Università di Modena e Reggio Emilia

Dipartimento di Scienze della Vita

Corso di Laurea Magistrale in Controllo e Sicurezza degli Alimenti

Tesi di laurea sperimentale in

Validazione di modelli predittivi per la valutazione della shelf-life primaria e secondaria di grissini

Relatore: prof.ssa Patrizia Fava

Secondo Relatore: dott.ssa Francesca Masino

Correlatore: dott.ssa Emanuela Lo Faro

Secondo Correlatore: dott.ssa Alessandra Riggio

Laureanda: Martina Massaro

Matricola: 192875

Anno Accademico 2024/2025

A me stessa, per la costanza, la determinazione e il coraggio con cui ho affrontato questo percorso. Per aver creduto nei miei sogni, superato le sfide e celebrato ogni piccolo traguardo. Questo risultato è il frutto del mio impegno e della mia crescita.

Sommario

Abstract 1
Riassunto 2
1. Introduzione 1
1.1 Definizione di shelf-life 1
1.1.1 Fattori che influenzano la shelf life 3
1.2 Shelf life prodotto-dipendente e packaging-dipendente 4
1.2.1 Shelf life prodotto dipendente 5
1.2.2 Shelf life packaging dipendente 6
1.3 Ruolo dell'umidità nei prodotti da forno 11
1.3.1 Il grissino 13
1.4 Shelf life primaria e secondaria 15
1.4.1 Modelli predittivi per la stima della shelf life 15
1.4.2 Il modello dell'isoterma linearizzata di Labuza 17
1.4.3 Stima della shelf-life secondaria: approcci sperimentali e implicazioni 21
1.4.4 Prodotti sensibili agli scambi di umidità 27
2. Scopo dello studio 31
3. Materiali e metodi 32
3.1 Materiali 32
3.1.1 Grissini commerciali 32
3.1.2 Grissini sperimentali arricchiti con alghe 33
3.2 Metodi 34
3.2.1 Piano sperimentale e prove di shelf life 34
3.2.2 Variazione di peso 37
3.2.3 Determinazione della sostanza secca, contenuto umido e attività dell'acqua (aw) 38
3.2.4 Permeabilità al vapor d'acqua (WVTR) 40
3.2.5 Valutazione dei composti volatili mediante GC/MS-SPME 41
3.2.6 Prove meccaniche sui grissini commerciali 45
3.2.7 Analisi sensoriale dei grissini 46
3.2.8 Valutazione del colore dei grissini arricchiti con alghe: 52
3.2.9 Costruzione isoterme di sorzione 53
4. Risultati e discussioni 55
4.1 Shelf life primaria: grissini commerciali e sperimentali 55

4.1.1 Variazione di peso 55
4.1.2 Variazione aw 57
4.1.3 Variazione M ($gH2O/g\ s.s$) 59
4.1.4 Valutazione dei composti volatili 64
4.1.5 Prove meccaniche sui grissini commerciali 68
4.1.6 Valutazione del colore dei grissini sperimentali 70
4.1.7 Analisi sensoriali 75
4.2 Applicazione del modello di isoterma linearizzata di Labuza 78
4.2.1 Costruzione dell'isoterma di assorbimento 79
4.2.2 Determinazione della Water Vapor Transmission Rate (WVTR) 83
4.3 Shelf life secondaria: il caso dei grissini commerciali 86
4.3.1 Applicazione del modello di Dong Sun Lee 87
5. Conclusioni 93
6. Bibliografia 95

Abstract

Baked products, despite being characterized by a long shelf life due to their initially low moisture content, are subject to degradation phenomena that may compromise their quality and sensory acceptability. Breadsticks, in particular, require the preservation of crispness and crunchiness—attributes that are easily altered by moisture absorption and oxidative processes, especially under critical environmental conditions.

This experimental thesis aims to validate predictive models to estimate the primary shelf life (PSL) and secondary shelf life (SSL) of breadsticks produced by a local company in Reggio Emilia (RE), whose packaging consists of individual portions assembled into a secondary multipack. Assessing PSL is a common practice for food companies, also due to the need to indicate on the label the product's minimum durability date (TMC), which refers to the condition of a hermetically sealed package.

The PSL was evaluated using the model proposed by Labuza, which relates the evolution of a food's moisture content to the properties of its packaging, while also considering the influence of the food itself in determining the extent of moisture transfer from the external environment to the inside of the package. Once the original packaging is opened, its protective barrier is lost and the rate of product degradation increases. The SSL, which refers to the post-opening phase, was estimated by applying the predictive model of Dong Sun Lee. This model highlights how the minimum durability date indicated on the label may not reflect the product's actual residual stability, and allows the residual shelf life (SSL) to be estimated as a function of the time at which the package is opened.

The study employed accelerated shelf life testing (ASLT), simulating a tropical environment (38 °C, 90% RH) with eight observation points up to 78 days, monitoring chemical-physical, sensory, and mechanical parameters such as moisture content, water activity, weight variation, aroma profile, crispness, crunchiness, and rancidity. Instrumental data were compared with sensory tests conducted by a trained panel to identify critical acceptability thresholds. In parallel, the primary shelf life of experimental breadsticks enriched with algae (Limnospira platensis and Ulva lactuca) was investigated to evaluate the impact on product preservation.

The results demonstrate that the combined use of predictive models enables accurate estimation of both PSL and SSL, providing effective tools for managing the preservation of

bakery products sensitive to moisture transfer, for identifying the required level of product protection, and for assessing the impact of packaging material changes on both primary and secondary shelf life.

Riassunto

I prodotti da forno, pur caratterizzati da una lunga shelf life grazie al basso contenuto di umidità iniziale, sono soggetti a fenomeni di degradazione che possono comprometterne la qualità e l'accettabilità sensoriale. Tra questi, i grissini rappresentano un esempio significativo, essendo snack secchi molto apprezzati per la loro friabilità e croccantezza, qualità facilmente alterabili dall'assorbimento di umidità e dai processi ossidativi, soprattutto in condizioni ambientali critiche. La presente tesi sperimentale si propone di validare modelli predittivi per stimare la shelf life primaria (PSL) e secondaria (SSL) di grissini prodotti da un'azienda locale di Reggio Emilia, confezionati in monoporzioni e raggruppati in un multipack.

La valutazione della PSL è stata effettuata applicando il modello di isoterma di assorbimento dell'umidità sviluppato da Labuza, che descrive il comportamento igroscopico del prodotto in confezione integra, considerando l'efficacia protettiva del materiale di confezionamento nei confronti dell'umidità esterna e l'influenza del prodotto stesso nel determinare i trasferimenti di acqua dall'ambiente. La SSL, riferita alla fase post-apertura della confezione, è stata stimata attraverso il modello predittivo di Dong Sun Lee, progettato per calcolare la durata residua del prodotto una volta compromessa la barriera protettiva della confezione. Questo approccio ha permesso di evidenziare come il termine minimo di conservazione indicato in etichetta (TMC) possa non riflettere la reale stabilità residua del prodotto e come la protezione offerta dalla confezione originaria condizioni la velocità di degradazione post-apertura.

Lo studio sperimentale è stato condotto in condizioni accelerate (ASLT), simulando un ambiente tropicale tramite camere climatiche impostate a 38 °C e 90% di umidità relativa, con otto tempi di osservazione fino a 78 giorni. I campioni sono stati analizzati mediante indagini chimico-fisiche, sensoriali e meccaniche, monitorando parametri quali contenuto umido, attività dell'acqua, variazione di peso, profilo aromatico e marker di degradazione volatile. Sono state eseguite prove meccaniche di "flessione a tre punti" per valutare

friabilità, croccantezza e rancidità legate alla texture, confrontando i dati strumentali con i risultati di prove sensoriali condotte da un panel addestrato, allo scopo di identificare soglie critiche di accettabilità.

Parallelamente, è stata indagata la shelf life primaria di grissini sperimentali arricchiti con alghe, quali Limnospira platensis e Ulva lactuca, al fine di valutare l'impatto sull'umidità, sulla conservabilità e sulle proprietà sensoriali del prodotto.

I risultati dimostrano che l'uso combinato dei modelli predittivi consente una stima accurata della PSL e della SSL, fornendo strumenti efficaci per la gestione della conservazione dei prodotti da forno, per la protezione delle caratteristiche sensoriali, per la valutazione dell'influenza di eventuali modifiche dei materiali di confezionamento e per l'analisi dell'impatto di ingredienti funzionali sulla shelf life complessiva.

1. Introduzione

1.1 Definizione di shelf-life

La shelf-life degli alimenti confezionati rappresenta un tema di grande complessità e rilevanza, strettamente connesso sia alle esigenze di sicurezza alimentare sia a quelle commerciali e logistiche della filiera produttiva. Nonostante la sua importanza, essa è ancora oggetto di studi e presenta numerose lacune conoscitive, persino negli ambiti professionali più specializzati. La shelf-life, letteralmente "vita da scaffale", indica *il periodo di tempo durante il quale un prodotto alimentare, in specifiche condizioni di confezionamento, stoccaggio e distribuzione, mantiene caratteristiche qualitative, sensoriali, nutrizionali e igienico-sanitarie, considerate accettabili per la commercializzazione e il consumo* (Nicoli, 2012; Piergiovanni e Limbo, 2010).

Tale definizione, seppur apparentemente semplice, richiede un'analisi articolata delle molteplici variabili che influenzano la durata e la qualità di un alimento confezionato. Il decadimento qualitativo è un fenomeno inevitabile e progressivo, determinato da interazioni complesse tra prodotto, ambiente esterno e materiali di confezionamento. Pertanto, parlare di shelf-life in termini assoluti risulta ingannevole, se non si specificano le condizioni precise di misurazione e conservazione, come temperatura, umidità, esposizione alla luce, modalità di trasporto e distribuzione, nonché la stagionalità e le caratteristiche climatiche del luogo di stoccaggio (Piergiovanni e Limbo, 2010).

Un aspetto fondamentale nella definizione di shelf life è il concetto di "tollerabilità" del decadimento qualitativo, che sottolinea come la perdita di alcune caratteristiche sensoriali o merceologiche non coincida necessariamente con la perdita di croccantezza di prodotti secchi, alterazioni di colore o sapore, e il deterioramento del packaging, pur non rendendo un alimento incommestibile, ne compromettono la commerciabilità (Nicoli, 2012). Questo evidenzia come la shelf-life commerciale sia un concetto differente dalla vita reale del prodotto, e debba essere valutata sulla base di parametri sensoriali, nutrizionali e igienico-sanitari.

Il valore della shelf-life attesa è determinato da considerazioni di natura commerciale e di marketing tenendo conto dei comportamenti dei consumatori e delle esigenze logistiche della distribuzione. Essa rappresenta la durata minima richiesta affinché il prodotto sia competitivo sul mercato. Se questa durata non viene raggiunta, si rende necessario intervenire con misure di estensione della shelf-life, che possono riguardare l'ottimizzazione del packaging, la modifica della formulazione con l'impiego di additivi o conservanti, o l'adeguamento dei processi produttivi e logistici (Nicoli, 2012).

D'altra parte, la shelf-life ideale rappresenta la massima durata ottenibile con le migliori soluzioni tecniche e di packaging, senza vincoli di costo, e costituisce un obiettivo di progetto per la conservabilità del prodotto (Piergiovanni e Limbo, 2010).

La determinazione accurata della shelf-life è fondamentale anche per adempiere agli obblighi normativi imposti a livello europeo e internazionale. La legislazione prevede infatti l'apposizione di due tipi di date sulle confezioni alimentari: la "data di scadenza" (use-by date) o il "termine minimo di conservazione" (best-before date). La data di scadenza è prevista per prodotti rapidamente deperibili dal punto di vista microbiologico e che possono rappresentare un rischio per la salute, mentre il termine minimo di conservazione indica il periodo entro il quale il prodotto mantiene le sue proprietà qualitative e può essere consumato senza rischio (Piergiovanni e Limbo, 2010). La validità di queste indicazioni dipende da studi sperimentali rigorosi di shelf-life, che analizzano le modificazioni chimiche, sensoriali e microbiologiche del prodotto nel tempo.

Infine, è importante sottolineare come non sempre un'estensione della shelf-life sia auspicabile o necessaria. Per prodotti caratterizzati da freschezza e spesso percepiti dal consumatore come più 'naturali', una vita commerciale troppo lunga potrebbe alterarne l'identità e il valore percepito dal consumatore, influenzandone negativamente l'accettabilità. Tuttavia, anche in questi casi, gli studi di shelf-life sono strumenti indispensabili per ottimizzare il packaging, i processi produttivi e la logistica, contribuendo a migliorare l'efficienza e la sostenibilità complessiva della filiera (Piergiovanni e Limbo, 2010).

