

*CONFRONTO TRA METODOLOGIE ANALITICHE PER LA
DETERMINAZIONE DELL'AMMONIACA NELLO STUDIO DELLA
SHELF LIFE DEL FORMAGGIO CONFEZIONATO.*

*Toppino P.M. *, Cori E. *, Riva M. ***

** Istituto Sperimentale Lattiero Caseario. Lodi*

***DISTAM, sez. Tecnologie Alimentari. Università degli Studi di
Milano.*

INTRODUZIONE

Il consumatore si mostra sempre più attento alle caratteristiche degli alimenti, pretendendo standards qualitativi costanti ed elevati; ne deriva la necessità di fornire prodotti igienicamente sicuri e gradevoli a livello sensoriale, e al contempo, di garantire che queste caratteristiche si mantengano inalterate durante tutta la vita commerciale.

Si è ritenuto quindi utile valutare la shelf life in un formaggio molle a media maturazione.

Monitorando nel tempo l'evoluzione dei componenti del prodotto specialmente per quanto attiene i processi proteolitici, a carico delle frazioni caseiniche e sieroproteiche, mediante la rilevazione dell'ammoniaca libera, quale ultimo prodotto della degradazione aminoacidica.

Il lavoro è stato condotto secondo il protocollo classico degli studi relativi alla shelf life:

la prima parte è stata dedicata alla valutazione della composizione base in macrocomponenti del formaggio; nella seconda parte si è verificato sperimentalmente il progresso degli eventi degradativi mediante la rilevazione dell'ammoniaca, quale indice del grado di maturazione del formaggio.

In merito al contenuto di ammoniaca, sono state effettuate valutazioni quantitative, utilizzando sia le metodiche usualmente impiegate

- ❖ tritrimetrica, previa distillazione del filtrato ottenuto secondo Giuliano e Stein;
- ❖ potenziometrica, mediante elettrodo specifico secondo Helaine;

sia lo strumento FOOD LAB CDR,

- ❖ colorimetrico, effettuato automaticamente ed in grado di fornire il dato analitico in breve tempo

Le valutazioni analitiche sono state effettuate su campioni a maturazione commerciale confezionati sia in carta, sia in contenitori di plastica termosaldati e posti in atmosfera modificata (anidride carbonica azoto in rapporto 1:1).

La conservazione dei campioni è stata condotta in cella termostata a 10°C, ovvero alla temperatura normalmente presente nella catena del fresco della grande distribuzione e dell'ambiente domestico.

Composizione del formaggio a maturazione commerciale

La composizione centesimale in macrocostituenti (tabella I), ha evidenziato una discreta omogeneità dei prodotti utilizzati per la ricerca, confermando l'appartenenza di tutti i campioni allo stesso lotto di produzione, relativo ad un latte di massa trasformato in una singola polivalente.

La composizione rilevata è risultata perfettamente coerente con le caratteristiche minimali imposte dal disciplinare di produzione, che prevede un contenuto minimo di sostanza secca del 46% e soprattutto un contenuto minimo di sostanze lipidiche, calcolato sulla sostanza secca, uguale o superiore al 48%.

I dati relativi alla frazione proteica non caseinica (NCN) e alla frazione azotata non proteica (NPN), evidenziano il discreto grado di maturazione raggiunto dal formaggio utilizzato per la ricerca; tale dato viene confermato anche dal contenuto di ammoniaca libera già superiore a 400 ppm.

	media	± d.s
Sostanza Secca %	48.583	0.198
Umidità %	51.417	0.198
Grasso (% s.s)	51.176	0.152
Proteine (% s.s)	39.861	0.216
NCN %	0.546	0.020
NPN %	0.401	0.037
NH ₃ %	0.04	0.004
pH	5.63	0.194
Acidità (g ac.Latt./100g)	0.967	0.185
Ceneri (% s.s)	7.85	0.173

Tabella I: Composizione del formaggio. I dati si riferiscono alla composizione media dei campioni prelevati al tempo zero, a maturazione commerciale di 35 giorni.

Metodo colorimetrico mediante strumento CDR

Circa 10 grammi di formaggio sono sciolti in 50 ml di acqua a 37 °C e omogeneizzati con Ultra Turrax. Il tutto viene trasferito in un matraccio da 250 ml e si aggiunge altra acqua fino a un volume di circa 200 ml.

Si aggiungono 2 gocce di formaldeide e si lascia per 12 ore a temperatura ambiente. Si porta a volume con acqua e si agita. Si prelevano una aliquota da 50 ml dopo filtrazione su filtro a pieghe quantitativo; nel caso la filtrazione del campione risulti piuttosto lenta, si effettua anche una centrifugazione a 16.000 giri per 10 minuti prima della filtrazione.

L'aliquota da 50 ml viene portata a pH 11-12 con NaOH al 33 % p/v.

Si aggiungono 20 µl di campione nelle corrispondenti cuvette contenenti il reattivo R1 (derivato fenolico), si agita per inversione e si posizionano le cuvette nelle celle di termostatazione dello strumento e si pongono ad incubare per 5 minuti.

Dopo aver effettuato la lettura del test in bianco nell'apposita cella di lettura, si inseriscono in ogni cuvetta 200 µl del 2° reattivo (R2, soluzione alcalina) e si pone ad incubare per 3 minuti.

Durante questo periodo di incubazione la soluzione presente in ogni cuvetta si colorerà di verde-blu, con intensità correlata alla quantità di ammoniaca presente nel campione.

Al termine, si esegue la lettura del campione, nello stesso pozzetto dove precedentemente è stata effettuata la misura del test in bianco e, alla fine delle letture di tutti i campioni, lo strumento visualizzerà sul display il valore del quantitativo di ammoniaca presente espresso in ppm.

Confronto tra procedure di preparazione del campione per l'analisi dell'ammoniaca

Nelle tabelle II e III in corrispondenza dei risultati di ciascuna metodica sono riportate due colonne di dati, una riferita alla preparazione del campione effettuata mediante semplice filtrazione della soluzione (F), una seconda riferita alla preparazione del medesimo campione effettuata mediante centrifugazione della soluzione e successiva filtrazione (C).

In effetti si è voluto verificare l'eventuale incidenza del processo di centrifugazione sull'entità del risultato ottenuto, in funzione di una possibile contrazione del tempo di preparazione dell'analita ed in ultima analisi del tempo di realizzazione totale dell'analisi stessa.

I dati riportati nelle colonne F e C relative alla stessa metodica analitica sono state sottoposte ad analisi della varianza ad un fattore (tabella IV) per verificarne l'effettiva equivalenza.

Inoltre, per una considerazione visiva più immediata sono stati riportati i corrispondenti grafici (figura 1).

L'analisi della varianza ad un fattore applicata ad ogni coppia di serie di dati ottenuti sullo stesso campione, sia con la semplice filtrazione che previa centrifugazione, non ha evidenziato differenze significative ($P \leq 0.05$). Tale risultato si è dimostrato essere indipendente dalla metodica analitica utilizzata in quanto in tutti i casi considerati non sono state rilevate differenze significative tra i dati.

Dai risultati ottenuti, si può concludere come le analisi per la determinazione dell'ammoniaca libera possano essere effettuate utilizzando, indifferentemente, sia soluzioni di formaggio chiarificate mediante filtrazione, sia ottenute previa centrifugazione a 16000 giri per 10 minuti. Tuttavia la centrifugazione della soluzione in esame prima della filtrazione consente un notevole risparmio di tempo in fase di filtrazione, legato ad una minore ostruzione dei pori del filtro.

