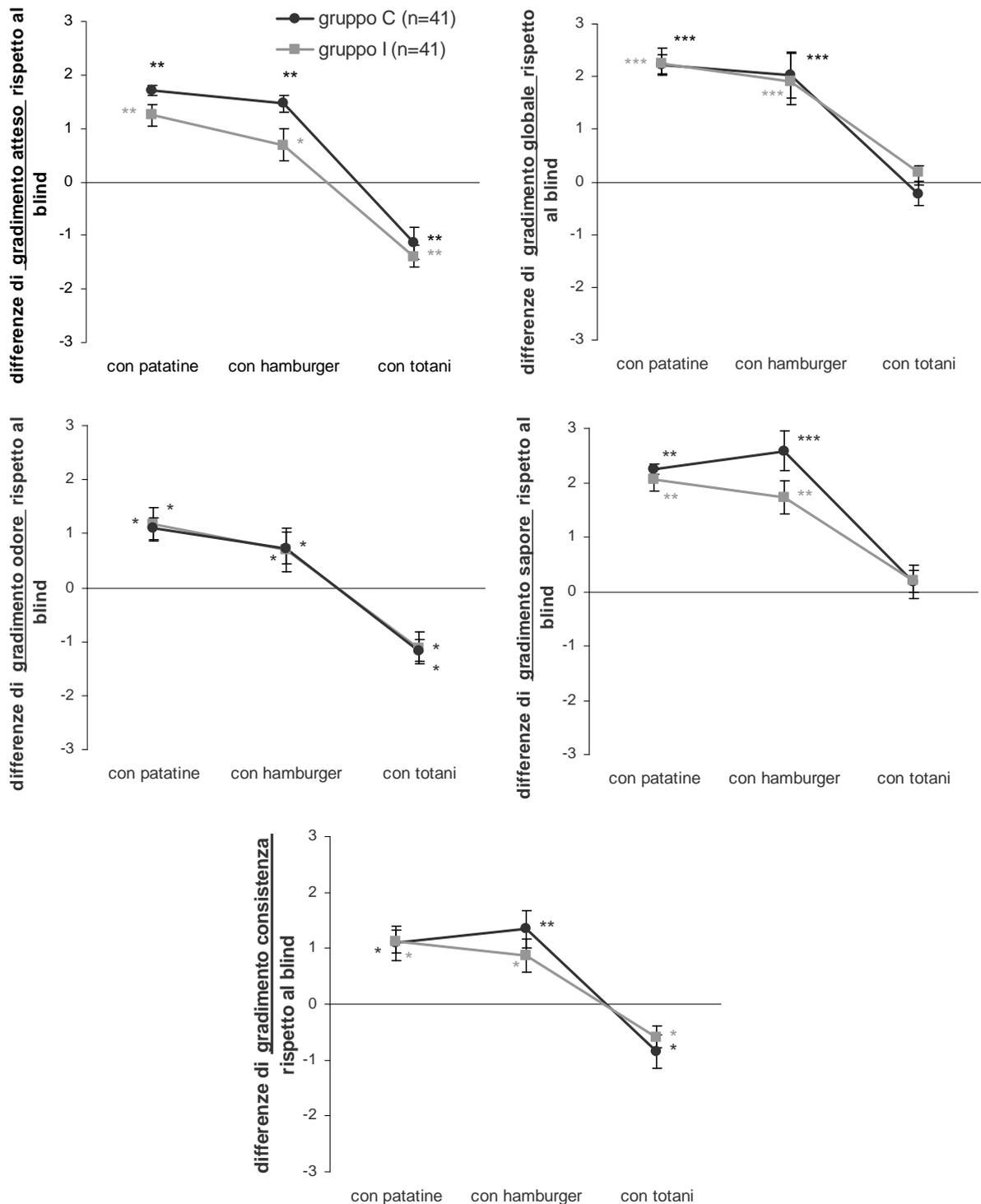
Prima della seconda fase i soggetti sono stati suddivisi in due gruppi omogenei per età, sesso, gradimento e frequenza al consumo di maionese. Quindi i soggetti hanno valutato i campioni abbinati con i tre alimenti. Il campione A veniva presentato con tutti gli alimenti, il campione B con due e il campione C solo con uno. Il gruppo informato (I) valutava i campioni accompagnati dal messaggio salutistico, il gruppo di controllo (C) senza alcuna informazione.

Per ogni campione è stato espresso un giudizio di gradimento atteso e globale oltre ad un giudizio di gradimento per i singoli attributi sensoriali.