1.1.1 Fattori che influenzano la shelf life

La shelf-life di un alimento dipende da una molteplicità di fattori, che possono essere classificati in due grandi categorie: intrinseci ed estrinseci.

I fattori intrinseci sono legati alla natura compositiva, strutturale e biochimica dell'alimento. Tra questi rientrano l'attività dell'acqua (a_w), il pH, la composizione chimica con particolare attenzione alla presenza di lipidi insaturi, zuccheri riducenti, proteine e acidi organici, la presenza di enzimi endogeni, e la struttura fisica del prodotto e a fenomeni di degradazione di tipo chimico e biochimico, come l'ossidazione lipidica, la reazione di Maillard, l'imbrunimento enzimatico, la lipolisi e la proteolisi. Questi meccanismi, se non adeguatamente controllati, possono provocare alterazioni organolettiche, perdita di valore nutrizionale e, in alcuni casi, formazione di composti tossici rilevanti. Oltre a questi aspetti, anche la struttura fisica gioca un ruolo cruciale: alimenti eterogenei o contenenti sistemi colloidali possono andare incontro a fenomeni fisici come separazione di fase, sedimentazione, coalescenza o sineresi, compromettendo la stabilità del prodotto (Piergiovanni e Limbo, 2010; H. Sharma, 2020).

Per quanto riguarda, invece, *i fattori estrinseci,* questi comprendono tutte le condizioni esterne che influenzano direttamente o indirettamente il tasso con cui avvengono i processi di deterioramento. In questa categoria rientrano la temperatura, l'umidità relativa, la presenza di ossigeno e luce, oltre alle caratteristiche specifiche del packaging: il confezionamento assume un ruolo fondamentale (H. Sharma, 2020; Piergiovanni e Limbo, 2010).

Tali fattori interagiscono in modo dinamico tra loro, rendendo complessa la previsione e il controllo della vita commerciale di un prodotto. A questo proposito, la shelf-life può essere concettualmente rappresentata come una funzione che dipende da variabili appartenenti a tre domini principali: alimento (Fi), packaging (Pi) e ambiente (Ei), secondo la seguente relazione generale:

$$SL = f\ (Fi, Pi, Ei)$$

Dove:

- SL = shelf-life
- Fi = variabili intrinseche dell'alimento
- Pi = variabili del packaging

- Ei = variabili ambientali

Sebbene questa espressione non consenta una quantificazione diretta, risulta utile per visualizzare l'interconnessione tra i diversi fattori e la loro influenza sinergica sulla stabilità del prodotto. Per esempio, condizioni ambientali sfavorevoli, come una temperatura elevata o l'esposizione alla luce, possono indurre reazioni chimiche o microbiche facilitate da parametri intrinseci, come un'alta a_w o un pH neutro (Piergiovanni e Limbo, 2010).

Allo stesso modo, il confezionamento non agisce unicamente come barriera fisica, ma svolge un ruolo attivo nella modulazione del microambiente interno alla confezione, alterando la disponibilità di ossigeno, l'umidità interna e l'esposizione alla luce. Le proprietà del materiale impiegato (barriera ai gas, trasparenza, inerzia chimica, resistenza meccanica) influenzano dunque direttamente le modalità di decadimento del prodotto, interagendo con le variabili ambientali e le caratteristiche dell'alimento stesso.

È fondamentale sottolineare che ogni alimento presenta una propria dinamica di degradazione qualitativa, la quale può essere lineare o non lineare nel tempo, in funzione delle condizioni di conservazione e delle tecnologie di processo e confezionamento adottate. In quest'ottica, l'adozione di strategie di estensione della shelf-life deve necessariamente basarsi su una conoscenza approfondita dei meccanismi di deterioramento e sull'identificazione degli indici di qualità (Indices of Failure, IOF) più adatti al caso specifico, in quanto rappresentano i parametri critici oltre i quali il prodotto non può più essere considerato commercialmente accettabile (Piergiovanni e Limbo, 2010).

1.2 Shelf life prodotto-dipendente e packaging-dipendente

La shelf-life di un alimento può essere considerata il risultato di un equilibrio dinamico tra fattori intrinseci, ambientali e, soprattutto, tra le caratteristiche del prodotto stesso e le proprietà del sistema di confezionamento. In tal senso, si parla di *shelf life prodotto-dipendente* quando la durata della conservazione è governata principalmente dalle caratteristiche compositive, strutturali e reattive del prodotto, mentre si parla di *shelf life packaging-dipendente* quando è il sistema di imballaggio

a svolgere un ruolo attivo determinante nel rallentare i processi di deterioramento (Robertson, 2009; Piergiovanni e Limbo, 2010).

1.2.1 Shelf life prodotto dipendente

Si tratta di alimenti confezionati in imballaggi a bassa (se non nulla) permeabilità ai gas, ai vapori e trasmissione della luce, che non interferiscono direttamente con la dinamica dei fenomeni di degradazione. In queste condizioni, i meccanismi di deterioramento dipendono quasi esclusivamente da fattori interni al prodotto, come l'attività dell'acqua, la composizione chimica o la presenza di enzimi endogeni. Tuttavia, tra le variabili ambientali, la temperatura rappresenta un'eccezione importante: essa ha quasi sempre la capacità di influenzare la velocità dei processi di decadimento, anche quando il confezionamento limita drasticamente gli scambi con l'esterno (Piergiovanni e Limbo, 2010).

Per queste categorie di alimenti, che comprendono tipicamente le conserve alimentari a lunga conservabilità, è possibile applicare modelli di previsione della shelf-life basati sulla cinetica chimica dei processi di deterioramento, sfruttando la relazione tra il tempo e la variazione di uno o più indici di qualità. La formula generale della velocità di decadimento di un indice di qualità "Q" nel tempo "t" è data da:

$$\frac{dQ}{dt} = \pm KQ^n$$

Dove:

- Q è l'indice di qualità misurabile
- t è il tempo
- K è la costante di velocità
- n è l'ordine di reazione (0, 1, 2 o frazionario).

A seconda del valore dell'esponente "n", si distinguono le seguenti cinetiche:

- *Cinetica di ordine zero (n = 0)*: la velocità di variazione di Q è costante nel tempo e indipendente dal valore assunto da Q stesso. In questo caso, la shelf-life può essere calcolata secondo la relazione:

$$t_{sl} = \frac{Q_i - Q_{min}}{K}$$

Dove Q_i è il valore iniziale dell'indice di qualità (tipicamente espresso come 100%) e Q_{min} è il valore soglia oltre il quale il prodotto non è più accettabile. La costante K si ottiene dalla pendenza della retta che rappresenta il decadimento dell'indice Q nel tempo.

- *Cinetica di primo ordine (n = 1):* la velocità di decadimento dipende proporzionalmente dal valore istantaneo di Q. L'andamento è di tipo esponenziale decrescente, con una diminuzione rapida all'inizio e più lenta nel tempo. L'espressione della shelf life, linearizzando l'equazione nel dominio logaritmico è:

$$t_{sl} = \ln\left(\frac{Q_i/Q_{min}}{K'}\right)$$

Dove K' è la costante di velocità specifica (con unità t^{-1}), e i termini logaritmici si ricavano sperimentalmente attraverso interpolazione di dati misurati nel tempo (Robertson, 2009; Piergiovanni e Limbo, 2010).

1.2.2 Shelf life packaging dipendente

La shelf life packaging-dipendente riguarda quei casi in cui il mantenimento della qualità alimentare è fortemente influenzato dalle proprietà specifiche dell'imballaggio, in particolare dai fenomeni di permeazione di gas e vapori attraverso i materiali di confezionamento. Tra le molte proprietà che possono influire sulla shelf-life, qui ci concentriamo sui fenomeni diffusionali di permeazione, poiché sono quelli che più frequentemente causano modificazioni rilevanti nel prodotto confezionato (Robertson, 2009; Piergiovanni e Limbo, 2010).
Il modello base per descrivere il trasferimento di massa di un gas o di un vapore attraverso una superficie permeabile è espresso dall'equazione:

$$\frac{dW}{dt} = \frac{K_p \cdot A}{l}(P_{out} - P_{in})$$

Dove:

- $\frac{dW}{dt}$ è la variazione della quantità di gas o vapore all'interno della confezione nell'unità di tempo
- K_p è la costante di permeabilità del materiale
- A è la superficie permeabile
- l è lo spessore del materiale
- P_{out} *e* P_{in} sono le pressioni parziali del permeante rispettivamente all'esterno e all'interno della confezione.

Questa equazione descrive come la quantità di gas o vapore passa nel tempo dipenda dalla differenza di pressione parziale, che rappresenta la forza motrice del fenomeno diffusivo.

A differenza di un sistema ideale in cui questa differenza rimane costante, nei casi reali di shelf life packaging-dipendente la pressione parziale interna P_{in} varia nel tempo. Questo perché il permeante può essere consumato dal prodotto (ad esempio l'ossigeno utilizzato nei processi di ossidazione) oppure assorbito (come il vapor d'acqua). Pertanto, la forza motrice si modifica nel tempo, diminuendo fino ad annullarsi, rendendo necessario utilizzare modelli dinamici che considerino questo accumulo o consumo (Piergiovanni e Limbo, 2010).

Per determinare la shelf-life, si confronta la quantità di permeante accumulata con un valore critico, cioè la quantità massima tollerata prima che il prodotto manifesti un deterioramento accettabile o che la qualità venga compromessa (Robertson, 2009).

Nel caso dell'*ossigeno*, la pressione parziale esterna è generalmente considerata, poiché l'ossigeno è presente in atmosfera in misura fissa, circa il 20,9 % in volume. A livello del mare, ciò corrisponde ad una pressione parziale P_{out} di 0,2117 bar, considerata costante anche in vari contesti di conservazione. La pressione parziale del *vapor d'acqua* dipende fortemente dall'*umidità relativa* e dalla *temperatura ambientale,* variando ampiamente a seconda delle condizioni di conservazione. Ad

esempio, a 5 °C la pressione del vapor d'acqua saturo è circa 9 mbar, mentre a 30 °C può raggiungere 42 mbar, con effetti esponenziali al crescere della temperatura. Questo rende indispensabile conoscere e considerare accuratamente il valore di P_{out} del vapor d'acqua nel calcolo della shelf-life.

Un aspetto importante riguarda *i valori limite o livelli critici* di permeante che indicano la fine della vita commerciale. Le variazioni di umidità che provocano deterioramento della qualità si misurano in percentuali di contenuto d'acqua, spesso con un aumento di pochi punti percentuali (ad es. dal 5% all'8-10% per prodotti da forno), facilmente quantificabili; al contrario, le quantità di *ossigeno* sono molte più basse, nell'ordine di ppm o µg per grammo di prodotto, e quindi la loro misurazione risulta più complessa e imprecisa (Robertson, 2009; Piergiovanni e Limbo, 2010).

Infine, i materiali di confezionamento devono essere scelti in base alle loro proprietà barriera. Le permeabilità all'ossigeno e al vapor d'acqua sono spesso inversamente correlate: un materiale che garantisce una buona barriera all'ossigeno tende ad essere meno efficace contro il vapor d'acqua, e viceversa. Inoltre, materiali barriera per l'ossigeno come EVOH o PVDC sono costosi e possono presentare problematiche come la sensibilità all'umidità o potenziali effetti tossici dei monomeri residui, mentre *poliolefine comuni* sono ottime barriere al vapor d'acqua, ma meno efficaci contro l'ossigeno. Questa dinamica rende complessa la scelta del packaging ottimale in funzione delle caratteristiche del prodotto e delle condizioni di conservazione (Piergiovanni e Limbo, 2010).

1.2.2.1 Ruolo del packaging

Come anticipato, il packaging non si limita ad una funzione contenitiva, ma svolge un ruolo fondamentale nella protezione e nella conservazione dei prodotti alimentari, agendo come un sistema tecnologico avanzato.