Tale riduzione dei tempi risulta ottimale anche nell'economia dell'analisi, in quanto riduce la possibilità di ulteriore degradazione della matrice proteica nella fase, piuttosto lunga, di filtrazione e quindi la rilevazione di contenuti ammoniacali diversi da quelli effettivamente presenti nella matrice formaggio di partenza.

ANALISI DELLA VARIANZA AD UN FATTORE RIFERITA AL METODO COLORIMETRICO DI CAMPIONI FILTRATI E CENTRIFUGATI						
<i>Gruppi</i>	<i>Conteggio</i>	<i>Somma</i>	<i>Media</i>	<i>Varianza</i>		
CDR F.	27	45180,35	1673,34	1488881		
CDR C.	27	44354,91	1642,77	1332528		
<i>Origine della variazione</i>	<i>SQ</i>	<i>gdl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>Valore di significatività</i>	<i>F crit</i>
Tra gruppi	12617,61	1	12617,61	0,0089	0,92	4,02
In gruppi	73356635	52	1410705			
Totale	73369252	53				

Tabella IV: Metodologia colorimetrica: analisi della varianza ad un fattore

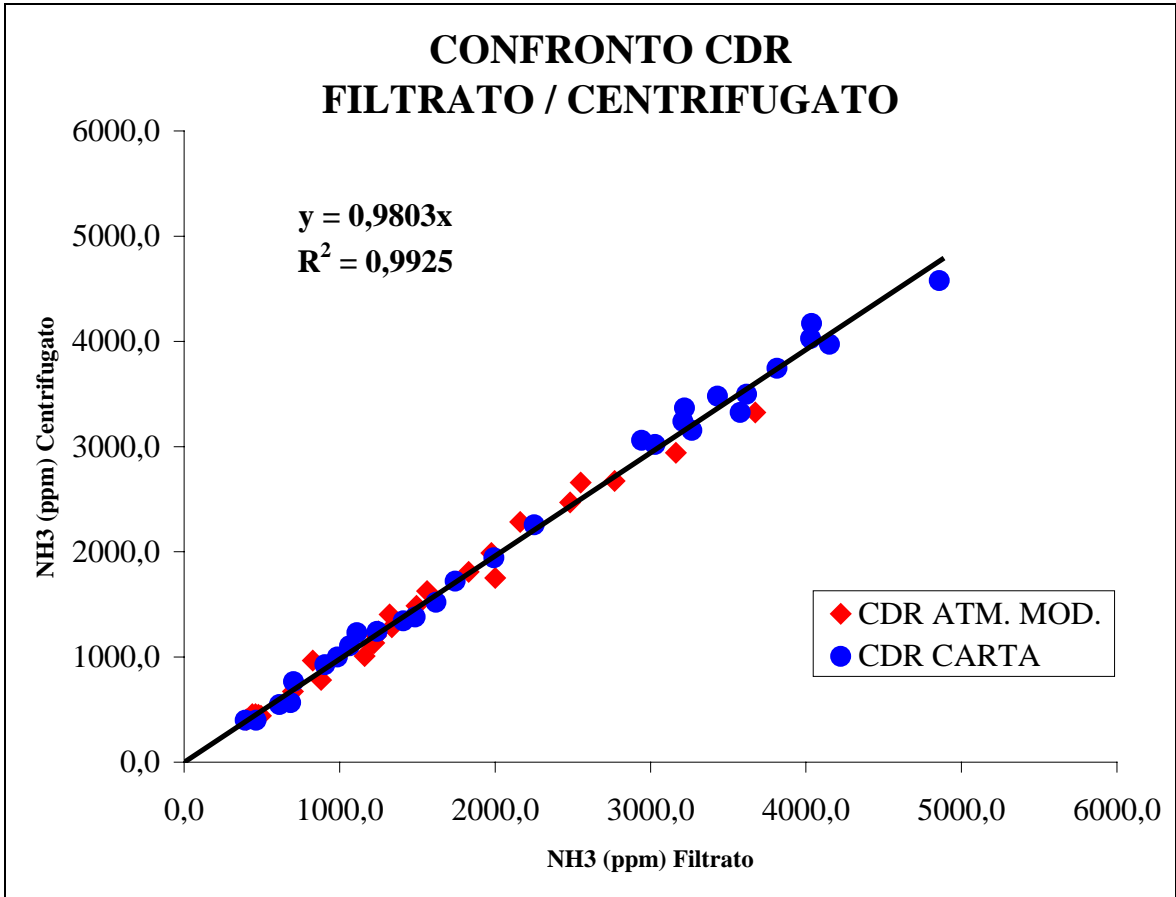


Figura 1: Contenuto in ammoniaca dei campioni confezionati in atmosfera modificata determinato con il metodo colorimetrico

Confronto tra metodiche analitiche per la rilevazione del contenuto di ammoniaca libera.

L'individuazione di una metodica in grado di accoppiare velocità di ottenimento del dato e precisione e accuratezza dello stesso, potrebbe consentire una valutazione in tempi brevi, ed eventualmente anche direttamente al punto di distribuzione, del reale stato di conservazione del prodotto.

L'ammoniaca libera, quale componente terminale delle reazioni a carico della struttura proteica del formaggio e dei singoli aminoacidi liberatisi, costituisce, un marker ottimale dello stato di shelf life del formaggio.

Per la sua determinazione sono state utilizzate due metodiche di normale impiego per la rilevazione negli alimenti: metodo titrimetrico e metodo potenziometrico.

Il metodo titrimetrico prevede una distillazione in corrente di vapore dell'ammoniaca presente previa alcalinizzazione della matrice da analizzare, e successiva titolazione.

In queste condizioni il punto nodale dell'analisi risiede nelle corrette condizioni di recupero dell'ammoniaca in distillazione, con possibilità di perdita di efficienza di recupero se le suddette condizioni non sono ottimali.

Il metodo potenziometrico consiste nell'utilizzazione di un elettrodo, specifico per la rilevazione del contenuto di ammoniaca, immerso nella soluzione di formaggio opportunamente preparata, prima e dopo alcalinizzazione .

Per questa metodica la possibilità di errore risiede essenzialmente nelle eventuali variazioni di sensibilità dell'elettrodo in seguito ad "avvelenamenti" dello stesso dovuti alla presenza di sostanze interferenti nella matrice da analizzare.

Per ovviare a ciò, le specifiche di conduzione dell'elettrodo prevedono la sostituzione della membrana ogni 6-8 analisi, con un aggravio economico non indifferente ed una manualità piuttosto impegnativa.

E' stata introdotta una terza metodica analitica con lo scopo di semplificare ed abbreviare i tempi di analisi dell'ammoniaca libera.

L'attrezzatura utilizzata è completamente automatizzata, e le determinazioni analitiche, basate sulla rilevazione colorimetrica del componente cromatico che si sviluppa dalla reazione, sono effettuate direttamente in cuvette appositamente predisposte e già contenenti il primo reattivo.

I tempi dell'analisi strumentale risultano quindi estremamente contenuti e non

superiori ai 10 minuti per campione, consentendo quindi la realizzazione di un numero consistente di analisi nell'unità di tempo, anche in funzione della possibilità di termostatazione e lettura contemporanea di 12 analiti.

I risultati analitici rilevati con le tre metodiche in oggetto sui medesimi formaggi sono riportati nelle tabelle I e II, relativamente ai campioni confezionati in carta e in atmosfera modificata.