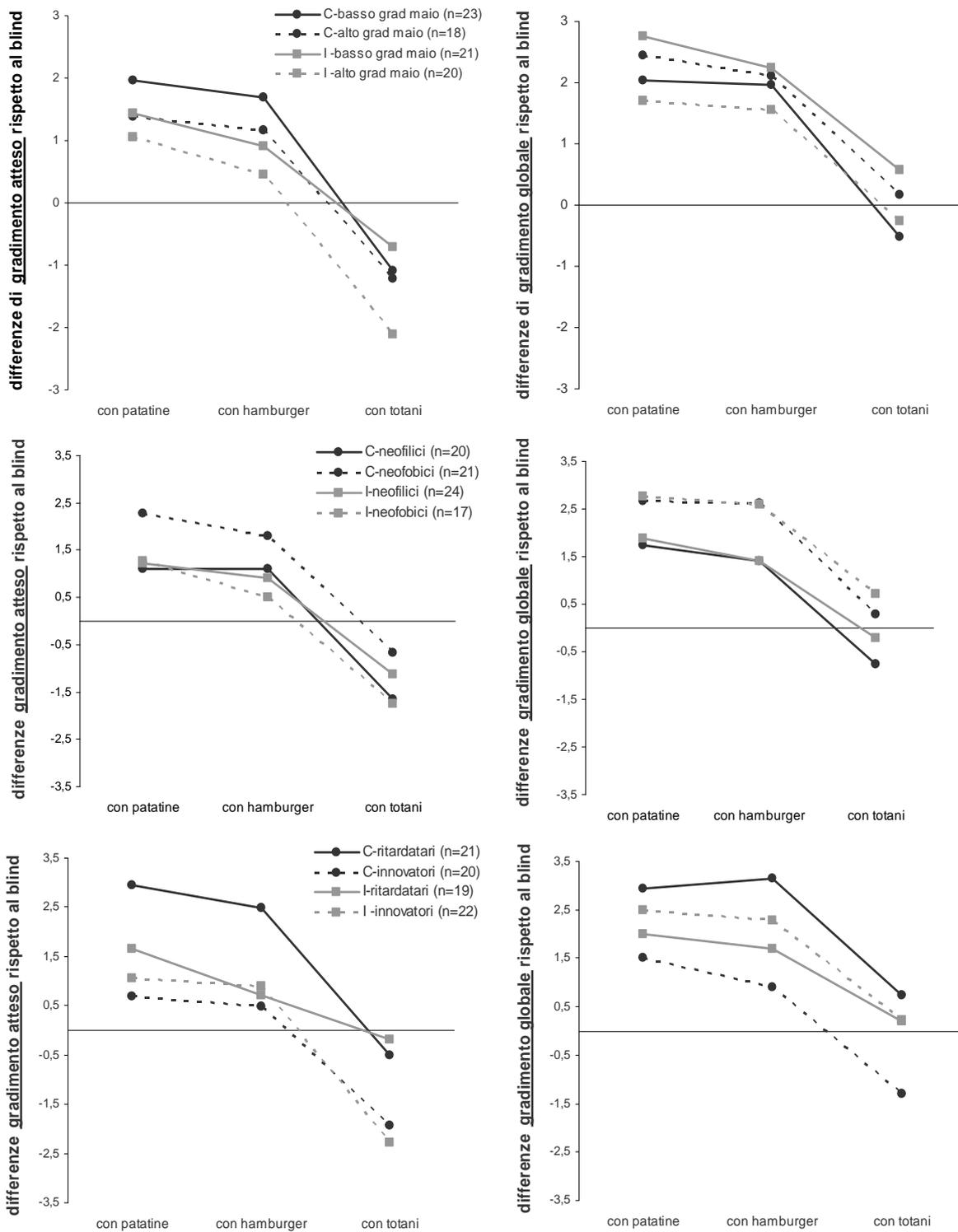
Per quanto riguarda i punteggi ricevuti dal campione A quando abbinato ai tre alimenti (fig. 9.7), l'analisi della varianza mostra un effetto significativo dell'alimento: quando la maionese accompagna patatine fritte e hamburger si osserva sempre un aumento significativo del gradimento rispetto alla condizione blind, mentre l'abbinamento ai totani influenza negativamente i giudizi di gradimento atteso, odore e consistenza e non ha effetto sugli altri giudizi. Non ci sono differenze significative tra i gruppi di informazione, ad eccezione del gradimento atteso, sapore e consistenza della maionese quando accompagnata all'hamburger ed in questi casi è possibile osservare un effetto negativo del messaggio salutistico. Questo risultato conferma i risultati di Di Monaco *et al.* (2005) per i quali il messaggio salutistico non ha effetto sui giudizi di gradimento espressi dal consumatore per una barretta di cioccolato funzionale.

Per quanto riguarda il giudizio di gradimento per i singoli attributi sensoriali, tra le caratteristiche del consumatore considerate, solo il gradimento per la maionese, i punteggi FNS e DSI hanno effetto sui giudizi di gradimento atteso e globale (fig. 9.8). Il messaggio salutistico ha un effetto negativo ( $P << 0,001$ ,  $F_{2,79} = 19,6$ ) sul gradimento atteso per entrambi i sottogruppi di gradimento per la maionese, mentre per quanto riguarda il gradimento globale il messaggio salutistico ha effetto negativo ( $P << 0,001$ ,  $F_{2,79} = 15,8$ ) sui soggetti a cui piace molto la maionese e positivo su coloro i quali apprezzano meno tale prodotto. A prescindere dall'informazione, per i neofobici il punteggio di gradimento globale aumenta in misura maggiore dei neofilici rispetto alla valutazione *blind* ( $P =$

0,024,  $F_{2,79}=3,9$ ). Il messaggio salutistico ha effetto negativo sul gradimento atteso dei “ritardatari” e non degli “innovatori” ( $P=0,001$ ,  $F_{2,79}=7,3$ ). È interessante osservare che il messaggio salutistico ha un effetto positivo sul gradimento globale degli “innovatori” e un effetto negativo sul gradimento globale dei “ritardatari” ( $P=0,003$ ,  $F_{2,79}=6,2$ ).



**Fig. 9.7** Gli asterischi indicano differenze significative rispetto alla valutazione blind: \* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$ .



**Fig. 9.8** Gli asterischi indicano differenze significative rispetto alla valutazione blind: \*= $P < 0,05$ ; \*\*= $P < 0,01$ ; \*\*\*= $P < 0,001$ .