Le proprietà barriera dei materiali impiegati, nonché l'adozione di tecnologie di confezionamento avanzate (come l'atmosfera modificata o il sottovuoto), rivestono un ruolo chiave nel controllo della diffusione dei gas, nel mantenimento del grado di umidità interno e nella limitazione delle reazioni ossidative influenzate, ad esempio, dall'aumento della temperatura può raddoppiare la velocità di molte

reazioni chimiche ogni 10°C, mentre l'umidità ambientale può influenzare il contenuto d'acqua dell'alimento, alterando consistenza, croccantezza e stabilità microbiologica. Il ruolo della luce, in particolare nella foto-ossidazione, e la presenza di metalli catalitici possono innescare fenomeni di irrancidimento ossidativo in prodotti ricchi di lipidi, come snack, frutta secca o prodotti da forno (H. Sharma, 2020). A ciò si aggiungono aspetti legati alla funzionalità complessiva del packaging, come la resistenza meccanica, la trasparenza, la capacità di isolamento dagli odori e la "compatibilità chimica" con il contenuto: il contatto diretto tra alimento e materiale di imballaggio può infatti dar luogo a fenomeni di migrazione di composti a basso peso molecolare, potenzialmente indesiderati, i quali possono compromettere la sicurezza alimentare e alterare negativamente la qualità sensoriale del prodotto, accelerando i processi degradativi o reazioni chimiche (es. ossidazione lipidica, assorbimento di aromi estranei o rilascio di composti volatili da parte dei film). Questi fenomeni si sommano alle problematiche legate alla permeazione selettiva di gas e vapori: nel contesto dell'imballaggio alimentare, la trasmissione selettiva dei gas e del vapore acqueo attraverso i materiali, rappresenta un parametro fondamentale per garantire l'estensione della shelf-life del prodotto confezionato. In condizioni ideali di stato stazionario e per i materiali omogenei, la permeabilità di un polimero può essere definita secondo l'equazione:

$$P = D \cdot S$$

Dove *D* è il coefficiente di diffusione e *S* il coefficiente di solubilità del permeante all'interno del materiale. Tuttavia, nella pratica, tale approccio risulta semplificato: numerosi materiali plastici, infatti, presentano comportamenti non ideali, soprattutto in presenza di permeanti come il vapore acqueo, che interagiscono fortemente con materiali idrofili quali i copolimeri di etilene-vinil-alcol (EVOH) o alcune poliammidi (PA) (Robertson, 2009).

In questi casi, sia *D* che *S* diventano funzione della concentrazione, e l'approccio classico perde validità.

Per tenere conto di tali deviazioni, si introduce il concetto di *tasso di trasmissione* (Transmission Rate, TR), definito come:

$$TR = \frac{Q}{A \cdot t}$$

Dove Q è la quantità di permeante che attraversa il materiale, A la superficie del campione e t il tempo. Quando il permeante in questione è il vapore acqueo, si parla di *Water Vapor Transmission Rate* (WVTR); nel caso di gas, si utilizzano termini come *Gas Transmission Rate* (GTR) o, più specificamente per l'ossigeno, *Oxygen Transmission Rate* (OTR). Questi parametri vengono espressi generalmente in $g\ m^{-2} giorno^{-1}$ (per WVTR) o mL $m^{-2} giorno^{-1}$ (per OTR), spesso normalizzati a condizioni standard di temperatura, umidità relativa e spessore (Robertson, 2009). La misurazione di OTR viene effettuata mediante strumenti specifici, ad esempio quelli prodotti da MoCon, i quali pongono ossigeno puro (1 atm) da un lato del materiale e un gas inerte (es. azoto) dall'altro. Tuttavia, in condizioni normali, l'ossigeno è presente nell'aria al 21%, quindi la differenza di pressione parziale (Δp) attraverso l'imballaggio è di 0,21 atm (pari a circa 16 cmHg). Pertanto, per ottenere valori di OTR realistici, si moltiplica il valore misurato in mL $m^{-2} giorno^{-1} atm^{-1}$ per 0,21. In alternativa, si può convertire l'OTR in permeabilità tramite la relazione:

$$P = \frac{OTR \cdot spessore}{\Delta p}$$

Analogamente, per il vapor acqueo, il WVTR viene impiegato per esprimere la velocità con cui l'umidità attraversa un materiale. Questo parametro è fortemente influenzato da temperatura, umidità relativa e spessore del film. Film a bassa barriera come il polietilene ad alta densità (HDPE) mostrano WVTR compresi tra 4,7 e 7,8 g/$m^2 \cdot giorno$, mentre i materiali come il PET orientato (OPET) presentano valori più contenuti, sebbene non possano essere considerati ad alta barriera nei confronti del vapore acqueo. Al contrario, l'EVOH a basso contenuto di etilene, pur essendo un eccellente barriera ai gas in condizioni di bassa umidità relativa, non offre una barriera significativa al vapor d'acqua, poiché la sua permeabilità aumenta drasticamente con l'aumentare dell'umidità relativa, a causa del rigonfiamento della matrice polimerica e dell'aumento della mobilità molecolare (Robertson, 2009).

Per confrontare WVTR tra materiali diversi, è indispensabile conoscere le condizioni di misura, generalmente standardizzate a 38 °C e 90% UR (ASTM F1249) o a 23 °C e 50% UR (ASTM E96). In molti casi, viene anche normalizzato rispetto allo spessore, e allora si parla più correttamente di *flusso normalizzato rispetto allo spessore (*Thickness Normalized Flux, TNF), così da rendere comparabili film con diverso spessore o con geometrie differenti.

A tal proposito, il rapporto *superficie: volume* (S/V) dell'imballaggio è un ulteriore fattore critico per la shelf-life. A parità di volume contenuto, un contenitore asimmetrico o con una maggiore superficie esposta favorisce una maggiore permeazione di gas e umidità, richiedendo dunque l'impiego di materiali plastici con caratteristiche barriera superiori. Ad esempio, una forma rettangolare sottile può presentare una superficie superiore del 246% rispetto ad una sfera di pari volume, comportando un aumento proporzionale della quantità di O_2 *e* H_2O che permea attraverso le pareti. Ciò spiega perché i formati monoporzione tendano ad avere shelf-life inferiori, a meno che non vengano adottati materiali barriera più performanti.

Per la scelta di un materiale idoneo al confezionamento alimentare, è essenziale valutare non solo la *permeabilità intrinseca* (P), ma anche i valori di TR, OTR, WVTR, considerando le condizioni reali di temperatura, umidità o geometria dell'imballaggio. Solo così è possibile prevedere correttamente il comportamento del materiale nel tempo e progettare un packaging in grado di preservare qualità e sicurezza alimentare fino alla fine della shelf-life dichiarata (Robertson, 2009).

1.3 Ruolo dell'umidità nei prodotti da forno

La qualità dei prodotti da forno è una proprietà dinamica e multifattoriale, strettamente connessa alla loro struttura, composizione e capacità di resistere al deterioramento durante la conservazione. La perdita di qualità nel tempo, connessa a modificazioni chimiche, fisiche, sensoriali e microbiologiche, è strettamente correlata alla *variabile critica dell'umidità*, sia in termini di *contenuto d'acqua* che di *attività dell'acqua* (a_w). In particolare, questi prodotti risultano fortemente igroscopici e tendono ad assorbire umidità dall'ambiente,

compromettendo in modo significativo texture, croccantezza e stabilità microbiologica.

La *shelf life*, definita come il periodo in cui l'alimento mantiene caratteristiche di sicurezza, qualità sensoriale e stabilità compositiva accettabili se conservato in condizioni adeguate, risulta quindi fortemente dipendente da parametri ambientali e intrinseci (Kilcast e Subramaniam, 2000; Robertson, 2009). Tra i principali fattori che influenzano la conservabilità dei prodotti da forno si annoverano: la *formulazione*, le *condizioni di processo*, *l'attività dell'acqua*, il *pH*, la *presenza di ossigeno e nutrienti*, il *confezionamento*, l'uso di *conservanti*, e soprattutto le *condizioni di stoccaggio* con particolare riferimento alla *temperatura* e *all'umidità relativa ambientale* (Cauvain e Young, 2007; Steele, 2004).

Il contenuto di acqua e l'attività dell'acqua giocano un ruolo centrale nel determinare la velocità dei fenomeni di deterioramento, influenzando l'andamento di reazioni chimiche (es. ossidazione lipidica), processi fisici (es. retrogradazione dell'amido) e la crescita microbica. Per tale ragione, la riduzione dell'umidità disponibile rappresenta una strategia chiave per il prolungamento della shelf life, ottenibile attraverso riformulazioni specifiche (es. riduzione di ingredienti umidi o impiego di sostanze igroscopiche) o mediante l'aggiunta di additivi con azione conservante. Tra questi, i propionati (di calcio o sodio) sono ampiamente impiegati nei prodotti da forno lievitati, grazie alla loro efficacia antimicotica e alla compatibilità con l'attività del lievito. L'acido sorbico e i suoi sali sono ugualmente efficaci, soprattutto in ambiente acido, mentre l'etanolo e i diacetati rappresentano opzioni per il controllo microbiologico anche attraverso il confezionamento attivo.

L'effetto dell'umidità non si limita però all'aspetto microbiologico: anche le caratteristiche sensoriali e fisico-meccaniche, come la *friabilità* e la *resistenza alla rottura*, sono compromesse dall'assorbimento dell'umidità. Prodotti da forno secchi e croccanti, presentano un'attività dell'acqua inizialmente molto bassa (valori pari a circa 0.1-0.2), condizione che garantisce elevata stabilità se mantenuta nel tempo. Tuttavia, in ambienti a elevata umidità relativa (come quelli tropicali), anche una leggera permeabilità del packaging può favorire l'assorbimento di umidità, innescando fenomeni di perdita di croccantezza, sviluppo di off-flavours e alterazioni della texture.

Il controllo dell'umidità ambientale e la scelta di sistemi di confezionamento idonei rivestono un ruolo cruciale nella prevenzione del decadimento qualitativo. Tecnologie come l'uso di film barriera, packaging attivo e modifiche dell'atmosfera contribuiscono al mantenimento delle proprietà originarie del prodotto. Tra le soluzioni più avanzate si segnalano sistemi basati su incorporazione di antimicrobici naturali (oli essenziali, peptidi antimicrobici) direttamente nel materiale di confezionamento, nonché l'adozione di film a base di biopolimeri funzionalizzati.

Anche la temperatura di conservazione influisce fortemente sul comportamento igroscopico e sulle reazioni degradative dei prodotti da forno. In generale, una riduzione della temperatura rallenta i processi chimici e microbiologici, rendendo più stabile il prodotto. Nel caso dei prodotti secchi, la gestione della temperatura deve essere bilanciata, poiché a basse temperature può verificarsi la condensazione di umidità all'interno del packaging, compromettendo ulteriormente la stabilità del prodotto.

Pertanto, nella valutazione della shelf life è fondamentale considerare l'interazione tra il prodotto alimentare e l'ambiente esterno. Prodotti da forno altamente sensibili all'umidità richiedono test accurati di conservabilità che tengano conto della loro esposizione post-apertura, ovvero in condizioni di *shelf life secondaria* (Robertson et al, 2009).

1.3.1 Il grissino

Tra i prodotti da forno a ridotto tenore di umidità, *il grissino* si distingue per la sua peculiare struttura sottile e croccante, derivante da una formulazione essenziale composta da farina di frumento, acqua, lievito, sale e una componente lipidica, spesso costituita da olio vegetale ad elevato grado di insaturazione, come l'olio di girasole. La cottura prolungata a temperature elevate, unita alla bassa idratazione dell'impasto, conferisce al prodotto finito un'umidità residua generalmente inferiore al 10% e valori di attività dell'acqua (a_w) tipicamente ben inferiori a 0,60, condizioni che limitano efficacemente la proliferazione microbica e rallentano i principali processi di deterioramento chimico e fisico (Cannas et al., 2024). Tali

caratteristiche lo rendono un alimento intrinsecamente stabile dal punto di vista igienico-sanitario e con una shelf-life estesa in condizioni di stoccaggio ambientale, rappresentano un modello tecnologico di riferimento per la categoria dei prodotti da forno secchi (Alamprese et al., 2017).

Sebbene la stabilità microbiologica sia garantita da bassi valori di umidità e a_w, anche modeste variazioni del contenuto d'acqua possono avere un impatto significativo sulla struttura del grissino. L'umidità residua, infatti, interagisce direttamente con la "rete amido-glutine" e con la frazione lipidica, influenzando le proprietà meccaniche e sensoriali del prodotto. In particolare, differenze anche lievi del contenuto umido possono determinare variazioni nella durezza (hardness), nella friabilità (brittleness) e nella croccantezza percepita, tutte proprietà che concorrono alla qualità edonistica del prodotto (Cannas et al., 2024; Bacenetti et al., 2018). È stato dimostrato, ad esempio, che un aumento dell'umidità nel range del 9-13% nei grissini può ridurre significativamente la forza necessaria alla frattura meccanica, con conseguente diminuzione della durezza e incremento della deformabilità prima della rottura, cioè della friabilità (Cannas et al., 2024). Tale comportamento è compatibile con la transizione della struttura del prodotto da uno stato vetroso ad uno più gommoso, favorita dall'assorbimento di umidità da parte delle componenti polisaccaridiche, come l'amido gelatinizzato o eventuali fibre solubili presenti nella matrice (Ktenioudaki et al., 2012).