CONFEZIONAMENTO IN CARTA						
	METODI					
TEMPO	Distillazione diretta Kjeldahl		Colorimetrico CDR		Potenziometrico Helaine	
giorni	F.	C.	F.	C.	F.	C.
t ₀ (10/9/01)	386,0	437,3	392,5	398,1	371,0	401,2
2	404,7	437,3	463,4	398,1	403,0	403,0
4	585,3	572,3	686,0	565,0	645,0	532,2
7	568,9	580,3	612,5	548,0	512,0	661,0
9	752,1	709,7	703,0	766,9	790,3	764,5
11	952,3	889,0	905,4	926,2	999,0	1011,8
14	1032,8	1005,8	986,0	999,0	1200,5	1105,8
16	1232,8	1113,4	1065,0	1107,0	1214,0	1226,8
18	1248,3	1275,8	1111,1	1232,6	1231,9	1280,0
21	1270,1	1259,0	1240,4	1245,1	1242,8	1081,0
23	1600,0	1535,0	1410,0	1345,0	1415,4	1374,1
25	1530,0	1463,0	1487,0	1382,0	1433,5	1438,0
28	1845,0	1742,0	1620,0	1520,0	1673,0	1560,3
30	1835,0	1819,0	1742,5	1720,0	1710,0	1665,0
32	2076,0	1964,0	1992,0	1944,0	1891,7	1949,0
35	2345,3	2369,0	2252,0	2257,0	2349,0	2232,4
37	3301,0	3188,0	3266,0	3155,0	2968,0	3164,6
39	3231,3	3169,0	3029,0	3020,0	2806,6	3134,0
42	3717,0	3663,0	3618,0	3498,5	3513,1	3176,3
44	3472,0	3532,7	3208,0	3238,7	1477,0	1916,1
46	3688,5	3574,8	3814,5	3745,0	1657,3	1254,8
49	3674,6	3540,8	3430,6	3477,7	3252,5	3310,8
51	3340,8	3339,3	3220,0	3366,3	3103,2	3269,2
53	3130,4	2966,2	2943,3	3060,5	2112,6	2032,1
56	3437,0	3308,8	3576,6	3322,8	4921,5	4070,6
58	4250,4	4029,3	4029,3	4027,0	4525,2	4876,5
60	4200,5	4204,9	4036,0	4168,9	5409,7	5243,3
63	4901,0	4576,5	4858,3	4576,5	5325,1	5473,4
65	4270,8	4002,3	4151,0	3972,7	4735,4	4025,3

Tabella II: Risultati della valutazione del contenuto in ammoniaca (ppm) ottenuti con le tre metodiche relativi ai prodotti confezionati in carta.

(F: soluzione filtrata C: soluzione centrifugata e filtrata)

CONFEZIONAMENTO IN ATMOSFERA MODIFICATA						
	METODI					
TEMPO	Distillazione diretta Kjeldahl		Colorimetrico CDR		Potenziometrico Helaine	
giorni	F.	C.	F.	C.	F.	C.
t₀ (10/9/01)	382,0	373,5	400,0	404,4	389,0	389,0
3	402,8	373,5	402,8	404,4	N.D.	N.D.
7	441,1	462,6	458,0	456,7	391,0	371,0
10	507,7	497,1	438,3	455,6	387,0	389,0
14	469,1	486,9	477,7	448,8	390,0	392,1
17	669,1	629,3	699,0	670,7	N.D.	N.D.
21	867,0	819,2	827,0	968,0	953,3	932,6
24	493,2	453,2	493,2	440,0	446,7	481,0
28	924,0	904,0	880,0	781,0	837,4	843,0
31	1255,0	1158,0	1223,0	1135,0	1368,3	1315,0
35	1260,0	1208,0	1236,0	1201,0	1252,3	1063,1
38	1351,2	1317,0	1335,0	1283,0	1424,9	1403,7
42	1650,6	1535,6	1563,0	1628,4	1492,7	1582,0
45	1490,3	1560,3	1322,3	1404,3	1430,6	1214,8
49	1551,0	1438,0	1494,1	1487,0	1241,4	1190,6
52	1630,5	1875,4	1830,2	1808,0	1810,8	1936,4
56	1849,2	1796,6	1976,1	1988,2	1874,4	1987,3
59	1269,8	1195,8	1213,8	1132,2	514,0	375,0
63	1761,4	2094,3	2001,3	1752,5	1782,5	1998,4
66	1258,0	1249,5	1248,8	1244,2	621,5	447,2
70	1107,1	1166,4	1160,0	1010,5	653,8	545,8
73	2361,5	2260,4	2162,2	2284,0	1614,5	1382,7
76	2520,6	2497,0	2482,5	2470,0	2576,8	2596,2
79	2481,4	2382,7	2549,3	2659,2	2500,0	2975,4
83	3211,3	3009,2	3164,4	2940,4	3496,4	3528,9
86	2654,8	2665,8	2768,9	2674,5	2990,4	3290,2
89	3596,7	3204,5	3673,5	3322,9	3717,6	3320,7

*Tabella III: Risultati della valutazione del contenuto in ammoniaca (ppm) ottenuti con le tre metodiche e relative ai prodotti confezionati in atmosfera modificata.
(F: soluzione filtrata C: soluzione centrifugata e filtrata)*

I dati ottenuti con le tre metodiche e riportati nelle tabelle I e II, sono stati sottoposti all'analisi della varianza ad un fattore, per evidenziare la presenza di differenze significative.

In nessun caso sono stati rilevate differenze significative ($P \leq 0.05$) tra le serie di dati confrontate tra loro a due a due (tabelle V, VI,).

Per una ulteriore conferma della equivalenza dei dati ottenuti con le tre metodiche, sono stati tracciati i grafici relativi e le equazioni delle rette (figure 2 e 3).

L'insieme dei risultati ottenuti dimostra che la metodica colorimetrica fornisce dati analitici del tutto simili e significativamente non diversi da quelli forniti dalle metodiche tradizionali.

In special modo la metodica CDR è risultata perfettamente comparabile con la metodica ufficiale per distillazione in corrente di vapore.

Dalla figura 8 si può infatti rilevare la scarsa dispersione dei dati ($R^2 = 0.9919$) rispetto alla linea di tendenza anche se la metodica CDR manifesta una leggera sottostima del dato fornito ($y = 0.9814x$).

Tale metodica potrebbe quindi essere validamente utilizzata per la rilevazione del grado di maturazione del formaggio, e probabilmente anche di altri formaggi dove si manifestano degradazioni proteiche piuttosto intense, quali il Camembert , le Robiole, il Gorgonzola ecc.

Il complesso dei dati rilevati con le tre metodiche utilizzate risulta tuttavia coerente, pur presentando una maggiore variabilità relativamente al metodo potenziometrico legato, come già ricordato, alla metodica analitica più sensibile e delicata.

Da tali dati si può evidenziare inoltre come l'intensità della degradazione proteica sia maggiore nel prodotto confezionato tradizionalmente in carta, con valori di ammoniaca libera nettamente più elevati rispetto a quelli determinati nei campioni in atmosfera modificata (Figure 2 e 3).

In questi ultimi si sono rilevate in alcuni casi anomalie degradative che hanno reso il campione del tutto inutilizzabile ai fini analitici.

In effetti questo tipo di imballaggio per il confezionamento dei formaggi in genere in particolare, può causare degradazioni anomale della matrice, se non viene effettuato in modo corretto, con conseguenti perdite dal punto di vista economico per lo stesso produttore.

Eventuali alterazioni sono dovute probabilmente anche alla presenza di microfessure nella pellicola protettiva che richiude la confezione del formaggio.

In alcuni campioni prelevati per l'analisi, l'ossigeno a contatto con il formaggio in maturazione ha causato lo sviluppo anomalo e diffuso di lieviti e muffe ed anche rigonfiamento della confezione con sviluppo di gas e aromi sgradevoli, e la conseguente rilevazione di dati parimenti anomali.