## 10. CONCLUSIONI

L'appropriatezza dell'ingrediente funzionale, olio di noce, utilizzato per produrre i campioni sperimentali di maionese è stata saggiata attraverso una caratterizzazione effettuata mediante un approccio multidisciplinare. Infatti, è stata effettuata una caratterizzazione strutturale condotta sia attraverso l'applicazione di test reologici in dinamico a piccola ampiezza di deformazione (*strain sweep test* e *frequency sweep test*), sia attraverso l'acquisizione di micrografie. La caratterizzazione chimico-fisica è stata effettuata monitorando la composizione acidica, l'acidità e il numero di perossidi della frazione lipidica estratta dai campioni sperimentali prodotti durante i vari giorni di conservazione. La caratterizzazione strumentale è, inoltre, proseguita durante i diversi tempi di conservazione considerati attraverso il monitoraggio del pH e delle coordinate colorimetriche. Ancora, è stata effettuata una caratterizzazione sensoriale di tutti i campioni di maionese prodotti e, in ultimo, i campioni contenenti lo 0%, il 25% ed il 50% di olio di noce sono stati utilizzati per effettuare uno studio sui consumatori.

In via generale, è possibile affermare che l'olio di noce può essere utilizzato per produrre maionese, in quanto il suo impiego non ostacola la formazione dell'emulsione.

Il presente studio rivela, inoltre, che il livello di sostituzione di olio di girasole con olio di noce, la velocità di rotazione utilizzata durante il processo di formazione dell'emulsione ed il tempo di conservazione hanno un diverso effetto su tutti i parametri chimico-fisici presi in considerazione. I tre fattori considerati hanno un grande effetto sulla struttura dei campioni rilevato sia in termini di comportamento reologico sia in termini di microstruttura osservata, ovvero dimensione e dispersione delle goccioline lipidiche.

Invece, le proprietà sensoriali dei campioni sono molto influenzate dal livello di sostituzione di olio di girasole con olio di noce e per niente dalla velocità di rotazione utilizzata durante il processo di formazione dell'emulsione.

Generalmente, col trascorrere del tempo, nelle emulsioni alimentari come la maionese si innescano dei fenomeni veramente complessi non soltanto di natura fisica, ma anche di natura chimica. Ecco perché un approccio multidisciplinare risulta essere importante per migliorare e aumentare la conoscenza di questi fenomeni al fine di sviluppare emulsioni alimentari con un'elevata qualità nutrizionale e sensoriale.

### 10.1. Conclusioni: caratterizzazione reologica

La maionese esibisce un comportamento viscoelastico dovuto al *network* formato dalle lipoproteine dell'uovo (in accordo con Peressini *et al.*, 1998); infatti, i campioni sono caratterizzati da una componente elastica maggiore di quella viscosa, ad ogni frequenza investigata.

Con l'aumentare dell'olio di noce il modulo dinamico diminuisce, i campioni assumono sempre più un comportamento *liquid-like*; la presenza di olio di noce determina la formazione di aggregati di goccioline lipidiche cosicché le proprietà reologiche diminuiscono.

Il tempo di conservazione influenza in maniera diversa i vari campioni prodotti.

Per i campioni prodotti senza olio di noce, entrambi i moduli diminuiscono nel tempo, se l'emulsione è preparata a 600 rpm.

Quando l'emulsione è preparata a 1200rpm entrambi i moduli sono alquanto costanti nel tempo; questo fenomeno può essere spiegato dalla compattezza della struttura dovuta alle ridotte dimensioni delle goccioline lipidiche (in accordo con Worrasinchai *et al.*, 2006).

Per i campioni contenenti i diversi livelli di olio di noce, il modulo elastico aumenta fino al giorno 45 circa dopodiché diminuisce. Questo fenomeno è più marcato per i campioni prodotti a 600rpm e contenenti maggiori quantità di olio di noce ed è correlato alla microstruttura dei campioni: il diametro delle goccioline prima diminuisce, per il fenomeno della solubilizzazione, poi aumenta, per il fenomeno della coalescenza.

### **10.2. Conclusioni: microstruttura**

Dall'osservazione delle micrografie si evince che le strutture dei campioni con minore tenore in olio di noce sono maggiormente impacchettate e chiuse rispetto a quelle con più olio di noce; queste ultime, inoltre, mostrano un gran numero di spazi vuoti di diverse dimensioni dovuti alla natura polidispersa delle emulsioni, tali spazi vuoti dovrebbero rappresentare la fase continua acquosa (in accordo con Worrasinchai *et al.*, 2006). Le dimensioni delle goccioline di olio nelle cinque formulazioni sono notevolmente diverse: maggiore è la concentrazione di olio di noce maggiori sono le dimensioni e più ampia risulta la polidispersione dei campioni. A parità di livello di sostituzione di olio di noce e di tempo di conservazione considerato, maggiore è il numero di giri utilizzato per ottenere i campioni, minori sono le dimensioni delle goccioline in emulsione.

### **10.3. Conclusioni: caratterizzazione acidica**

Per quanto riguarda l'effetto del livello di sostituzione dell'olio di girasole con olio di noce sui valori della percentuale dei cinque acidi grassi ritrovati nella frazione lipidica estratta da tutti i campioni di maionese durante i diversi giorni di conservazione considerati, si può affermare che essi, con l'aumentare della concentrazione di olio di noce, non presentano un andamento definito. Fa eccezione l'acido linolenico, la cui concentrazione aumenta con l'aumentare del livello di olio di noce utilizzato, come era naturale aspettarsi. Si può affermare che la composizione acidica della frazione lipidica estratta dai differenti campioni prodotti sperimentalmente è paragonabile per quanto riguarda la concentrazione di acido palmitico, stearico ed oleico.