Questa relazione tra contenuto d'acqua e struttura è ulteriormente confermata da evidenze statistiche. Nello studio di Cannas et al. (2024), una correlazione positiva altamente significativa ($r = 0,806$; $p < 0,001$) è stata rilevata tra contenuto umido e friabilità, suggerendo che l'acqua residua, pur in piccole quantità, agisca da "plastificante" all'interno della matrice, interferendo con le interazioni intermolecolari e rendendo la struttura più flessibile e meno resistente alla frattura. Inoltre, la stessa umidità può influenzare indirettamente la percezione sensoriale della croccantezza, determinando un diverso profilo acustico e meccanico al momento del morso (Bianchi et al., 2021). Questi aspetti assumono particolare rilievo non solo per la definizione della qualità del prodotto, ma anche per la stabilità durante la conservazione, dal momento che variazioni di umidità possono

derivare da scambi con l'ambiente esterno in funzione della permeabilità del packaging e delle condizioni igrometriche di stoccaggio (Alamprese et al., 2017).
Alla luce di ciò, il grissino può essere considerato un sistema alimentare modello in cui l'umidità, pur presente in quantità limitata, esercita un effetto modulante cruciale sulla struttura meccanica e sulle proprietà sensoriali. La semplicità della ricetta e l'elevata riproducibilità lo rendono una matrice ideale per studi sperimentali volti a comprendere l'impatto delle interazioni igroscopiche tra ingredienti, umidità e struttura fisica nei prodotti da forno a bassa a_w, contribuendo così all'ottimizzazione della qualità e della shelf-life attraverso strategie tecnologiche mirate.

1.4 Shelf life primaria e secondaria

La *shelf-life primaria* (PSL) si riferisce al periodo in cui il prodotto confezionato mantiene tali caratteristiche in condizioni standard di conservazione, mentre la *shelf-life secondaria* (SSL) (o domestica), indica la durata residua del prodotto una volta aperto il packaging. Il confronto tra queste due durate consente di quantificare l'efficacia protettiva del packaging, un aspetto cruciale per la formulazione di strategie di estensione della conservabilità. Infatti, il rapporto tra shelf-life primaria e secondaria può variare notevolmente, il che evidenzia l'importanza del confezionamento non solo per mantenere il prodotto durante la distribuzione ma anche per garantirne la sicurezza e la qualità fino al consumo domestico (Piergiovanni e Limbo, 2010).

1.4.1 Modelli predittivi per la stima della shelf life

La determinazione della shelf-life di un alimento, come già anticipato, rappresenta un momento cruciale nella definizione della sua qualità globale, sicurezza e accettabilità (Piergiovanni e Limbo, 2010). Poiché la degradazione qualitativa può avvenire attraverso molteplici vie – chimiche, fisiche, microbiologiche – la previsione della durata di vita commerciale di un prodotto deve necessariamente poggiare su modelli predittivi che ne descrivano l'evoluzione nel tempo, in relazione a variabili ambientali e intrinseche. In questo contesto, l'attività dell'acqua (a_w),

intesa come “disponibilità di acqua nell’alimento”, assume un ruolo centrale, sia come parametro di riferimento per la crescita microbica e l’innesco di reazioni chimico-fisiche, sia come forza motrice degli scambi di umidità con l’ambiente esterno (Piergiovanni e Limbo, 2010).

Quando un alimento è confezionato in un materiale permeabile, l’umidità presente nel prodotto tende a redistribuirsi tra il microambiente interno alla confezione e il microambiente esterno, finché non si raggiunge una condizione di equilibrio. Tale scambio può determinare fenomeni di essiccamento o, al contrario, di idratazione del prodotto, con impatti diretti sulla sua stabilità. Come evidenziato da numerosi studi, ogni alimento tende verso una propria umidità relativa di equilibrio (ERH), legata in maniera univoca alla sua composizione, struttura fisica e presenza di soluti, indipendentemente dal contenuto assoluto di acqua (Piergiovanni e Limbo, 2010).

L’attività dell’acqua è dunque l’analogo igrometrico della temperatura nei processi termodinamici: come non è la quantità di calore a determinare lo scambio termico, bensì la differenza di temperatura, allo stesso modo non è il contenuto d’acqua in sé a governare gli scambi, bensì l’a_w. La relazione tra contenuto umido e attività dell’acqua è descritta da curve caratteristiche per ciascun alimento, dette “isoterme di adsorbimento” o “desorbimento”. Queste curve, non lineari e spesso di tipo sigmoidale, rappresentano la base per “modellizzare” il comportamento del prodotto nei confronti dell’umidità ambientale (Piergiovanni e Limbo, 2010).

Nel caso di imballaggi permeabili al vapore acqueo, il gradiente tra la pressione di vapore all’interno della confezione (determinata dall’a_w del prodotto) e quella esterna costituisce la forza motrice per il flusso d’acqua. Tale flusso può essere descritto attraverso equazioni di bilancio di massa che tengono conto delle proprietà del materiale di confezionamento, in particolare della sua permeabilità al vapore acqueo, dello spessore, della superficie esposta e della differenza di attività dell’acqua tra interno ed esterno. Tuttavia, poiché l’attività dell’acqua interna (Aw_{in}) non è costante nel tempo – ma decresce/aumenta man mano che il prodotto si disidrata/idrata – è necessario introdurre un modello matematico che esprima Aw come funzione del contenuto umido (m), ovvero l’isoterma del prodotto (Piergiovanni e Limbo, 2010).

Questa funzione "$m = f(Aw)$" o, in forma inversa "$Aw = f(m)$", rappresenta il cuore dei modelli predittivi della shelf-life legati all'umidità. Attraverso l'integrazione di queste funzioni nei bilanci di massa si possono costruire modelli differenziali in grado di prevedere, nel tempo, la variazione del contenuto umido e quindi l'evoluzione di Aw, parametro chiave per la stabilità microbica e chimica dell'alimento (Piergiovanni e Limbo, 2010).

Tali approcci trovano applicazione concreta nella previsione della durata di conservazione di prodotti secchi da forno, disidratati o comunque sensibili agli scambi igrometrici, e permettono, tramite simulazione, di valutare l'effetto di diverse condizioni ambientali o materiali di confezionamento. Uno dei modelli più noti e utilizzati in questo ambito è il modello di Labuza (1970), che consente di stimare la shelf-life di un prodotto alimentare in funzione della permeabilità del packaging e dell'isoterma del prodotto, combinando in modo elegante aspetti termodinamici e cinetici (Piergiovanni e Limbo,2010).

Questo modello, che sarà oggetto del paragrafo seguente, rappresenta un punto di riferimento nella progettazione razionale del sistema imballaggio-prodotto, soprattutto quando si voglia garantire la conservazione della qualità nel tempo minimizzando gli sprechi e ottimizzando le risorse.

1.4.2 Il modello dell'isoterma linearizzata di Labuza

Nel presente capitolo si approfondisce *il modello dell'isoterma linearizzata di Labuza* (1970), con l'obiettivo di descrivere quantitativamente il fenomeno di trasferimento di umidità tra l'alimento e il microambiente interno alla confezione durante la conservazione. Tale approccio trova impiego negli studi di shelf-life dei prodotti alimentari confezionati, in quanto permette di stimare il tempo critico entro il quale un alimento subisce una variazione indesiderata del contenuto umido, compromettendo le caratteristiche qualitative e/o la sicurezza del prodotto.

Il presupposto fondamentale alla base del modello è che l'attività dell'acqua (a_w) del prodotto sia sempre in equilibrio con l'umidità relativa dell'ambiente interno alla confezione. Ciò equivale ad assumere che i fenomeni di scambio di umidità avvengano con una rapidità tale da garantire il costante equilibrio tra prodotto e l'aria interna del packaging (Labuza, 1970).

Il parametro fondamentale è quindi l'a_w, definito come "rapporto tra la tensione di vapore dell'acqua contenuta nel prodotto (*WVP*) e la tensione di vapore dell'acqua pura (WVP_0) alla medesima temperatura:

$$a_w = \frac{WVP}{WVP_0}$$

Poiché WVP_0 può considerarsi costante in condizioni isoterme (assenza di variazioni di temperatura significative), l'attività dell'acqua risulta direttamente proporzionale alla WVP del prodotto (Labuza, 1970; Piergiovanni e Limbo, 2010).
Il trasferimento di umidità attraverso le pareti del packaging può essere descritto dalla legge di Fick, modificata per tenere conto della permeazione del vapore d'acqua. In regime di desorbimento (perdita di umidità dall'interno verso l'esterno), la quantità di vapore d'acqua che permea in un intervallo di tempo è proporzionale al gradiente di pressione di vapore tra interno ed esterno:

$$\frac{dW_{H_2O}}{dt} = -\frac{K_{PH_2O} \cdot A}{l} \cdot (WVP_{in} - WVP_{out})$$

Dove:

- dW_{H_2O} è la variazione della quantità di acqua nel tempo (g/24h)
- K_{PH_2O} è il coefficiente di permeabilità al vapore d'acqua del materiale (g· $\mu m \cdot m^{-2} \cdot 24h^{-1} \cdot bar^{-1}$)
- l è lo spessore della parete dell'imballaggio (µm)
- WVP_{in} è la tensione di vapore interna (bar)
- WVP_{out} è la tensione di vapore esterna (bar)

Poiché l'interesse pratico riguarda la variazione del contenuto umido del prodotto (m, espresso come g H_2O/g sostanza secca), l'equazione può essere normalizzata rispetto al peso secco W_s, ottenendo:

$$\frac{dm}{dt} = -\frac{K_{PH_2O} \cdot A}{l \cdot W_s} \cdot (WVP_{in} - WVP_{out})$$

Sostituendo WVP = Aw · WVP_0, otteniamo:

$$\frac{dm}{dt} = -\frac{K_{PH_2O} \cdot A \cdot WVP_0}{l \cdot W_s} \cdot (A_{w,in} - A_{w,out})$$

Durante il processo di desorbimento $A_{w,in}$ diminuisce gradualmente, in quanto dipende dal contenuto umido del prodotto. Di conseguenza, la forza motrice del trasferimento non è costante. Per descrivere tale dipendenza, si introduce un'isoterma di desorbimento che relazione direttamente m e a_w (Labuza, 1970; Piergiovanni e Limbo, 2010).

Il termine $Po\ (a_{wout}\text{- }a_{win})$ definisce la "forza motrice" della permeazione, data dal valore massimo di tensione di vapore dell'acqua (Po) a una data temperatura moltiplicata per la differenza tra l'attività dell'acqua (ovvero l'umidità relativa) nell'ambiente esterno e quella all'interno della confezione. Mentre la prima rimane costante (a temperatura costante, in una camera climatica a esempio), la seconda tende a variare nel tempo, aumentando mano a mano che l'alimento assorbe il vapor d'acqua permeato; da questa condizione deriva che la forza motrice della permeazione *è variabile e tende a diminuire nel tempo*. La variazione di a_w corrispondente alla variazione di M (contenuto umido) è descrivibile *di adsorbimento* dello specifico alimento. Per prodotti assimilabili ai derivati dei cereali con bassa umidità iniziale e con una struttura alveolata, l'isoterma di adsorbimento assume una forma a sigmoide, come l'esempio sotto riportato (Figura 1.4.2.1).

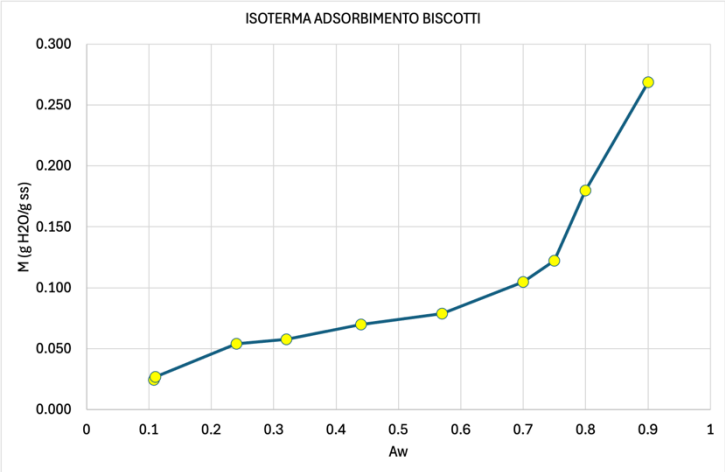


Figura 1.4.2.1 - Esempio di isoterma di adsorbimento.

Quindi, poniamo che l'ambiente interno della confezione sia sempre in equilibrio con il prodotto: se a_w dell'alimento cambia, anche a_{win} cambia allo stesso modo.

Adottando l'approccio dell'isoterma linearizzata (Labuza T.P.) è possibile rappresentare con una retta la variazione di a_{win} al variare di M.