ANALISI DELLA VARIANZA AD UN FATTORE RIFERITA AI METODI KJELDAHL E CDR						
<i>Gruppi</i>	<i>Conteggio</i>	<i>Somma</i>	<i>Media</i>	<i>Varianza</i>		
KJELDAHL	56	111401,2	1989,30	1677296		
CDR	56	109338,5	1952,47	1628219		
<i>Origine della Variazione</i>	<i>SQ</i>	<i>gdl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>Valore di significatività</i>	<i>F crit</i>
Tra gruppi	37987,57	1	37987,57	0,022984	0,87	3,92
In gruppi	1,82E+08	110	1652757			
Totale	1,82E+08	111				

Tabella V: Metodi Kjeldahl e CDR: analisi della varianza ad un fattore.

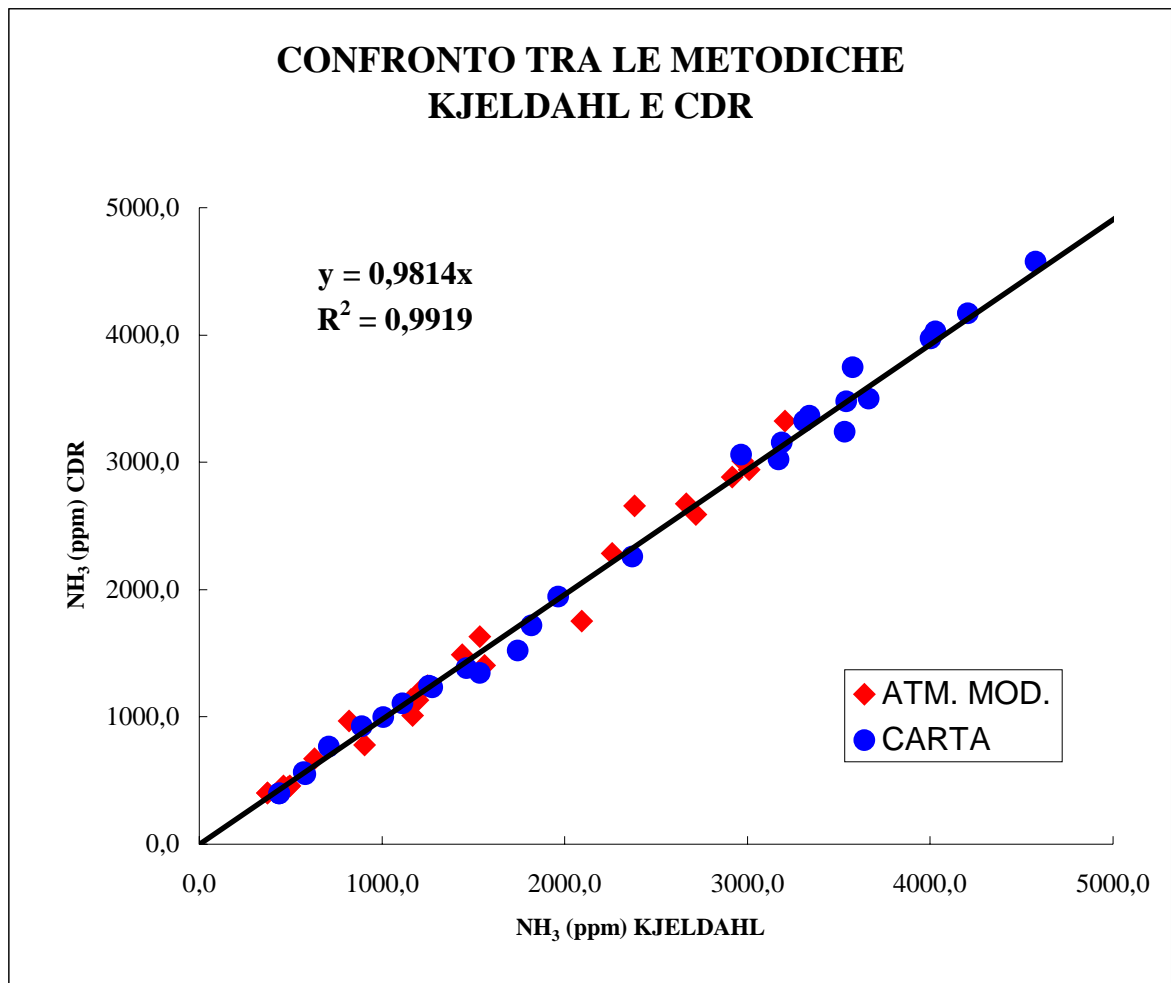


Figura 2: Confronto tra le metodiche Kjeldahl e CDR.

ANALISI DELLA VARIANZA AD UN FATTORE RIFERITA AI METODI CDRL ED HELAINE						
<i>Gruppi</i>	<i>Conteggio</i>	<i>Somma</i>	<i>Media</i>	<i>Varianza</i>		
CDR	56	109338,5	1952,47	1628219		
HELAINE	53	103812	1958,71	1890444		
<i>Origine della variazione</i>	<i>SQ</i>	<i>gdl</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>Valore di significatività</i>	<i>F crit</i>
Tra gruppi	1061,084	1	1061,084	0,0006	0,98	3,92
In gruppi	1,88E+08	107	1755656			
Totale	1,88E+08	108				

Tabella VI: Metodi CDR ed Helaine: analisi della varianza ad un fattore.