Per quanto concerne la concentrazione di acido linoleico e la concentrazione di acido linolenico, esse cambiano con l'aumentare del livello di olio di noce utilizzato e soprattutto il loro rapporto (n3:n6) si sposta da valori di 1:72 a 1:5.

### **10.4. Conclusioni: caratterizzazione strumentale, pH e colore**

L'effetto del livello di sostituzione dell'olio di girasole con olio di noce sui valori dell'acidità è tale che con l'aumentare della concentrazione di olio di noce l'acidità aumenta, sia per i campioni prodotti 600 rpm sia per quelli prodotti a 1200 rpm. L'effetto è presente anche nel corso della

conservazione. Non c'è, invece, un effetto velocità di omogeneizzazione né un effetto tempo di conservazione.

Numerose indagini mettono in evidenza che gli acidi grassi polinsaturi n-3 apportano benefici alla salute umana; i benefici fisiologici sono stati associati ad un ridotto rischio di malattie cardiovascolari e allo sviluppo ottico e neurale del bambino. Per far aumentare il consumo di tali sostanze, sono stati sviluppati diversi prodotti alimentari utilizzando ingredienti che naturalmente contengono tali acidi grassi (olio di noce per produrre maionese e condimenti per insalate). Tuttavia, gli acidi grassi polinsaturi n-3 sono altamente suscettibili all'ossidazione dovuta al loro alto grado di insaturazioni (Jacobsen *et al.*, 1999). Per quanto riguarda l'effetto del livello di sostituzione dell'olio di girasole con olio di noce sui valori del numero di perossidi, si può affermare che con l'aumentare della concentrazione di olio di noce il valore di tale indice non segue un vero e proprio andamento per tutti i campioni, prodotti sia a 600 sia a 1200 rpm e conservati per i diversi tempi. Si deduce, quindi, che l'aumento del valore di questo parametro non è dovuto al maggiore livello di sostituzione dell'olio di noce.

Per quanto riguarda le variazioni di pH riscontrate nel tempo per tutti i campioni di maionese prodotti non seguono un andamento ben preciso; inoltre, poiché tali variazioni si verificano in un range molto ristretto, allora è possibile considerare che tale parametro non varia, cioè rimane alquanto costante.

Le variazioni dell'indice di bianchezza riscontrate nel tempo per tutti i campioni di maionese prodotti non seguono un andamento ben preciso; ciò che maggiormente è stato evidenziato è che i campioni di maionese prodotti a velocità maggiori risultano più "bianchi" dei campioni prodotti a velocità inferiori, ciò è valido sia a parità di tempo di conservazione sia a parità di livello di olio di noce utilizzato. Questo fenomeno è sicuramente spiegato dalla struttura che caratterizza i campioni; la maionese risulta più luminosa e meno gialla (in accordo con Worrasinchai *et al.*, 2006 e Santipanichwong & Suphantharika, 2007), ciò potrebbe essere dovuto alla minore dimensione delle particelle che diffrangono la luce più efficientemente; nelle emulsioni la diffrazione è il fenomeno che determina la lucentezza, mentre l'assorbimento della luce ne determina il colore.

Per quanto riguarda la stabilità del colore durante i 90 giorni di conservazione possiamo affermare che nella maionese la lucentezza diminuisce rapidamente nei primi sette giorni e, poi, più lentamente, probabilmente a causa dell'aumento della grandezza delle goccioline e, quindi, ad una diminuzione dell'efficienza di diffrazione (in accordo con Worrasinchai *et al.*, 2006 e Santipanichwong & Suphantharika, 2007).

## **10.5. Conclusioni: caratterizzazione sensoriale e studio del consumatore**

### **10.5.1. Analisi descrittiva quantitativa**

I profili sensoriali sono fortemente correlati al livello di sostituzione di olio di noce utilizzato. I campioni contenenti la stessa quantità di olio di noce ma prodotti a 600 e 1200 rpm non differiscono tra loro per i diversi attributi valutati. Quindi, è possibile affermare che la variabile di processo non influenza le caratteristiche sensoriali dei prodotti analizzati.

Comunque, gli attributi di *texture*, spalmabilità e densità, seguono andamenti opposti tra loro; infatti, i valori della densità aumentano al decrescere del livello di sostituzione di olio di noce, mentre, quelli della spalmabilità diminuiscono al decrescere del livello di sostituzione di olio di noce. I valori corrispondenti alla fluidità e al colore tendono ad aumentare con la percentuale di olio di noce utilizzata per la preparazione della maionese, al contrario quelli relativi all'odore di aceto e di limone, diminuiscono.

Per l'attributo spalmabilità si è osservato un andamento simile a quello descritto per colore e fluidità.

Per quanto concerne l'odore, il *flavour* di noce e il sapore amaro, si può affermare, come ci si attendeva, che i valori assunti da questi descrittori aumentano sensibilmente con l'aumentare del livello di sostituzione di olio di noce. Inoltre, l'odore globale e l'odore di noce esibiscono andamenti completamente opposti l'uno rispetto all'altro. Infatti, come appena detto, per l'attributo odore di noce, i prodotti mostrano valori crescenti all'aumentare del livello di sostituzione dell'olio di noce, mentre i valori dell'odore globale decrescono man mano che aumenta la percentuale di olio di noce.