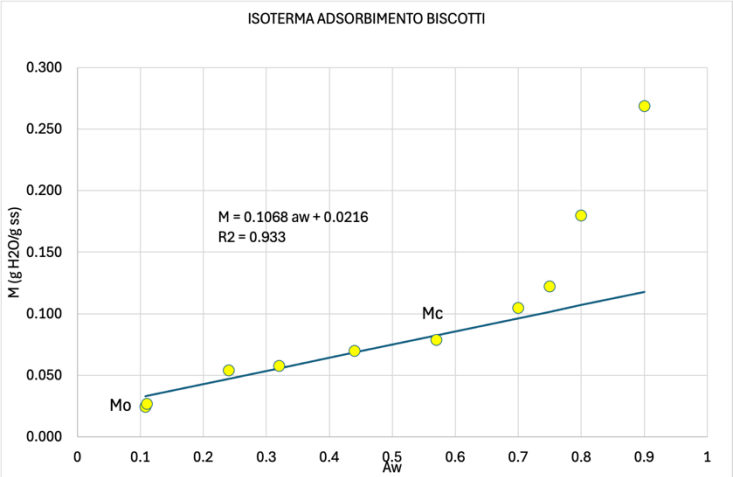


Figura 1.4.2.2 - Esempio di linearizzazione dell'isoterma di adsorbimento.

La linearizzazione viene fatta sui punti sperimentali dell'isoterma nel tratto compreso tra M_0 (contenuto umido iniziale) e M_c (contenuto umido critico). Vedi esempio sotto riportato (Figura 1.4.2.2).

L'equazione della retta, nella sua forma

$M = b*a_w + c$

può essere utilizzata per calcolare il valore teorico di Me, ovvero il contenuto umido del prodotto in equilibrio con l'umidità relativa dell'ambiente esterno; l'equazione (3) diventerà quindi

$$\frac{dM}{dt} = \frac{Pw\ S}{l}\frac{1}{Ws}\ Po * \frac{1}{b}\ (\text{Me - } Mo)\quad (4)$$

Questa forma è risolvibile tramite separazione delle variabili. Integrando tra m_i e m_c (valori limite durante la shelf-life), si ottiene:

$$\int_{m_i}^{m_c} \frac{1}{m - m_e} dm = -\frac{K_{PH_2O} \cdot A \cdot WVP_0}{l \cdot b \cdot W_s} \cdot t_{sl}$$

$$\ln\left(\frac{m_e - m_c}{m_e - m_i}\right) = \frac{K_{PH_2O} \cdot A \cdot WVP_0}{l \cdot b \cdot W_s} \cdot t_{sl}$$

Risolvendo rispetto a t_{sl}, si ottiene la formula finale per la stima della shelf-life:

$$t_{sl} = \frac{l \cdot b \cdot W_S}{K_{PH_2O} \cdot A \cdot WVP_0} \cdot \ln\left(\frac{m_e - m_c}{m_e - m_i}\right)$$

Questa espressione consente di stimare con buona precisione il tempo oltre il quale il contenuto umido scende al di sotto del livello critico, risultando quindi utile per definire il limite conservativo del prodotto e l'adozione di tale modello consente di progettare materiali di confezionamento adeguati e definire la shelf-life del prodotto in condizioni controllate e misurabili (Piergiovanni e Limbo, 2010; Labuza, 1970).

1.4.3 Stima della shelf-life secondaria: approcci sperimentali e implicazioni

La shelf life secondaria (Secondary Shelf Life – SSL), anche nota come "*period after opening* (PAO)", rappresenta l'intervallo di tempo durante il quale un alimento, una volta aperta la confezione originale, mantiene caratteristiche di qualità e sicurezza accettabili, se conservato nelle condizioni indicate dal produttore. Sebbene tale informazione sia frequentemente riportata sulle etichette dei prodotti alimentari con diciture del tipo "*dopo l'apertura consumare entro X giorni*", essa non è regolamentata da obblighi normativi specifici e spesso è formulata in maniera cautelativa, senza un'effettiva validazione scientifica. Di conseguenza, molti prodotti ancora idonei al consumo vengono scartati prematuramente, contribuendo in modo significativo allo spreco alimentare domestico. Tale fenomeno è oggi riconosciuto come una delle principali criticità ambientali ed economiche della filiera alimentare, rappresentando oltre il 60% delle perdite e sprechi lungo la catena (Stenmarck et al., 2016; FAO, 2019).

Tuttavia, l'importanza che oggi si riconosce alla corretta/realistica definizione della shelf life residua dopo l'apertura della confezione è testimoniata anche dalla pubblicazione da parte di EFSA di due linee guida: la prima dedicata alla procedura suggerita (decision tree) agli operatori dell'industria alimentare (OSA) per la definizione della data di scadenza o del termine minimo di conservazione (TMC) da

apporre sulle confezioni (shelf life primaria – PSL) e delle condizioni di conservazione durante la distribuzione (EFSA Journal, 2020); la seconda (EFSA Journal, 2021) propone sempre una procedura decisionale basata sulla previsione del rischio per l'indicazione del tempo utile per il consumo domestico dopo l'apertura della confezione. L'analisi del rischio, in entrambe le linee guida, era ovviamente basata sulla proliferazione microbica, alterante e/o patogena, del prodotto, una volta venuta meno la protezione offerta dalla tecnologia di preparazione dell'alimenti (pastorizzazione, sterilizzazione, atmosfere modificate, surgelazione) e quella offerta dall'imballaggio. In una relativamente recente review (Del Nobile & Conte, 2023) si sottolinea ampiamente che, mentre gli studi sulla verifica/previsione della shelf life primaria sono molto numerosi, quelli sulla shelf life secondaria sono piuttosto scarsi. In questa review, a far data del 2023, sono raccolti in una tabella i lavori scientifici pubblicati dal 2001 al 2022 e reperiti dagli autori: in un ventennio sono solo 16 le pubblicazioni trovate, suddivise per tipologie di prodotto considerato come segue (Tabella 1.4.3.1).

Prodotto alimentare	Numero pubblicazioni	Effetto delle condizioni di conservazione dopo l'apertura della confezione (A)	Effetto delle condizioni di confezionamento dopo l'apertura della confezione originale (B)
Caffè tostato macinato	5	2	3
Olio di oliva	3	2	1
Latti per l'infanzia	2	2	
Latte	2	1	1
Vino	2	2	
Prosciutto cotto affettato	1	1	

Pesto	1	1	

Tabella 1.4.3.1 - Studi sulla previsione della shelf life secondaria tra gli anni 2001 e 2022 (Del Nobile & Conte, 2023).

Nella stessa tabella, riassumendo la classificazione fatta da Del Nobile e Conte (2023), riporta anche il dettaglio di come è stata studiata la SSL dei prodotti citati:
A) considerando/ipotizzando differenti condizioni ambientali (soprattutto diverse per la temperatura) dopo l'apertura delle confezioni, in ambienti di laboratorio o domestici;
B) valutando l'effetto dell'impiego di contenitori (materiali) differenti dal packaging originale dopo l'apertura dello stesso.
Da un'indagine condotta ricercando per parole chiave "secondary shelf life" su Scopus nel periodo tra il 2023 e il 2025 sono stati trovati ulteriori 13 pubblicazioni in cui a diverso titolo si discute di shelf life secondaria (tra cui la review di Del Nobile e Conte, 2023), raggruppate nella seguente tabella (Tabella 1.4.3.2).

Prodotto alimentare	Numero pubblicazioni	Effetto delle condizioni di conservazione dopo l'apertura della confezione (A)	Effetto delle condizioni di confezionamento dopo l'apertura della confezione originale (B)
Caffè tostato macinato	1	1	
Latti per l'infanzia	3	3	
Latte	2	1	1
Vino	1		1
Condimenti per pasta	2	2	
Frutta essiccata	2	2	
Pane	1		1
Modellazione	1		
Review	1		

Tabella 1.4.3.2 - Studi sulla previsione della shelf life secondaria tra gli anni 2023 e 2025.

Un aspetto cruciale per gli studi di shelf life secondaria, come sottolineato da Del Nobile e Conte (2023), è la valutazione di quanto essa sia influenzata dallo stato dell'alimento al momento dell'apertura della confezione, ovverossia da quella che si definisce Shelf life Residua (RSL) che ovviamente varia in funzione del tempo trascorso dal momento del confezionamento a quello dell'apertura della confezione, riducendosi mano a mano che il momento di apertura della confezione si allontana dal tempo ZERO. Tra quelle recensite da Del Nobile e Conte (2023) solo 2 hanno considerato questo aspetto: Cesa et al (2015) hanno studiato la SSL di latti formulati per l'infanzia, conservati a temperature diverse e per diversi tempi prima dell'apertura della confezione, dimostrando che la SSL del prodotto dipende dal momento in cui la confezione viene aperta; analogamente, Nicosia et al (2022) hanno studiato l'influenza del momento dell'apertura della confezione sulla SSL di

latte UHT, giungendo alle stesse conclusioni di Cesa e Del Nobile. L'approccio adottato in molti di questi lavori scientifici si basa su un "*modello deterministico*", secondo la definizione di Nicoli e Calligaris (2004), in cui l'alimento viene sottoposto a condizioni di utilizzo realistico per osservarne il comportamento in tempo reale. Sebbene estremamente affidabile, questo metodo sperimentale richiede tempistiche lunghe, risorse analitiche complesse e ripetibilità su scala controllata

In tale contesto, l'applicazione di "*modelli predittivi matematici*", come quello proposto da Dong Sun Lee (2024), si configura come uno strumento complementare, in grado di stimare la shelf life secondaria sulla base di variabili ambientali (temperatura, umidità relativa, apertura del packaging) e cinetiche di decadimento (es. ossidazione, crescita microbica, decadimento sensoriale). L'integrazione tra dati sperimentali e modellazione predittiva offre quindi una prospettiva innovativa ed efficiente per una stima oggettiva della shelf life post-apertura.

1.4.3.1 Modelli predittivi matematici per la shelf life secondaria

La comprensione e la modellazione predittiva della SSL è fondamentale per ridurre gli sprechi alimentari, migliorare la sicurezza del consumo domestico e supportare strategie di packaging intelligenti e sostenibili (Lee, 2024). Di seguito, sarà approfondito il modello cinetico predittivo per la shelf-life secondaria del prof. Lee (2024), con l'obiettivo di descrivere matematicamente la degradazione qualitativa degli alimenti confezionati in seguito all'apertura del packaging.

Il modello proposto si basa sull'applicazione di equazioni cinetiche adattate per tenere conto della modifica nelle condizioni ambientali al momento dell'apertura della confezione, nota come tempo di apertura "POT" (Package Opening Time). L'ipotesi di partenza prevede che il parametro qualitativo principale, identificato con la variabile "A", subisca una degradazione che può essere descritta secondo diverse leggi cinetiche, a seconda della natura del prodotto e del fenomeno di deterioramento dominante (es. perdita di aroma, variazione cromatica, ossidazione lipidica, aumento dell'umidità, ecc.) (Lee, 2024).

Nel caso in cui la degradazione di A segua una cinetica di primo ordine, la sua evoluzione nel tempo prima dell'apertura è descritta dalla classica equazione differenziale:

$$\frac{dA}{dt} = -k_1 A$$

La cui integrazione fornisce l'espressione esponenziale:

$$A(t) = A_0 \cdot e^{-k_1 t}$$

Dove A_0 rappresenta il livello iniziale di qualità e k_1 la velocità della reazione di degradazione considerata a confezione chiusa. Alla fine della shelf life primaria (PSL), raggiunta al tempo t_{sp}, il valore di qualità scende al limite critico A_c:

$$A_c = A_0 \cdot e^{-k_1 t}$$

Se la confezione viene aperta in un momento antecedente, ovvero al tempo t_{po}, il valore della qualità in quel momento (che diventa la qualità iniziale della SSL) sarà:

$$A_1 = A_0 \cdot e^{-k_1 t_{po}}$$

Successivamente, con l'apertura e l'esposizione a nuove condizioni ambientali, il tasso di degradazione aumenta e la nuova evoluzione della qualità segue una cinetica con costante k_2:

$$A(t) = A_1 \cdot e^{-k_2 (t - t_{po})}$$

Dove k_2 è la velocità della reazione di degradazione selezionata quando viene meno la protezione offerta dalla confezione.