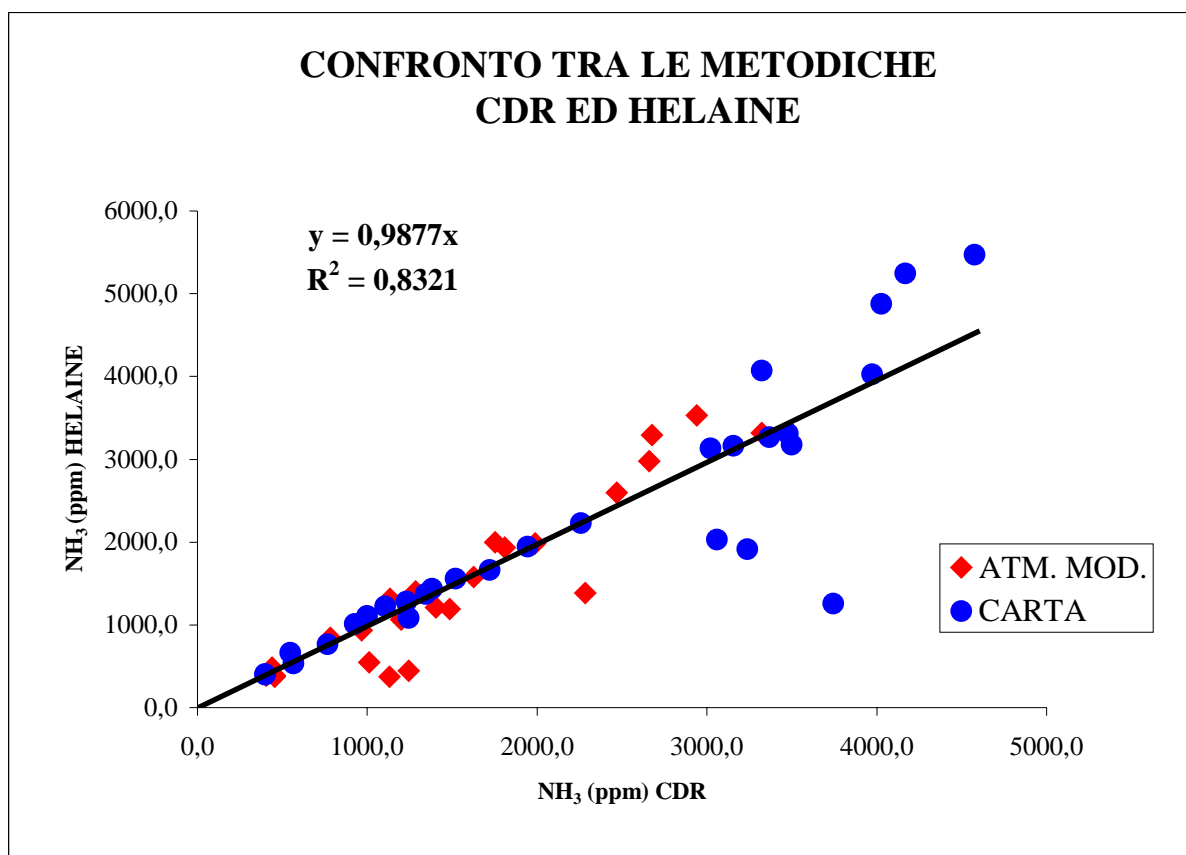


Figura 3: Confronto tra le metodiche CDR ed Helaine.

Parametrizzazione cinetica dell'evoluzione degli indici classici di maturazione.

Valutazione dell'andamento della cinetica nei tre metodi considerati.

I dati analitici in questione (tabelle II e III), sono stati elaborati mediante modelli matematici al fine di valutare, per ciascun indice, i punti di massimo delle derivate prima e seconda. Come noto la derivata prima di una funzione descrive la velocità del processo studiato, mentre la derivata seconda rappresenta l'accelerazione dello stesso. Per tutti gli indici considerati si è deciso convenzionalmente di forzare il fitting verso una funzione sigmoideale del tipo:

$$y = a + b / (1 + \exp (- (x - c) / d))$$

Questo modello ben corrisponde alle fenomenologie del processo evolutivo, contemplando una variazione di tipo esponenziale tra due limiti, uno inferiore ed uno superiore.

E' probabile che la cinetica delle trasformazioni sia molto più complessa di quella delineata da questa fenomenologia; la funzione sigmoideale consente comunque una notevole semplificazione dell'elaborazione statistica.

Dalle figure 4 e 5 si può evidenziare come tutti i dati rilevati nei tre metodi, sia nel confezionamento in carta che in quello in atmosfera modificata, mostrano il medesimo andamento in funzione del tempo.

Successivamente, sono state delineate le rispettive funzioni sigmoidali (figure 6 e 7) calcolando le derivate prima e seconda, e determinando i valori corrispondenti ai loro massimi.

Come per l'analisi della varianza effettuata precedentemente, anche i valori di massimi delle derivate (tabelle VII e VIII) mostrano in modo evidente che i tre metodi di analisi possono considerarsi equivalenti.

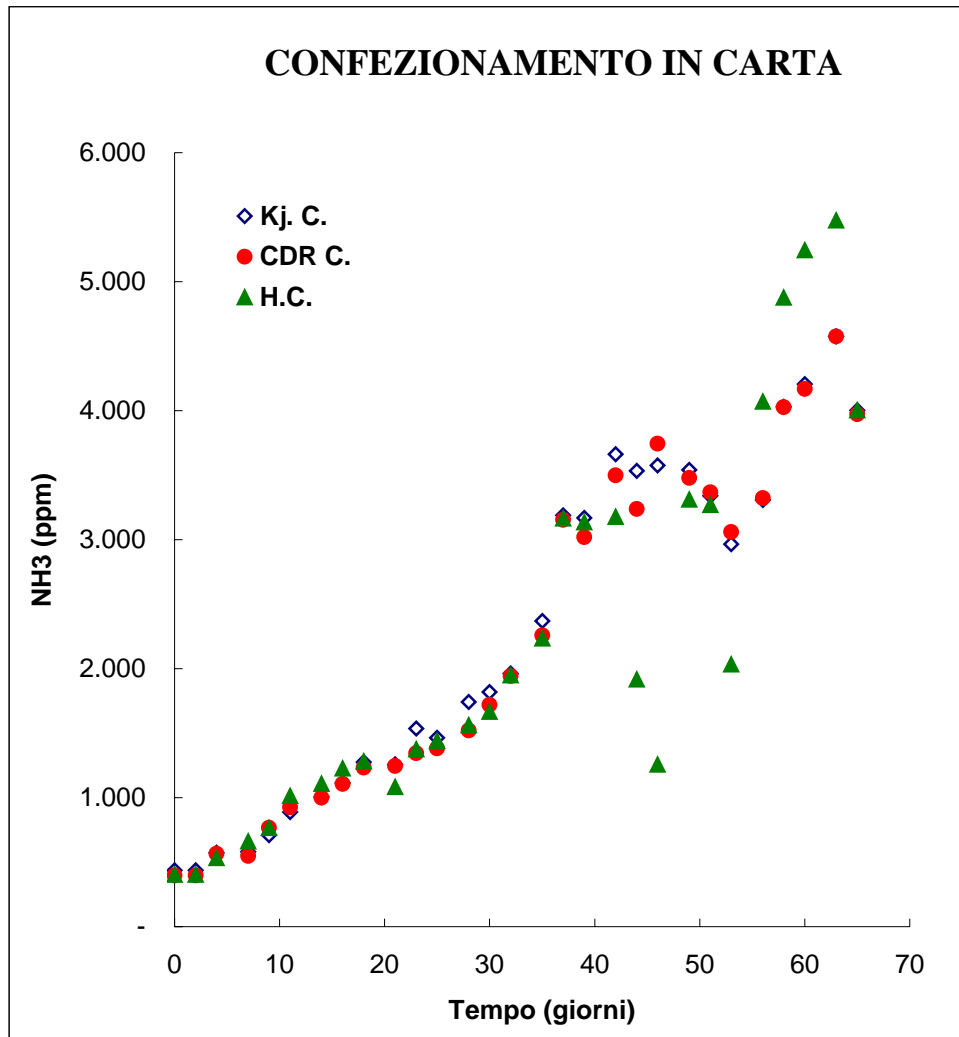


Figura 4: Andamento del contenuto di ammoniaca nei prodotti confezionati in carta determinato con i tre metodi.