Per il sapore salato, i campioni di maionese prodotti con diversi livelli di sostituzione di olio di noce non risultano differenti, soltanto il campione preparato esclusivamente con olio di girasole si differenzia significativamente dagli altri.

#### **10.5.2. Focus Group**

Attraverso studi di *Consumer Science* sono stati identificati gli alimenti che solitamente sono consumati conditi con la maionese. Tra questi le patatine fritte e l'*hamburger* di carne sono risultati essere i prodotti che più frequentemente sono consumati con la maionese. Mediante i *Focus group interview*, è stato identificato il messaggio salutistico da abbinare al prodotto contenente olio di noce e le caratteristiche sensoriali che meglio descrivono la qualità della maionese. Il messaggio salutistico suggerito dai consumatori intervistati è stato "*prodotti arricchiti in acidi grassi omega-3*", mentre le caratteristiche sensoriali individuate sono colore, odore, sapore e consistenza.

#### **10.5.3. Consumer test**

Dall'analisi dei dati raccolti durante lo svolgimento dei *Consumer test* si evince che il messaggio salutistico non ha effetti significativi sui giudizi di gradimento espressi, fatte poche eccezioni per le quali l'effetto è sempre negativo. Ciò conferma i risultati del *focus group*, dal quale si evidenzia che la maionese non è vista come un alimento funzionale.

Le modalità di consumo della maionese influenzano significativamente i giudizi di gradimento, infatti, quando la salsa è presentata in associazione ad alimenti usualmente utilizzati piace di più, altrimenti il giudizio non viene modificato oppure peggiora.

Per quanto riguarda le caratteristiche di *background* del consumatore, ai neofobici piace di più la maionese rispetto ai neofilici quando associata agli alimenti che già conosce e gli innovatori risultano essere gli unici ad essere influenzati positivamente dal messaggio salutistico

probabilmente perché rispetto agli altri danno un peso maggiore alle novità e alle informazioni salutistiche.

#### **10.6. Correlazioni analisi reologica - osservazione della microstruttura**

Lo studio del cambiamento, col trascorrere del tempo, della microstruttura delle emulsioni prodotte ha evidenziato le differenze già intuite attraverso le indagini reologiche, e tra i campioni dovute al diverso livello di olio di noce utilizzato, e alla diversa velocità di rotazione dell'emulsionatore.

Con l'aumentare del livello di olio di noce utilizzato il campione risulta meno elastico; maggiore è la sua concentrazione, maggiori sono le dimensioni delle goccioline lipidiche in emulsione, inoltre i campioni sono maggiormente polidispersi e mostrano di conseguenza una elasticità significativamente più bassa di quelli monodispersi.

Con l'aumentare della velocità di rotazione, le più piccole dimensioni delle particelle e la più grande estensione della rete di gel tridimensionale, portano ad una maggiore elasticità dei campioni (in accordo con Mc Clements, 1999).

Con il trascorrere del tempo, il comportamento reologico dei campioni di maionese cambia; tale cambiamento è più marcato nei campioni prodotti ad una più bassa velocità di giri.

#### **10.7. Correlazioni Q.D.A. – analisi reologica**

Una dei modi per preparare maionese stabile è quella di formare piccole goccioline d'olio in una fase acquosa continua con viscosità sufficientemente elevata per prevenire la coalescenza tra le goccioline d'olio. Entrambe le fasi, continua e dispersa, hanno un forte impatto sulle caratteristiche reologiche. La distribuzione e la grandezza delle goccioline di olio è funzione del processo di omogeneizzazione (più piccole sono le dimensioni dei globuli di grasso maggiore è la superficie esposta), il quale influenza di conseguenza la *texture* ed il *flavour* del prodotto. Aumentare la conoscenza su come il contenuto di grasso ed il processo di omogeneizzazione interagiscono con la percezione dell'aroma ed influenzano gli attributi sensoriali della maionese è importante per ottimizzare la qualità dei prodotti alimentari (in accordo con Wendin *et al.*, 1999).

## 11. BIBLIOGRAFIA

AARON J. I., MELA D. J. & EVANS, R. E. (1994). The influences of attitudes, beliefs and label information on perception of reduced-fat spread. *Appetite* 22, 25-38.

A.A.V.V. (2007). Acid Intake of Individuals (Total, Linolenic Acid, Long-Chain) and Their Blood Pressure. *INTERMAP Study. Hypertension. PMID 104-109.*

AGUILERA J. M., & STANLEY D. W. (1999). In *Microstructural Principles of Food Processing and Engineering*. Ed. Aspen Publisher Inc., Gaithersburn, Maryland. Capitolo 1, 1-34.

AMBROSINO M. L., DELLA MEDAGLIA D., PADUANO A., SACCHI R. (2000). Ottimizzazione della conservazione e shelf-life dell'olio di oliva. *Programma DIT terza fase.*

ANDERSSON K., LINGNERT H. (1997). Influence of oxygen concentration on the storage stability of cream powder. *Lebensm. – Wiss. U. – Technol.* 30, 147-154.

BACCHIOCCA M., BIAGIOTTI E., NINFALI P. (2001). Oxidation of olive oils kept under controlled atmosphere. *Industrie Alimentari, XL*, 1321-1325.

BATISTA A. P., RAYMUNDO A., SOUSA I., EMPIS J. (2006). Rheological characterization of coloured oil in water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases. *Food Hydrocolloids* 20, 44-52.