La shelf-life secondaria t_{s2} corrisponde al tempo necessario affinché la qualità passi da A_1 ad A_c durante il periodo post-apertura. Sostituendo, si ottiene:

$$A_c = A_0 \cdot e^{(-k_1 t_{po} - k_2 t_{s2})}$$

Risolvendo rispetto a t_{s2}:

$t_{s2} = \frac{k_1(t_{sp} - t_{po})}{k_2}$ eq.A

La stessa relazione si ottiene anche nel caso di cinetica di ordine zero, dove la degradazione della qualità è indipendente dalla concentrazione e si esprime come:

$$A(t) = A_0 - k_1 t$$

E successivamente:

$$A_1 = A_0 - k_1 t_{po}, \; A_c = A_1 - k_2 t_{s2}$$

Da cui si ricava nuovamente la formula (eq. B) già descritta in precedenza (eq A):

$t_{s2} = \frac{k_1(t_{sp} - t_{po})}{k_2}$ eq. B

Riarrangiando l'equazione (normalizzando per il tempo di PSL – t_{sp}) si ottiene

$\frac{t_{s2}}{t_{sp}} = \frac{1}{k_2/k_1} \cdot \left(1 - \frac{t_{po}}{t_{sp}}\right)$ eq. C

1.4.4 Prodotti sensibili agli scambi di umidità

L'elaborazione fatta da Lee (2024) nel caso dei prodotti sensibili agli scambi di umidità parte dalla elaborazione presentata da Labuza nel suo modello "dell'isoterma linearizzata" Si riporta per comodità di consultazione l'equazione

$$\frac{dM}{dt} = \frac{Pw\ S}{l}\frac{1}{Ws}\ Po * \frac{1}{b}\ (\text{Me - } Mo)\ \ (4)$$

Ponendo $\frac{Pw\ S}{l}\frac{1}{Ws}\ Po = K1$, l'equazione (4) diventa

$$\frac{dM}{dt} = \frac{K1}{b}\ (\text{Me - } Mo)\ \ (5)$$

Integrando le variazioni di M e di t, e risolvendo per t_{SL} (shelf life – days) otteniamo

$$t_{SL} = \frac{b}{K1}\ ln\frac{(Me - Mo)}{(Me - Mc)}\ \ (6)$$

In K1 (g H_2O/die) sono quindi racchiuse le variabili legate alle prestazioni del materiale, alla superficie della confezione, al quantitativo di prodotto nella confezione (peso secco totale) e la tensione di vapore dell'acqua pura alla temperatura selezionata per il test (es. 38°C).

Quando si apre la confezione, viene meno la protezione offerta dalla confezione e la velocità con cui il prodotto assorbe umidità cambia, aumentando (K2). È dunque possibile riscrivere l'equazione (6), tenendo conto tuttavia che il prodotto non parte più da M_o, bensì da M_1 (contenuto umido del prodotto raggiunto fino al momento dell'apertura della confezione).

$$t_{SLOp} = \frac{b}{K2}\ ln\frac{(Me - M1)}{(Me - Mc)}\ \ (7)$$

Possiamo rappresentare il fenomeno in questo modo (Figura 1.4.4.1).

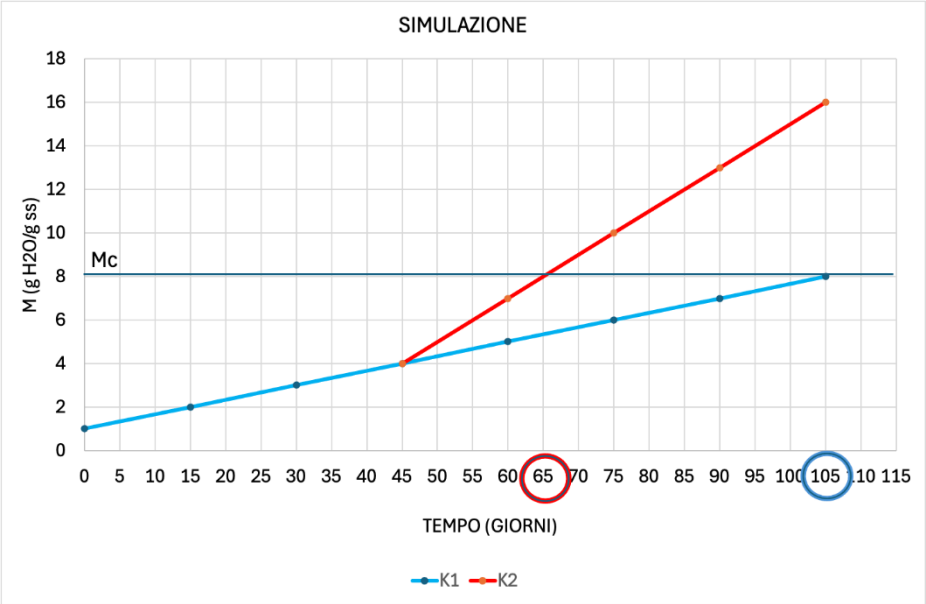


Figura 1.4.4.1 - Grafico rappresentativo della shelf life primaria e secondaria.

Mettendo in rapporto tra loro le equazioni (7) e (6) otteniamo

$$\frac{t_{SLOp}}{t_{SL}} = \frac{\frac{b}{K2} * ln\frac{(Me-M1)}{(Me-Mc)}}{\frac{b}{K1} * ln\frac{(Me-Mo)}{(Me-Mc)}} = \frac{ln\frac{(Me-M1)}{(Me-Mc)}}{\frac{K2}{K1} ln\frac{(Me-Mo)}{(Me-Mc)}}$$

Possiamo semplificare risolvendo

$(Me - Mc) = (Me - Mo) \exp [(- t_{SL} K1)/b]$

$(Me - M1) = (Me - Mo) \exp [(- t_{op} K2)/b]$

da cui

$$\frac{t_{SSL}}{t_{SL}} = \frac{1}{K2/K1} \left(1 - \frac{t_{op}}{t_{SL}}\right)$$

dove

t_{SSL} = shelf life secondaria

t_{SL} = shelf life primaria

t_{op} = tempo di apertura della confezione

L'applicazione del modello proposto consentirebbe quindi di stimare la shelf life residua di monoporzioni in funzione del momento in cui la confezione secondaria (multipack) viene aperta.

2. Scopo dello studio

Partendo dagli studi di Labuza (1970), applicati al modello teorico di isoterma di assorbimento dell'umidità per stimare la shelf life primaria (PSL), e dal modello proposto da Dong Sun Lee (2024) per la valutazione della shelf life secondaria (SSL), intesa come il periodo di conservabilità residua una volta compromessa la protezione offerta dall'imballaggio, il presente studio si è posto l'obiettivo di validare l'applicabilità di approcci matematici predittivi ai grissini.

In particolare, l'indagine mira a verificare la coerenza tra dati sperimentali ottenuti attraverso prove accelerate (ASLT) e l'analisi di parametri chimico-fisici, sensoriali e meccanici, con le previsioni teoriche dei modelli, così da identificare soglie critiche di accettabilità del prodotto. L'obiettivo finale è fornire uno strumento predittivo validato e affidabile, in grado di supportare le aziende alimentari nella definizione di tempi di conservazione più realistici e nella scelta di materiali di confezionamento adeguati, contribuendo a una migliore gestione della qualità e della sicurezza durante l'intero ciclo di vita del prodotto.

Attraverso prove in condizioni accelerate (ASLT) e l'analisi di parametri chimico-fisici, sensoriali e meccanici, si è mirato a verificare la coerenza tra i dati sperimentali e le previsioni teoriche fornite dai modelli, identificando soglie critiche di accettabilità del prodotto. L'obiettivo finale è stato quello di proporre un approccio predittivo validato, in grado di supportare le aziende alimentari nella definizione di tempi di conservazione più realistici e nella scelta di materiali di confezionamento adeguati, migliorando la gestione della qualità e la sicurezza del prodotto durante tutto il suo ciclo di vita.

3. Materiali e metodi

3.1 Materiali

3.1.1 Grissini commerciali

I campioni analizzati sono stati prodotti a livello industriale da una nota azienda alimentare con sede a Reggio Emilia (RE). Si tratta di grissini in formato "mini", della lunghezza di circa 14 mm e con uno spessore medio di 8 mm, caratterizzati dalla presenza di granelli di sale sulla superficie. La formulazione riportata in etichetta riportava i seguenti ingredienti:

- Farina di frumento
- Olio di girasole alto oleico
- Acqua
- Malto
- Lievito
- Sale

Le confezioni fornite dal produttore erano multipack (165 g peso netto totale) di 8 monoporzioni (da ora in poi denominate monopack), ciascuna contenente circa 20 grammi di grissini (Figura 3.1.1.1). Il materiale utilizzato per la realizzazione delle confezioni multipack e monopack è lo stesso (polipropilene orientato – OPP), ma con differenti spessori: il film del multipack ha uno spessore di 40 µm, mentre quello delle monoporzioni ha uno spessore di 30 µm. Dalle schede tecniche dei materiali fornite dall'azienda la permeabilità al vapor d'acqua (WVTR) in condizioni tropicali (38°C – 90% deltaUR) è dichiarata inferiore a 5 g/(m^2 giorno) e a 2 g/(m^2 giorno) per OPP 30 µm e OPP 40 µm rispettivamente.



Figura 3.1.1.1 - Grissini commerciali industriali

3.1.2 Grissini sperimentali arricchiti con alghe

Partendo dalla formulazione impiegata dall'azienda alimentare per i grissini commerciali (vedasi paragrafo 3.1.1), sono stati prodotti, presso i laboratori dell'Università degli studi di Modena e Reggio Emilia (RE), due tipologie di grissini sperimentali nella cui ricetta sono state aggiunte alghe essiccate in polvere in misura dal 5% (p/p rispetto alla farina): Spirulina (*Limnospira platensis*), fornita da un'azienda del territorio (Società Agricola Villa Canali Srl, Reggio Emilia, RE) e lattuga di mare (*Ulva lactuca*), fornita da Consonni Bioalghe Srls (Milano, MI). Solo nel caso del grissino arricchito con Spirulina sono stati aggiunti semi di finocchio macinati (1% p/p di farina) con l'intento di migliorare il profilo aromatico del prodotto. I due campioni sperimentali sono stati confezionati, per le prove successive, all'interno di monoporzioni (dimensioni 7 cm x 10 cm) realizzate in polipropilene (PP) trasparente da 30 µm (spessore), contenenti 5 grissini ciascuna (Figura 3.1.2.1).



Figura 3.1.2.1 – Grissini sperimentali arricchiti con alghe: rispettivamente a sx grissini con Spirulina; a dx grissini con Lattuga di mare

3.2 Metodi

3.2.1 Piano sperimentale e prove di shelf life

Il piano sperimentale ha previsto l'allestimento di prove di shelf life dei grissini commerciali e dei grissini sperimentali arricchiti con alghe. Le prove sono state condotte separatamente per ciascuna tipologia di prodotto, con lo scopo di determinare la stabilità (Primary Shelf Life - PSL) di entrambi i prodotti confezionati (g. classici e g. arricchiti con alghe), e unicamente per i grissini commerciali.la stabilità dopo l'apertura programmata della confezione (Secondary Shelf Life - SSL) Sia i grissini classici che i grissini arricchiti con alghe sono stati condizionati in camera climatica ARGOLab CH 150 CLIMATEST (Figura 3.2.1.1) in condizioni tropicali (38°C-90% UR).



Figura 3.2.1.1 - Camera climatica ARGOLab CH 150 CLIMATEST

3.2.1.1 Piano sperimentale grissini commerciali (PSL e SSL)

I grissini commerciali sono stati condizionati in camera climatica in condizioni tropicali (ASLT; 38 °C, 90% UR) per un periodo complessivo di 78 giorni. Il monitoraggio è stato organizzato in otto tempi di campionamento, distribuiti a intervalli di circa sette giorni, corrispondenti a T0, T30, T44, T51, T58, T65, T78, destinati alla valutazione della PLS. Per ciascun tempo di analisi sono stati impiegati otto multipack ciascuno contenente undici monopack. Le prime analisi sono state effettuate sul prodotto al tempo T0, ovvero non condizionato. La prima apertura, dopo il condizionamento, è avvenuta a 30 giorni (T1), quando da ciascuno degli 8 multipack sono stati prelevati 4-5 monopack degli 11 presenti, destinati allo studio della PSL. Ad ogni successiva apertura, oltre ai monopack appena prelevati, sono state analizzate anche le monoporzioni residue contenute nei multipack aperti in precedenza. In questo modo è stato possibile monitorare l'andamento della shelf-life secondaria (SSL), ossia il periodo successivo all'apertura della protezione primaria e valutare, l'accettabilità del prodotto fino al termine del periodo di osservazione. I campionamenti dedicati alla SSL, dunque, sono stati

effettuati a T39, T44, T51, T58, T65. A titolo esemplificativo si riporta lo schema sperimentale nella seguente figura (Figura 3.2.1.1.1)

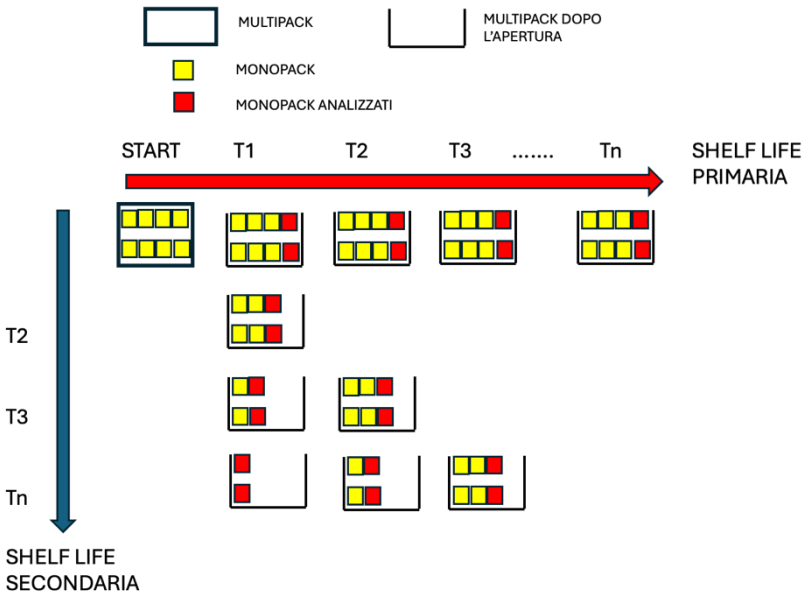


Figura 3.2.1.1.1 - Piano sperimentale

3.2.1.1.1 Piano sperimentale dei grissini sperimentali arricchiti con alghe (PSL)

I grissini sperimentali, confezionati in monopack, sono stati sottoposti a valutazione della *shelf-life* in condizioni accelerate (ASLT, 38°C, 90 % UR) (Figura 1.5). I campioni sono stati contrassegnati con la sigla “S” per quelli arricchiti con Spirulina e con la sigla “U” per quelli con lattuga di mare. Sono stati previsti sette tempi di prelievo complessivi (T0-T6) con cadenza settimanale, ad eccezione del tempo T1, prelevato e valutato due settimane dopo T0.