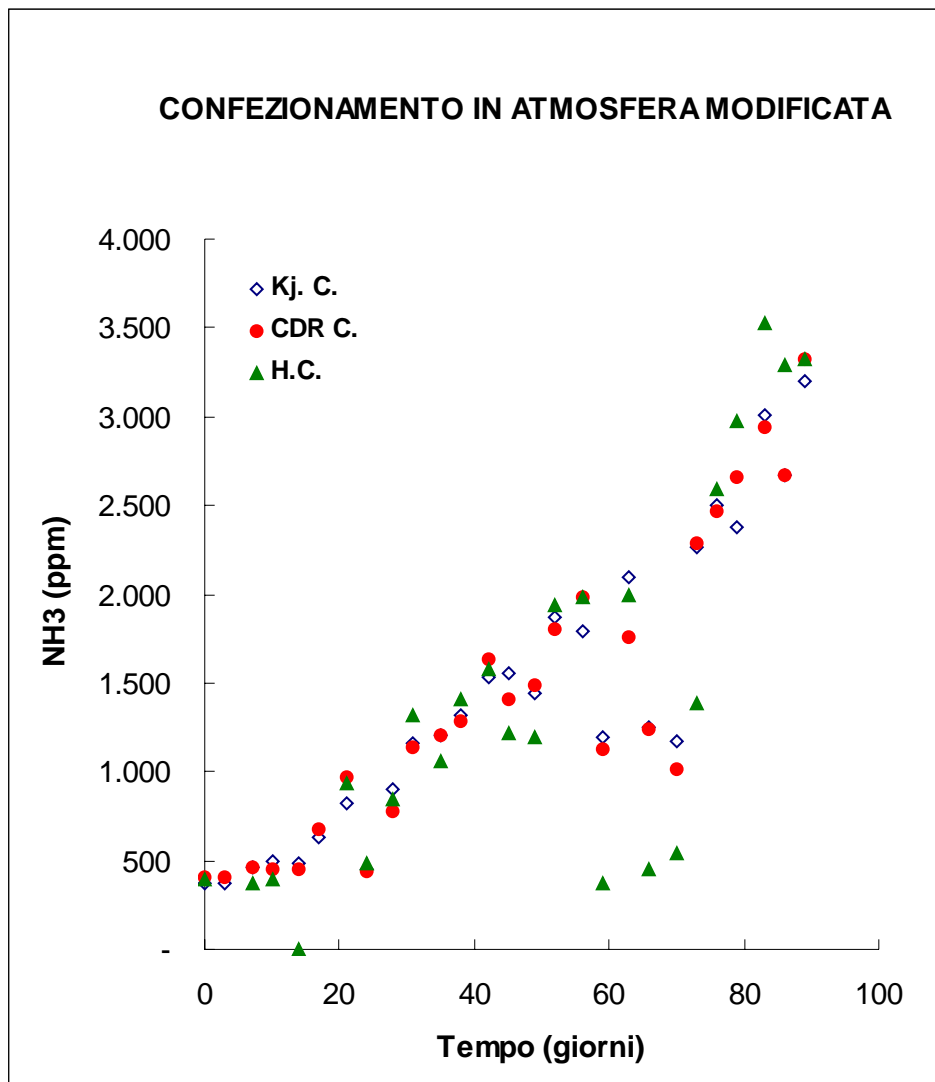


Figura 5: Andamento del contenuto di ammoniaca nei prodotti confezionati in atmosfera modificata determinato con i tre metodi.

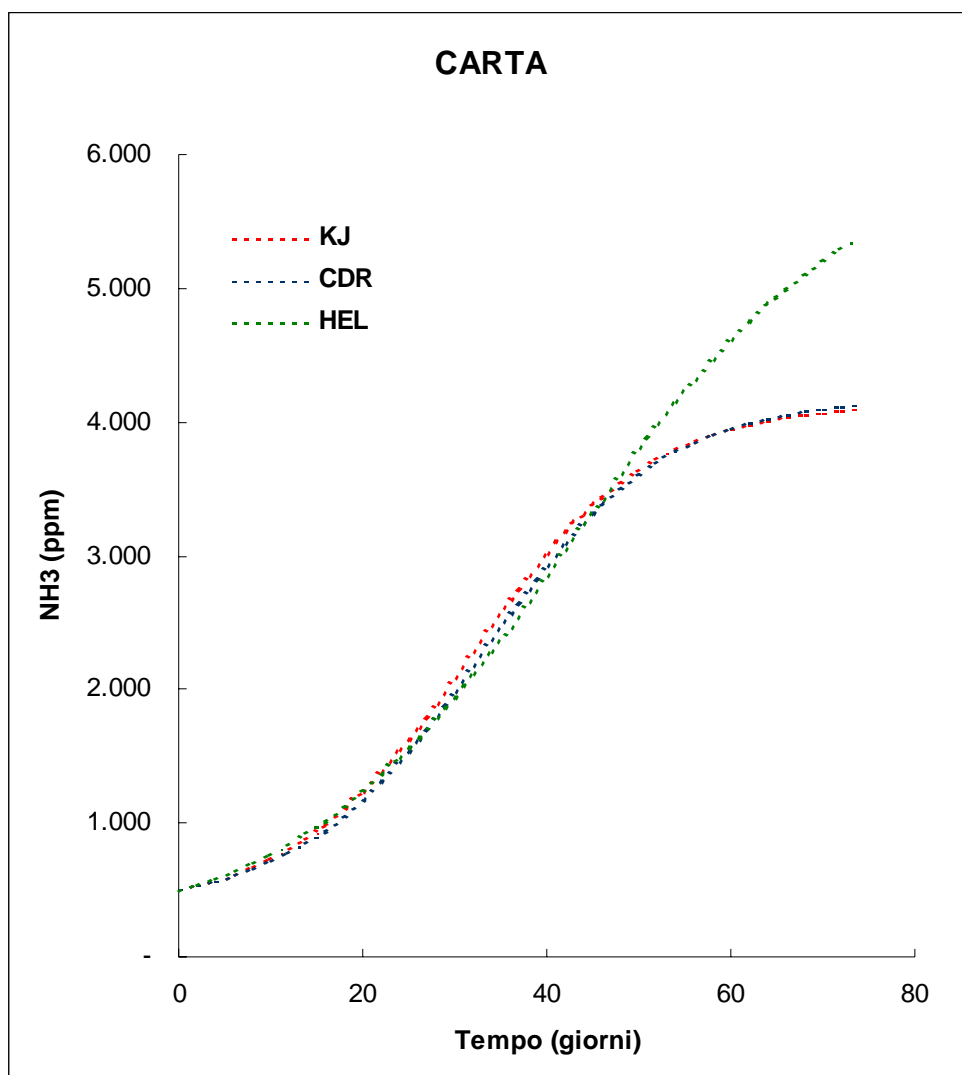


Figura 6: Rappresentazione, mediante una funzione sigmoide dell'evoluzione del contenuti in ammoniaca nei campioni confezionati in carta.