BRUKNER S., ALLEGRA G., PEGORARO M., LA MANTIA F. (2001). *Scienza e Tecnologia delle Materie Plastiche*. Ed. Edises, Napoli 1.

CAMPANELLA O. H., DORWARD N. M. & SINGH H. (1995). A study of the rheological properties of concentrated food emulsion. *Journal of Food Engineering* 25, 427-440.

CAPORALE G. & MONTELEONE E. (2001). Effect of expectations induced by information on origin and its guarantee on the acceptability of a traditional food: olive oil. *Science Aliments* 21, (3) 243-253.

CAPORALE G. & MONTELEONE E. (2004). Influence of information about manufacturing process on beer acceptability. *Food Quality and Preference* 15, 271-278.

CARDELLO A. V. (1994). Consumer expectations and their role in food acceptance. In *Measurement of food preference*. MacFie, H.J.H and Thomson, D.M.H. (Eds.) Elsevier Appl. Sci., London. Cap. 10.

CARDELLO A. V. & SAWYER F. M. (1992). Effects of disconfirmed consumer expectations on food acceptability. *Journal of Sensory Studies* 7, 253-276.

CORTESI N., ROVELLINI P., FEDELI E. (1997). Ossidazione dei lipidi. *Sostanze Grasse*, Vol.LXXIV, 181-189.

DEPREE J. A., SAVAGE G. P. (2001). Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science & Technology* 12, 157-163.

DELIZA R. & MACFIE H. J. H. (1996). The generation of sensory expectations by external cues and its effects on sensory perception and hedonic ratings: a review. *Journal of Sensory Studies* 11, 103-128.

DICKINSON E., STAINSBY G. (1982). Colloids in Foods. *Applied Science Publ., London*. 11, 56-78.

DI MONACO R., CAVELLA S., DI MARZO S. & MASI P. (2004). The effect of expectations generated by brand name on the acceptability of dried semolina pasta. *Food Quality and Preference* 15, 429-437.

DI MONACO R., CAVELLA S., IACCARINO T., MINCIONE A. & MASI P. (2003). The role of the knowledge of color and brand name on the consumer's hedonic ratings of tomato purees. *Journal of Sensory Studies* 18, 391-408.

DI MONACO, R., DI MARZO, S., CAVELLA, S. & MASI, P. (2005). Valorization of traditional foods: the case of Provolone del Monaco cheese. *British Food Journal* 107(2), 98-110.

ERICKSON K. L., HUBBAND N. E. (2000). Probiotic immunomodulation in health and disease. *Journal of Nutrition* 130 (2 suppl S), 403S.

FERRY J. (1980). Viscoelastic Properties of Polymers. *John Wiley, New York*, 1, 10-32.

FIGONI P. I. & SHOEMAKER C. F. (1983). Characterization of time dependent flow properties of mayonnaise under steady shear. *Journal of Texture Studies* 14, 431-442.

FOEGEDING E. A., BROWN J., DRAKE M., DAUBERT C. R. (2003). Sensory and mechanical aspects of cheese texture. *International Dairy Journal* 13, 585-591.

FRANKEL E. N. (1982). Lipid oxidation, in progress of lipid research. *R.T. Holman Ed.*, 1-22.

GALLEGOS C., BERJANO M. & CHOPLIN L. (1992). Linear viscoelastic behaviour of commercial and model mayonnaise. *Journal of Rheology* 36, 465-478.

GARRIDO A., FRIAS I., DIAZ L., HARDISSON A. (1994). Concentration of metals in vegetable edible oils. *Food Chemistry*, 50, 237-243.

GATTI A. (2003). Sensory e Consumer l'approccio integrato. *Ingredienti alimentari*, II giugno, 26-29.

GOSHAWK J. A., BINDING D. M. (1998). Rheological phenomena occurring during the shearin flow of mayonnaise. *Journal of Rheology* 1537-1553.

GUAITA M., CIARDELLI F. (1999). Fondamenti di Scienza dei Polimeri. *Pacini Editore, Pisa (I)* 10-11.

HAMILTON J., KNOX B., HILL D. & PARR H. (2000). Reduced fat products. Consumer perceptions and preferences. *British Food Journal* 102 (7), 494-506.

HARRISON L., CUNNINGHAM F. E. (1985). Factors influencing the quality of mayonnaise. *Journal of Food Quality*. 8, 1-20.

HARRISON L., CUNNINGHAM F. E. (1986a). Influence of frozen storage time on properties of salted yolk and its functionally in mayonnaise. *Journal of Food Quality*. 9, 167-174.

HARRISON L., CUNNINGHAM F. E. (1986b). Influence of frozen storage time on properties of salted yolk and its functionally in mayonnaise. *Poultry Science*. 65, 915-921.

HSIEH Y. E., REGENSTEIN J. M. (1992). Storage stability of fish oil, soy oil and corn oil mayonnaises as measured by various chemical indices. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 1, 97-106.

HOLMAN R. T., JOHNSON S. B., HATCH T. F. (1988). A case of human linolenic acid deficiency involving neurological abnormalities. *Journal of Clinic Nutrition* 35, 617-23.

IFT (Institute of Food Technologist) (1975). *Minutes of Sensory Evaluation Division Business Meeting, Chicago, June 10*.

IMRAM N. (1999). The role of visual cues in consumer perception and acceptance of a food product. *Nutrition & Food Science* 5, 224-228.