Per ciascuna tipologia di campione, analogamente ai grissini commerciali, sono state effettuate analisi fisiche, chimiche e sensoriali. L’esito delle analisi sensoriali è stato utilizzato come parametro determinante per stabilire l’ultimo tempo di campionamento, dei 7 complessivamente prefissati: in particolare, il campionamento è stato interrotto al tempo T4, ossia al raggiungimento del limite di accettabilità qualitativa, secondo la strategia descritta nel paragrafo 3.2.7.2.

3.2.2 Variazione di peso

La variazione di peso è stata determinata per monitorare le modifiche del contenuto umido dei campioni durante il periodo di conservazione. Tale parametro rappresenta un indicatore diretto dell'assorbimento di acqua dall'ambiante esterno e, di conseguenza, della stabilità del prodotto nel tempo, mediata dalle proprietà di barriera dei materiali di confezionamento. Le misurazioni sono state effettuate con una bilancia analitica ad alta precisione, con sensibilità fino alla quarta cifra decimale (Figura 3.2.2.1), al fine di garantire l'accuratezza dei dati raccolti. L'analisi è stata eseguita sia sui grissini commerciali sia su quelli sperimentali arricchiti con alghe, secondo procedure specifiche descritte nei sottoparagrafi seguenti.



Figura 3.2.2.1 - Bilancia analitica ad alta precisione

3.2.2.1 Variazione di peso grissini commerciali

La determinazione del peso è stata effettuata utilizzando monopack diversi per ciascun tempo di campionamento. Al tempo iniziale (T0) sono state pesate 24 monopack, calcolando il valore medio e la deviazione standard. Nei prelievi successivi, il numero di monoporzioni analizzate variava tra 4 e 5, in funzione dell'eventuale esclusione di outlier dovuti a differenze di peso anomale. L'analisi è stata condotta sia per la shelf life primaria (PSL) sia per la shelf life secondaria (SSL), includendo le monopack provenienti dai multipack aperti nei tempi precedenti. Questo approccio ha permesso di monitorare la variazione di peso sia

sul prodotto appena confezionato e successivamente aperto, sia su quello già esposto alle condizioni ambientali dopo precedenti aperture. I dati raccolti hanno consentito di quantificare la variazione di peso nel tempo, fornendo indicazioni sull'aumento del contenuto di umidità del prodotto.

3.2.2.2 Variazione di peso grissini sperimentali arricchiti con alghe

Per entrambe le tipologie di grissini sperimentali, trattandosi di prodotti di nuova formulazione, si è scelto di monitorare la variazione di peso utilizzando sempre le stesse 13 monopack, predisposte per il tempo di campionamento più spinto (T6). In questo modo è stato possibile seguire in maniera continua l'evoluzione del peso dei singoli grissini lungo tutto il periodo sperimentale. La misurazione del peso è stata effettuata, come per i grissini commerciali, ai diversi tempi di prelievo previsti dal piano sperimentale descritto nel paragrafo 3.2.1.2.

3.2.3 Determinazione della sostanza secca, contenuto umido e attività dell'acqua (a_w)

Per tutti i campioni, la determinazione della sostanza secca (%SS) è stata eseguita con una termobilancia Radwag MA 50.R (Max 50 g, d = 1 mg, T max 160 °C), impostata a 105 °C fino al raggiungimento del peso costante (Figura 3.2.3.1). Lo strumento ha consentito di monitorare in continuo la variazione di massa e di calcolare direttamente i valori percentuali di sostanza secca e umidità (%H_2O). Quest'ultima è stata ottenuta come complemento della sostanza secca secondo la relazione:

$$\%H_2O = 100 - \%SS$$

I risultati sono stati espressi come grammi di acqua per grammo di sostanza secca (contenuto umido), consentendo un confronto diretto e omogeneo tra i diversi campioni.

L'attività dell'acqua (a_w) è stata misurata con lo strumento AquaLab Serie 4 TE (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA), mantenuto alla temperatura di 25°C (Figura 3.2.3.2). Per la misurazione il campione, grossolanamente rotto (ma non macinato) viene posizionato nella camera dello strumento impostato per restituire

il valore di attività dell'acqua quando tre misure successive restituiscono lo stesso valore.

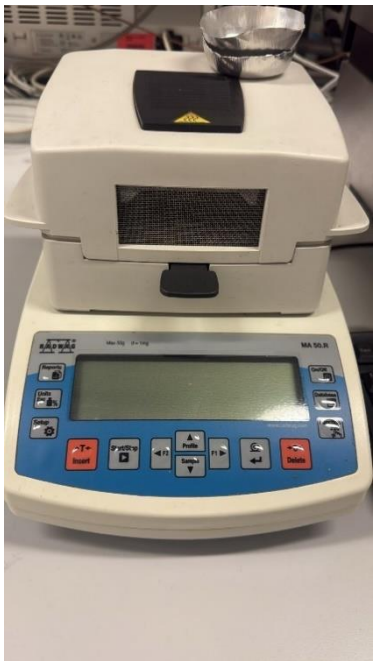


Figura 3.2.3.1 - Termobilancia Redwag (Model MA 50.R, S/N 566926, Max 50 g, d = 1 mg, T max 160 °C, 230 V, 50Hz, Radwag Wagi Elektronicze, Made in Poland, EU)



Figura 3.2.3.2 - AcquaLab Serie 4 TE (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, Stati Uniti)

3.2.4 Permeabilità al vapor d'acqua (WVTR)

La determinazione della velocità di trasmissione del vapore acqueo (WVTR, Water Vapor Transmission Rate) del materiale utilizzato nella sperimentazione (polipropilene, PP), è stata eseguita con metodo gravimetrico in accordo con la norma (ASTM E96). Sono state realizzate delle confezioni con le medesime dimensioni delle monoporzioni reali (10.5 x 12.5 cm), in cui sono stati introdotti 30 g di gel di silice precedentemente essiccato in stufa a 105 °C, al fine di garantire condizioni di totale disidratazione. Le prove sono state condotte sia su monoporzioni singole (numerate da 1 a 10) non inserite in multipack, e su monoporzioni confezionate all'interno di multipack, al fine di riprodurre nel modo più realistico possibile le condizioni di conservazione effettive.

Tutti i campioni, dopo la preparazione e la pesata iniziale, sono stati stoccati in camera climatica impostata su condizioni tropicali (38 °C, 90% UR). Nel corso del tempo, le confezioni sono state sottoposte a pesate periodiche, e i dati raccolti hanno permesso di calcolare il WVTR sia per le monoporzioni che per i multipack, fornendo così un quadro completo della permeabilità dei sistemi di confezionamento.

I dati raccolti sono stati elaborati rapportando l'incremento di peso calcolato al tempo; l'interpolazione lineare dei dati sperimentali consente di ottenere la pendenza della retta, che ha unità di misura g H2O/ora (velocità di trasmissione

della confezione). Per il calcolo della WVTR del materiale, il valore dello slope viene rapportato alla unità di superficie (m^2) e alle 24 ore secondo la formula

WVTR = (slope * 24)/A = g H2O/(m^2 24 ore)

Dove

Slope= pendenza della retta di regressione (g/ora)

24= per rapportare il valore a 1 giorno

A = superficie della confezione (m^2)

3.2.5 Valutazione dei composti volatili mediante GC/MS-SPME

La tecnica HS-SPME (Headspace Solid Phase Microextraction) rappresenta un metodo analitico innovativo, privo di solventi e ampiamente utilizzato per l'estrazione dei composti volatili da matrici alimentari complesse. In questo studio è stata applicata per la caratterizzazione del profilo aromatico dei grissini commerciali e dei grissini sperimentali arricchiti con alghe, con l'obiettivo di monitorare l'evoluzione della componente volatile durante la conservazione e di individuare potenziali molecole marker di degradazione.

L'estrazione HS-SPME (Headspace Solid Phase Microextraction) è stata effettuata impiegando una fibra trifasica DVB/CAR/PDMS (Supelco®), rivestita con una fase adsorbente, che veniva esposta per un tempo prestabilito allo spazio di testa (headspace) dei contenitori contenenti i campioni precedentemente condizionati come descritto nei paragrafi seguenti.

Le analisi sono state eseguite mediante un gascromatografo Agilent 6890 accoppiato a uno spettrometro di massa Agilent 5973N con rilevatore selettivo di massa (MSD) (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA), equipaggiato con una colonna capillare DB-5MS (60 m × 250 µm × 0,25 µm) (Figura 3.2.5.1). Come gas di trasporto è stato utilizzato elio, con flusso totale di 14,7 mL/min.



Figura 3.2.5.1 – Gascromatografo - Agilent 6890; spettrometro di massa Aglent 5973N; (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA), equipaggiato con una colonna capillare DB-5MS (60 m x 250 µm x 0,25 µm)

3.2.5.1 Valutazione dei composti volatili per i grissini commerciali

Sia per i campioni della sperimentazione PSL che SSL, i grissini commerciali sono stati analizzati dal tempo T0 a T7. Per ciascun prelievo, 3 g di campione sono stati finemente macinati con l'ausilio di un mortaio e trasferiti in vial da 25 mL, chiuse con tappo a semaforo, mantenuto inizialmente in modalità chiusa (posizione rossa) al fine di evitare la dispersione dei composti volatili nell'ambiente esterno (Figura 3.2.5.1.1). Le vial così preparate sono state poste in un termoblocco (Figura 3.2.5.1.2) a 60°C per 5 minuti, per favorire il condizionamento del campione e la saturazione dello spazio di testa con i composti volatili. Successivamente, il tappo è stato spostato in modalità aperta (posizione verde) per consentire l'inserimento della fibra SPME, mantenuta esposta nello spazio di testa per 30 min alla medesima temperatura (Figura 3.2.5.1.3).

Al termine dell'adsorbimento, la fibra è stata introdotta nell'iniettore del gascromatografo per la fase di desorbimento termico. Il desorbimento degli analiti dalla fibra è avvenuto in modalità splitless, mantenendo la fibra esposta nell'iniettore a 250 °C per 5 minuti.

Il programma di temperatura del forno è stato impostato come segue: 40°C mantenuti per 4 minuti, incremento di 5°C/min fino a 150°C, trattenuti per 3 minuti, quindi un ulteriore incremento di 10°C/min fino a 250°C, mantenuti infine per 12

minuti. La durata complessiva della singola corsa cromatografica è risultata pari a 66 minuti (Conte et al., 2020).

L'analisi dei composti volatili per ciascun campione di grissini commerciale è stata replicata tre volte.