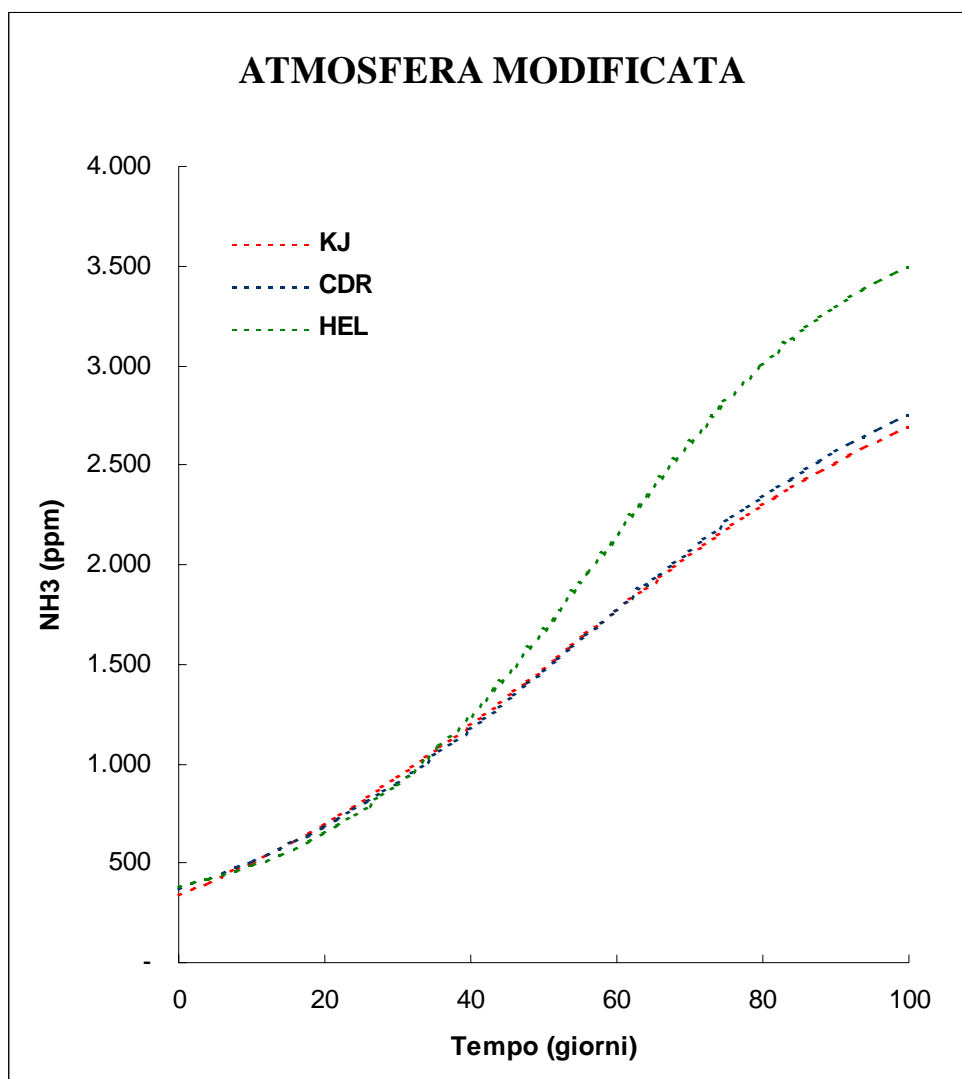


Figura 7: Rappresentazione, mediante una funzione sigmoide dell'evoluzione dei contenuti in ammoniaca nei campioni confezionati in atmosfera modificata.

CARTA			
EQUAZIONE $y=a+b/(1+\exp(-(x-c)/d))$			
	KJELAD AHL	CDR	HEL AINE
a	370,82	392,98	157,75
b	3770,67	3796,76	5874,21
c	31,78	33,29	42,64
d	9,69	9,78	15,16
Max d¹ (g)	31,8	33,3	42,6
Max d² (g)	19,0	20,4	22,7

Tabella VII : Determinazione dei massimi delle derivate prima e seconda nelle funzioni sigmoidali per i campioni confezionati in carta.

ATMOSFERA MODIFICATA			
EQUAZIONE $y=a+b/(1+\exp(-(x-c)/d))$			
	KJELADAHL	CDR	HELAINÉ
a	-126,36	40,34	226,56
b	3372,77	3208,17	3612,31
c	52,76	55,82	57,58
d	29,02	26,01	18,65
Max d¹ (g)	52,8	62,6	57,6
Max d² (g)	45,0	53,0	33,0

Tabella VIII : Determinazione dei massimi delle derivate prima e seconda nelle funzioni sigmoidali per i campioni confezionati in atmosfera modificata

Parametrizzazione della cinetica dell'evoluzione dell'ammoniaca secondo il metodo colorimetrico CDR.

In questa ultima fase del lavoro, si è voluto parametrizzare la shelf life dell'evoluzione dell'ammoniaca nei due tipi di confezionamento, sulla base dei dati rilevati dallo strumento CDR, che segue una metodologia colorimetrica, perfettamente comparabile dai risultati ottenuti agli altri due metodi classici.

Le figure 8 e 9 illustrano come il valore massimo della derivata seconda coincida con il punto in cui si osserva la massima accelerazione della velocità di degradazione dopo la fase di latenza, e come il valore massimo della derivata prima coincida con il periodo in cui il processo degradativo raggiunge la sua velocità massima.

Al fine di una valutazione qualitativa di un alimento è da considerare importante la velocità con cui procede un fenomeno degradativo, ma non meno rilevante è il momento della massima accelerazione del fenomeno, cioè il momento in cui i parametri di qualità cominciano a manifestare una variazione significativa.

In questa ottica, dai dati analitici sono state calcolate le funzioni delle derivate prima e seconda e quindi i loro massimi per ogni indice di maturazione.

Si era inizialmente pensato di assumere il valore temporale dedotto dal massimo della derivata seconda come criterio per stabilire il limite di conservabilità ad una data temperatura.

Nel lasso di tempo che precede il massimo della derivata seconda non avvengono infatti significative variazioni della degradazione qualitativa del formaggio, si può pertanto considerare come ottimale questo limite di conservazione in quanto assicura la presentazione di un formaggio senza alterazioni rilevabili.

Queste considerazioni hanno portato all'adozione di entrambi i criteri distinguendoli in "criterio prudenziale" per indicare i limiti rigidi dettati dai massimi delle derivate prime e "criterio tollerante" per i limiti individuati mediante i massimi delle derivate seconde.

La parametrizzazione della shelf life (figure 8 e 9), ha consentito di individuare matematicamente due indici caratteristici: il tempo a cui la derivata seconda della cinetica è massima (massima accelerazione degli eventi degradativi, d^2F/dt^2); il tempo a cui la derivata prima della cinetica è massima (massima velocità degli eventi degradativi; df/dt).

L'adozione dei due criteri di shelf life, prudenziale (accelerazione massima) e tollerante (velocità massima); ha permesso di identificare una zona compresa tra i valori dei due massimi, corrispondente al lasso di tempo in cui il formaggio è da considerarsi sovramaturo.

Conservazione Taleggio a 10°C

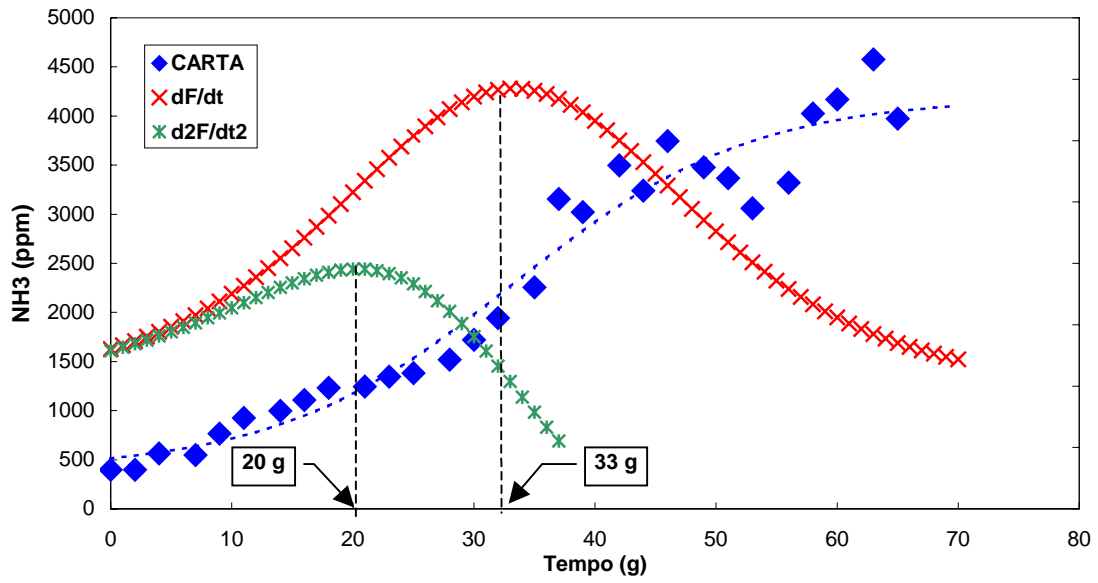


Figura 8: Parametrizzazione della cinetica di maturazione del formaggio confezionato in Carta