JACOBSEN C., HARTVIGSEN K., LUND P., MEYER A. S., ALDER-NISSEN J., HOLSTBORG J. AND HØLMER G. (1999). Oxidation in fish-oil-enriched mayonnaise 1. Assessment of propyl gallate as an antioxidant by discriminant partial least squares regression analysis. *Eur Food Res Technol* 210, 13-30.

KÄHKÖNEN P. & TUORILA H. (1998). Effect of reduced-fat information on expected and actual hedonic and sensory ratings of sausage. *Appetite* 30, 13-23.

KÄHKÖNEN P. & TUORILA H. (1999). Consumer responses to reduced and regular fat content in different products: effects of gender, involvement and health concern. *Food Quality and Preference* 10, 83-91.

KIOSSEOGLOU V., SHERMAN P. (1983). Influence of egg yolk lipoproteins on the rheology and stability of oil/water emulsions and mayonnaise. *Journal of Texture Studies* 14, 397-417.

KONTOGIORGOS V., BILIADERIS C. G., KIOSSEOGLOU V. & DOXASTAKIS G. (2004). Stability and rheology of egg-yolk-stabilized concentrated emulsions containing cereal  $\beta$ -glucans of varying molecular size. *Food Hydrocolloids* 13, 113-125.

KUPIEC B. & REVELL B. (1998). Speciality and artisanal cheeses today: the product and the consumer. *British Food Journal* 100 (5), 236-243.

LANGTON M., ASTROM A. & HERMANSSON A. M. (1996). Texture as a reflection of microstructure. *Food Quality and Preference* 7, 185-191.

LANGE C., ROUSSEAU F. & ISSANCHOU S. (1999). Expectation, liking and purchase behaviour under economical constraint. *Food Quality and Preference* 10, 31-39.

LAVEDRINE F., ZMITOU D., RAVEL A., BALDUCCI F. AND ALARY J. (1999). Blood cholesterol and walnut consumption: A cross-sectional survey in France. *Preventive Medicine* 28, 333-339.

LENNERSTEN M., LIGNERT L. (2000). Influence of wavelength and packaging material on lipid oxidation and colour changes in low-fat mayonnaise. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie* 33, 253-260.

MA L. & BARBOSA-CANOVAS G.V. (1995a). Rheological characterization of mayonnaise. Part I. *Journal of Food Engineering* 25, 397-408.

MA L. & BARBOSA-CANOVAS G. V. (1995b). Rheological characterization of mayonnaise. Part II. *Journal of Food Engineering* 25, 409-425.

MANCINI F., MONTANARI L., PERESSINI D., FANTOZZI P. (2002). Influence of alginate concentration and molecular weight on functional properties of mayonnaise. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* 35, 517-525.

MASKAN M. & GÖĞÜS F. (2000). Effect of sugar on the rheological properties of sunflower oil-water emulsions. *Journal of Food Engineering* 43, 173-177.

MCCARTHY M., O'SULLIVAN C. & O'REILY S. (1999). Pre-identification of first buyers of a new food product. *British Food Journal* 11, 842-856.

MC CLEMENTS D. (1999). Food emulsions. Principles, practice and Techniques. *Crc press* 8.

MC CLEMENTS D., DEMITRIADES K. (1998). An integrated approach to the development of reduced fat food emulsions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38, 511-536.

MEISELMAN H. L. (2007). Integrating consumer responses to food products. In: Consumer-led food product development. *MacFie H. Ed., Cambridge, England* 3-33.

MIN D. B., TICKNER D. B. (1982). Preliminary gas chromatographic analysis of flavour compounds in mayonnaise. *Journal of the American oil chemists' society* 59, 226-228.

MONDUZZI M., CABOI F., NYLANDER T., LARSSON K. (1999). Phase behavior, microstructure and stability of three-component System stabilized by a fully biocompatible surfactant. *Surfactant and Detergent* 2, 441.

NOTA G., SPAGNA MUSSO S., NAVIGLIO D., ROMANO R. (1995). Determinazione rapida del grasso nelle farine e nelle semole mediante tecniche strumentali. *Rivista italiana delle sostanze grasse, vol. LXXII.*

OPHUIS P. A. M. & VAN TRIJP H. C. M. (1995). Perceived quality: a market driven and consumer oriented approach. *Food Quality and Preference* 6, 177-183.

PAZ I. & MOLERO M. (2000). Catalytic effect of solid metal of thermal stability of olive oils. *JAOAC, Vol. 77, 127-130.*

PERESSINI D., SENSIDONI A., DE CINDIO B. (1998). Rheological characterization of traditional and light mayonnaises. *Journal of Food Engineering* 35, 409-417.

PERRIER-CORNET J. M., MARIE P., GERVAIS P. (2005). Comparison of emulsification efficiency of protein stabilized oil-in-water emulsions using jet, high pressure and colloid mill homogenization. *Journal of Food Engineering* 66, 211-217.

PINTO A., CANNELLA C. (1998). Alimenti funzionali: alimentazione tradizionale e nuove tecnologie di Produzione. *La Medicina estetica, Anno 22, numero 3, luglio/settembre*.

PLINER P. & HOBDEN K. (1992). Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. *Appetite* 19, 105-120.

POMPEI C. & LUCISANO M. (1991). Introduzione all'analisi sensoriale degli alimenti. *Capitolo 5, 142-158*.

PORRETTA S. (2002). Analisi sensoriale & Consumer science. *Chiriotti Editori, Pinerolo*.