Conservazione Taleggio a 10°C

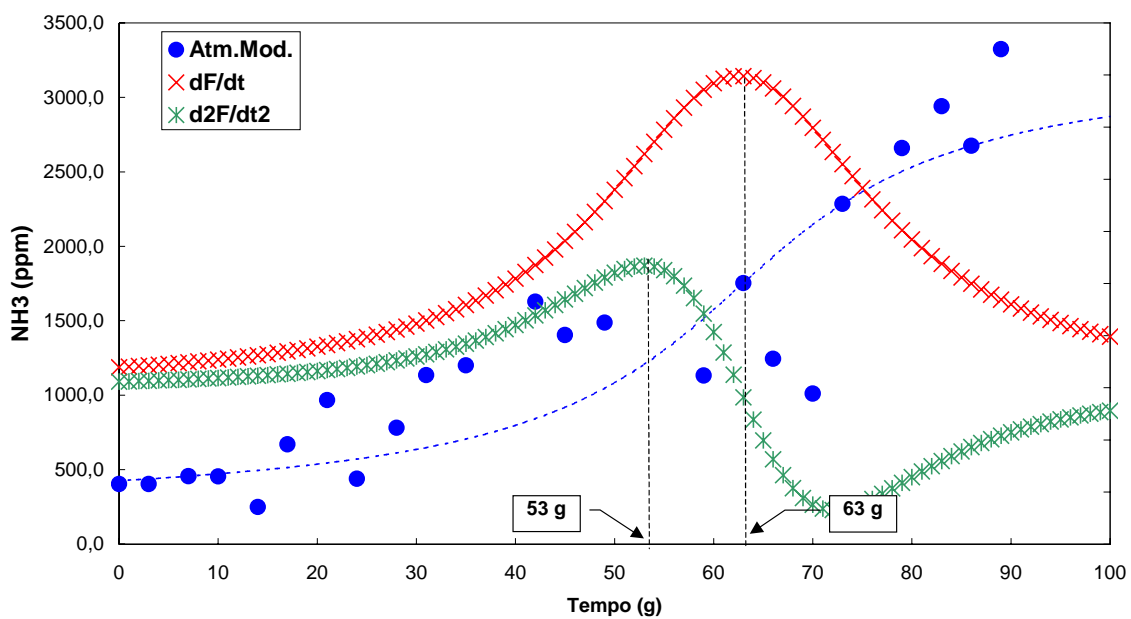


Figura 9: Parametrizzazione della cinetica di maturazione del formaggio confezionato in Atmosfera Modificata.

Dalle figure 8 e 9 si può rilevare come i campioni conservati in atmosfera modificata subiscano un netto rallentamento del processo evolutivo della frazione proteica, con un rilascio di ammoniaca libera nettamente inferiore per quanto concerne i campioni confezionati in atmosfera modificata.

In effetti nel formaggio confezionato in carta si raggiungono valori di ammoniaca libera superiori a 4000 ppm, nettamente superiori alle 3000 ppm rilevate nei campioni mantenuti in atmosfera modificata.

Inoltre i valori massimi, nei campioni in atmosfera modificata vengono raggiunti intorno ai 90 giorni di shelf life rispetto ai 60 giorni riscontrati nei prodotti confezionati in carta.

Risulta quindi evidente la positiva influenza del confezionamento in atmosfera modificata sul processo di shelf life del formaggio, con un espansione temporale della stessa di circa il 50%.

Tale andamento si è verificato sia in relazione alla massima accelerazione degli eventi degradativi (d^2F/dt^2), sia in relazione all'espressione della massima velocità degli eventi stessi (df/dt).

In effetti il punto di massima accelerazione del processo, corrispondente ad un criterio di shelf life prudenziale, si colloca per i campioni sottoposti a conservazione tradizionale intorno ai 20 giorni rispetto ai 53 giorni dei campioni conservati in atmosfera modificata.

Parimenti, il criterio tollerante di shelf life corrispondente alla massima velocità del processo si colloca a 33 giorni ed a 63 giorni rispettivamente.

L'analisi di questi due criteri permette anche di rilevare come il periodo di shelf life corrispondente allo stato di sovraturazione del formaggio, sia più ridotto nei campioni in atmosfera modificata, dove risulta quindi un tempo di shelf life più lungo ma contemporaneamente un più ridotto intervallo tra il criterio prudenziale e quello tollerante. Si può quindi concludere che la conservazione del formaggio a 10°C in atmosfera modificata consente una più lunga shelf life del prodotto alla vendita ma riduce l'intervallo corrispondente al periodo di sovraturazione .

CONCLUSIONI

La ricerca è stata finalizzata alla valutazione della shelf life di un formaggio italiano di grande pregio e inserito nell'insieme dei formaggi a Denominazione di Origine Protetta della Comunità Europea.

In un precedente lavoro, era stata individuata nell'ammoniaca libera la sostanza marker in grado di monitorare nel tempo, l'evoluzione del grado di degradazione della frazione proteica e quindi dell'evolversi delle condizioni di shelf life.

La prima fase della ricerca è stata volta all'individuazione delle condizioni ottimali di preparazione del campione per l'analisi, nonché della metodica analitica più favorevole all'individuazione del contenuto in ammoniaca libera.

L'insieme dei dati ottenuti ha permesso di abbreviare il tempo di preparazione del campione, accoppiando alla fase di filtrazione della soluzione da analizzare, una fase di centrifugazione della stessa.

Per quanto concerne la metodica analitica da utilizzare per il monitoraggio del contenuto in ammoniaca, il complesso dei dati ottenuti ha evidenziato come le due metodiche analitiche comunemente utilizzate forniscano dati del tutto comparabili e non significativamente differenti ($P \leq 0,05$) da quelli ottenuti con una nuova metodica analitica di tipo colorimetrico.

La metodica CDR inoltre è risultata nettamente più veloce ed economica rispetto sia alla metodica potenziometrica che alla metodica titrimetrica applicata al campione ottenuto per distillazione diretta.

Tale risultato è funzione tra l'altro sia dell'automazione dell'intero processo analitico, sia della possibilità di trattamento di più analiti contemporaneamente.

I dati analitici sono stati rilevati su campioni di formaggio conservati a 10°C, temperatura di conservazione usualmente riscontrata presso la grande distribuzione e presso il consumatore.

I campioni sono stati conservati sia in modo tradizionale in carta che in contenitori termoformati, in atmosfera modificata di azoto ed anidride carbonica in rapporto 1:1. L'insieme dei dati analitici è stato elaborato mediante modelli matematici al fine di valutare i punti di massimo delle derivate prime e seconde, corrispondenti alla

massima velocità e alla massima accelerazione dei processi di degradazione proteolitica.

Le figure 8 e 9 riassumono in forma grafica l'insieme dei risultati ottenuti, esplicitati in forma di tempo limite di conservazione, con particolare risalto del punto di massima accelerazione corrispondente al criterio di shelf life più "tollerante" e del punto di massima velocità corrispondente al criterio di shelf life più prudenziale.

In un precedente lavoro l'intervallo di shelf life compreso tra questi due indici era stato definito come il periodo di sovraturazione del formaggio.

Dai dati ottenuti in questa ricerca si è potuto rilevare come tale periodo risulti più limitato nel caso della conservazione dei campioni in atmosfera modificata a fronte di un tempo complessivo di shelf life nettamente più esteso, dell'ordine del 50% rispetto ai campioni conservati normalmente in carta.

La ricerca ha permesso quindi di concludere che la conservazione del formaggio in atmosfera modificata consente un'espansione della shelf life da 20 a 53 giorni per quanto concerne il criterio tollerante e da 33 a ben 63 giorni per il criterio prudenziale.