ROININEN K., LÄHTEENMÄKI L. & TUORILA H. (1999). Quantification of Consumer Attitudes to Health and Hedonic Characteristics of Foods. *Appetite* 33, 71-88.

ROS E., NUNEZ I., PEREZ-HERAS A., SERRA M., GILABERT R., CASALS E., DEULOFEU R. A. (2004). A walnut diet improves endothelial function in hypercholesterolemic subjects. A randomized crossover trial. *Circulation*.

SANTIPANICHWONG R., SUPHANTHARIKA M. (2007). Carotenoids as colorants in reduced-fat mayonnaise containing spent brewer's yeast  $\beta$ -glucan as a fat replacer. *Food Hydrocolloids* 21, 565-574.

SIRET F. & ISSANCHOU S. (2000). Traditional process: influence on sensory properties and on consumers' expectation and liking. Application to "paté de campagne". *Food Quality and Preference* 11, 217-228.

STEENKAMP J. E. M. & BAUMGARTNER H. (1995). Development and cross-cultural validation of a short form of CSI as a measure of optimum stimulation level. *International Journal of Research in Marketing* 12, 97-104.

TABILO-MUNIZAGA G., BARBOSA-CANOVAS G. V. (2005). Rheology for food industry. *Journal of Food Engineering* 67, 147-156.

TUORILA H., CARDELLO A. V. & LESHNER L. L. (1994). Antecedents and consequences of expectations related to fat-free and regular-fat foods. *Appetite* 23, 247-263.

UESHIMA H., STAMLER J., ELLIOTT P., CHAN Q., BROWN I. J., CARNETHON M. R., DAVIGLUS M. L., HE K., MOAG-STAHLEBERG A., RODRIGUEZ B. L., STEFFEN L. M., VAN HORN L., YARNELL J., ZHOU B. (2000). Food omega fatty acid. *Journal of Nutrition* 120, 200-205.

VAN KLEEF E., VAN TRIJP H. C. M., LUNING P. (2005). Functional foods: health claim-food product compatibility and the impact of health claim framing on consumer evaluation. *Appetite* 44, 299-308.

VOLIKAKIS P., BILIADERIS C. G., VAMVAKAS C., ZERFIRIDIS G. K. (2004). Effects of a commercial  $\beta$ -glucan concentrate on the chemical, physico-chemical and sensory attributes of a low fat white brined cheese product. *Food Research International* 37, 83-94.

VON SCHACKY C., ANGERER P., KOTHNY W., THEISEN K. AND MUDRA H. (1999). The effect of dietary  $\omega$ -3 fatty acids on coronary atherosclerosis. *Annals of Internal Medicine* 130, 554-562.

WENDIN K., AABY K., ELLEEJJAER M. R., ALBIN R., BERGENSTAHL B., JOHANSSON L., WILLERS E. P., SOLHEIM R. (1997). Low-fat mayonnaise: influence of fat content, aroma compounds and thickeners. *Food Hydrocolloids* 2, 87-99.

WENDIN K., ELLEEJJAER M. R., SOLHEIM R. (1999). Fat content and Homogenization effects on flavour and texture of mayonnaise with added aroma. *Lebensm- Wiss u.- Technol.*, 32, 377-383.

WILLS R. B., CHEONG C. L. (1979). Use of peroxide value and carbonyl value to determine the onset of rancidity in mayonnaise. *Food Chemistry* 4, 259-261.

WILKINSON C., DIJSTERHUIS G.B. and MINEKUS M. (2000). From food structure to texture. *Trends in Food Science & Technology* 11, 442-450.

WOOD R. (1988). The Whole Foods Encyclopedia. New York. Prentice-Hall Press PMID 15220.

WORRASINCHAI S., SUPHANTHARIKA M., PINJAI S., JAMNONG P. (2006). B-Glucan prepared from spent brewer's yeast as a fat replacer mayonnaise. *Foods Hydrocolloids* 20, 68-78.

ZHAO G., ETHERTON T. D., MARTIN K.R., WEST S. G., GILLIES P. J., KRIS-ETHERTON P.M. (2004). Dietary {alpha}-Linolenic Acid Reduces Inflammatory and Lipid Cardiovascular Risk Factors in Hypercholesterolemic Men and Women. *Journal of Nutrition* 134(11), 2991-2997. PMID:15514264.

<http://www.benessere.com>

<http://www.massmarket.it>



## Ringraziamenti

Le prime persone che mi sembra doveroso ringraziare sono il Prof. Masi e la disponibilissima Prof.ssa Cavella, entrambi mi hanno dato la possibilità di effettuare un'esperienza formativa che mi ha permesso di affacciarmi nel mondo del lavoro con sicurezza e con competenza; inoltre, grazie a queste due persone sono riuscita a portare a termine un lavoro di cui oggi sono fiera.

Un "grazie di cuore" va anche alle Dottoresse Rossella Di Monaco, Elena Torrieri e Tiziana Giancone, che mi sono state accanto durante le lunghe ore trascorse in dipartimento e che mi hanno aiutato e messo sulla giusta via nella ricerca (e non solo!).

Grazie  
alle persone che mi vogliono bene e che mi sono oggi molto ma molto vicine.

Solo "tu" hai conosciuto  
(e sopportato con grande pazienza)  
i miei momenti difficili...

Fare tante cose contemporaneamente, cercare di farle con competenza e al meglio delle proprie possibilità è sfiancante...  
...ma è una gran soddisfazione!!!

Lia