Figura 3.2.5.1.1- Vials con grissini classici



Figuran3.2.5.1.2. - Termoblocco



Figura 3.2.5.1.3 - Esposizione della fibra

3.2.5.2 Valutazione dei composti volatili per i grissini sperimentali arricchiti con alghe

Per i grissini sperimentali arricchiti con le alghe, l'analisi dei composti volatili è stata eseguita per tutti i tempi di campionamento (T0-T4), seguendo una procedura ottimizzata *ad hoc*. Per ciascun prelievo, 1 g di campione finemente macinato con l'ausilio di un mortaio, è stato trasferito in vial da 25mL e poste in termoblocco (Figura 3.2.5.1.2) a 50°C per 10 minuti, al fine di condizionare il campione e favorire il rilascio dei composti volatili nello spazio di testa. Successivamente, la fibra SPME è stata introdotta nello spazio di testa e mantenuta in esposizione per 30 minuti alla medesima temperatura, consentendo l'adsorbimento delle molecole aromatiche.
Al termine del tempo di esposizione, la fibra è stata inserita nell'iniettore del gascromatografo per il desorbimento termico, condotto in modalità splitless a 250°C per 5 minuti. Le analisi sono state condotte utilizzando elio come gas di trasporto con flusso costante di 1 mL/min. Il programma di temperatura del forno è stato impostato come segue: 40 °C mantenuti per 3 minuti, incremento fino a 90°C, quindi fino a 140°C, successivamente fino a 180°C e, infine, fino a 230 °C, mantenuti per 7 minuti. La durata complessiva dell'analisi è stata pari a circa 56 minuti (Lopez-Pérez et al., 2017).

L’analisi dei composti volatili per ciascun campione di grissini formulato alle alghe è stata replicata tre volte.

3.2.6 Prove meccaniche sui grissini commerciali

Per la valutazione delle proprietà meccaniche dei grissini commerciali è stato utilizzato un dinamometro Z1.0 (Zwick/Roell, Ulm, Germania) equipaggiato con il software TESTEXPERT®II (Figura 3.2.6.1). La prova è stata eseguita mediante il “*three-point bending test*” (prova di flessione a tre punti), comunemente impiegato per caratterizzare la resistenza alla rottura di prodotti da forno a struttura fragile. Il campione è stato posizionato su due supporti in modo da lasciare esposto un 1/3 della sua lunghezza, mentre la cella di carico applicava la forza al centro del grissino con una velocità di prova costante di 1 mm/s.

Le dimensioni geometriche medie del campione analizzato erano pari a 8 mm di spessore e 14 mm di larghezza, mentre la sua lunghezza si attestava intorno ai 5 cm.

Durante la prova sono stati registrati i valori di forza in funzione dello spostamento fino al punto di rottura, ottenendo una curva caratteristica della quale è possibile ricavare i parametri meccanici più significativi (Figura 3.2.6.2).



Figura 3.2.6.1 - Dinamometro Z1.0 (Zwick/Roell, Ulm, Germania)

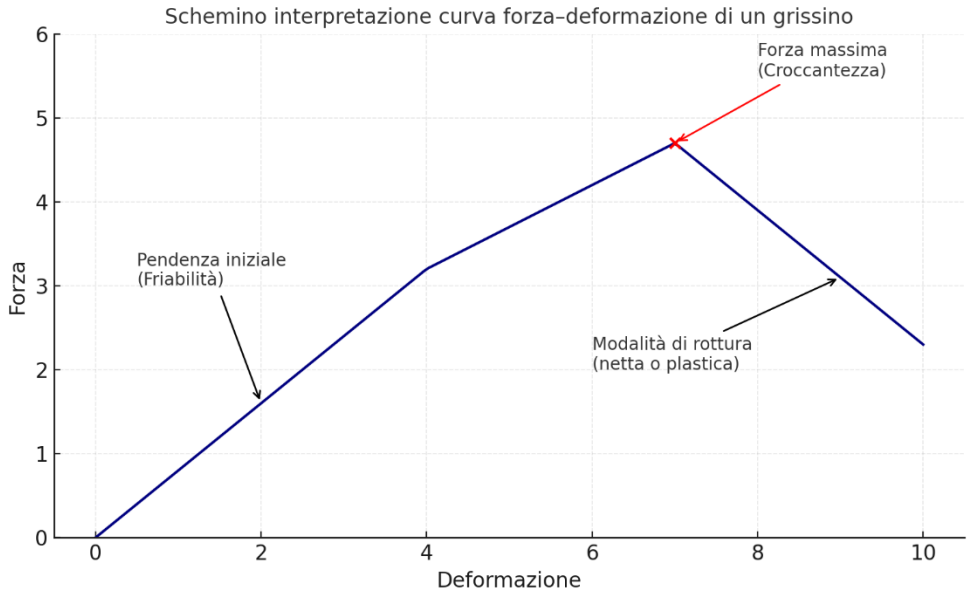


Figura 3.2.6.2 - Figura rappresentativa deformazione - curva forza–deformazione di un grissino, evidenziando friabilità (pendenza iniziale), croccantezza (forza massima) e modalità di rottura (netta o plastica).

3.2.7 Analisi sensoriale dei grissini

L'analisi sensoriale è stata condotta sia su grissini commerciali sia su grissini sperimentali arricchiti con alghe. Le prove si sono svolte presso il laboratorio sensoriale del CRPA (Tecnopolo di Reggio Emilia, RE) in conformità alla norma UNI

ISO 8589:2014, utilizzando cabine individuali per evitare distrazioni, scambi di informazioni tra giudici e possibili interferenze esterne (Meilgaard et al., 1999).

Sono stati coinvolti due differenti gruppi di valutatori:

- Grissini commerciali: 8 giudici (studenti e personale del Dipartimento di Scienze della Vita, UniMORE), uomini e donne di età compresa tra i 20 e 50 anni, selezionati in base all'interesse e alla disponibilità.
- Grissini con alghe: un panel di 10 giudici (6 maschi e 4 femmine), di età compresa tra 25 e 60 anni.

Entrambi i gruppi erano abituali consumatori di prodotti da forno. Tutti i partecipanti avevano già esperienza in prove di assaggio e rispettavano i requisiti previsti dalla norma UNI ENI ISO 8586:2023. È stato comunque effettuato un addestramento specifico per familiarizzare con gli attributi da valutare.

L'addestramento ha avuto l'obiettivo di definire un vocabolario descrittivo condiviso e di stabilire, ove possibile, campioni di riferimento utili come ancoraggi percettivi. Gli attributi considerati sono stati:

texture e flavour comune a tutti i campioni: friabilità, croccantezza, durezza, rancidità e stantio. Caratteristiche specifiche dei campioni con alghe: colore, intensità di odore (vegetale, marino, speziato, rancido, altri), dolcezza, amarezza, intensità di aroma (vegetale, marino, speziato, rancido, altri).

Nella seguente tabella (Tabella 3.2.7.1) è riportato l'elenco degli attributi, la definizione e gli standard di riferimento.

ATTRIBUTI	DEFINIZIONE		STANDARD (SCALA)
Colore			Figura 3.2.7.1 e 3.2.7.2
Intensità Odorosa (vegetale – marino, speziato)	Sensazione olfattiva che ricorda la nota "verde/erbacea" (erbe fresche, spinaci, foglie). Sensazione olfattiva che richiama alghe marine, acqua salmastra, crostacei freschi o aria di mare. Sensazione olfattiva che ricorda la nota di spezia (es. semi di finicchio)	Spezzare il grissino sotto il naso e annusare ripetutamente per 3–5 s	Decotto di spinacio (intenso) Decotto lattuga di mare e spirulina tq (intenso) Decotto semi di finocchi tq (intenso)
Amarezza			-
Dolcezza			-
Intensità aromatica (vegetale – marino - speziato)	Sensazione retronasale che ricorda verdure cotte o crude (es. spinaci). Sensazione retronasale che evoca le alghe marine, crostacei freschi. Sensazione retronasale che ricorda la nota di spezia (es. semi di finocchio)	Masticare lentamente, il grissino mantenendo in bocca 10–15 s. Inspirare leggermente dal naso mentre il prodotto è in bocca e registrare la percezione.	Decotto di spinacio (intenso) Decotto lattuga di mare e spirulina tq (intenso) Decotto semi di finocchi tq (intenso)
Friabilità	Facilità di rottura in piccoli e tanti frammenti durante la masticazione.	Spezzare il grissino, inserire la metà sotto i molari e masticare 5 volte (si valuta la facilita con cui si sgretola in termini di numero e dimensioni dei frammenti);	Pane tostato (1 min) (debole) - crackers (intenso)
Croccantezza,	Suono prodotto durante la rottura del campione (valutato su scale di intensità).	Inserire l'altra metà del grissino spezzato sotto i molari e masticare 3 volte (valutazione dell'intensità del suono prodotto/ la "secchezza" della frattura);	Pane tostato (1 min) (debole) - sfogliatine (medio) - croccante alle mandorle (intenso)
Durezza	Resistenza meccanica del grissino alla masticazione, misurata attraverso la forza necessaria per romperlo.	Collocare il grissino tra gli incisivi e applicare una pressione crescente fino a determinarne la rottura; valutare l'intensità della forza necessaria a provocare la frattura.	Pane tostato (1 min) (debole) - croccante alle mandorle (intenso)
Rancidità/stantio (aroma ed odore)	Percezione di note amarognole/pungenti (burro rancido in bocca) accompagnato da note di vecchio, cartone bagnato. Questa alterazione avviene quando il prodotto è esposto per troppo tempo a luce, aria e calore. Si dice che irrancidisce.	Odorare il prodotto dopo averlo spezzato e, successivamente, procedere all'assaggio mantenendo il prodotto in bocca per qualche secondo.	Grissini T0 (debole) – grissini invecchiati all'aria 38 °C e umidità al 90% per 4 settimane (intenso) Olio ossidato – irrancidito (intenso)

Tabella 3.2.7.1 - Elenco attributi di valutazione

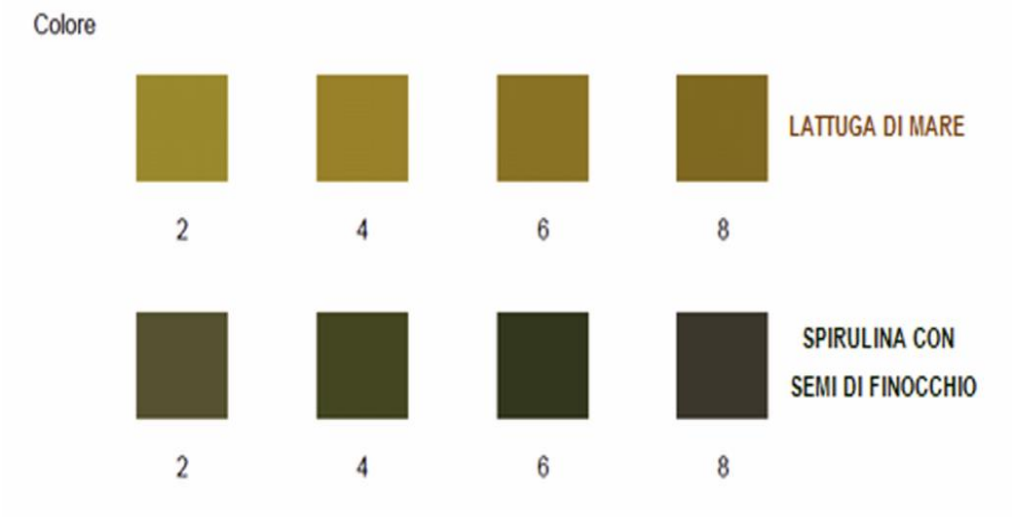


Figura 3.2.7.1 - Scale cromatiche di riferimento per le due tipologie di grissini sperimentali



Figura 3.2.7.2 - Valutazione del colore delle due tipologie di grissini sperimentali

3.2.7.1 Controllo della performance del panel per la texture

La capacità discriminante dei giudici, in particolare per i descrittori friabilità e croccantezza, è stata valutata mediante un test di ordinamento (Figura 3.2.7.1.1), svolto in due sedute distinte.

In ciascuna seduta ai giudici sono stati presentati cinque prodotti da forno e richiesto di disporli in ordine crescente di intensità percepita del descrittore considerato.

- Per la friabilità i campioni utilizzati come riferimento sono stati: pane tostato (1 min), cioccolato, fette biscottate, grissini "Mulino Bianco" e crackers "Mulino Bianco".
- Per la croccantezza i campioni utilizzati come riferimento sono stati: sfogliatine "Tuc2, crostini "Mulino Bianco", grissini torinesi e croccante alle mandorle.

L'omogeneità (accordo tra i giudici) e la ripetibilità (stabilità intra-giudice) sono state monitorate ripetendo la valutazione degli stessi campioni in tempi diversi (da T0 a T7).

I campioni sono stati valutati mediante test descrittivo, e ciascun giudice ha registrato l'intensità dei descrittori utilizzando una scala strutturata di 10 cm con estremi ancorati (1 = assenza dell'attributo, 10 = massima intensità percepibile).

Test ordinamento CROCCANTEZZA

	Assaggiate i seguenti soluzioni così numerati					
	228	340	452	177	620	
	Ordinare l'intensità della percezione rancida dalla più debole a quello più forte					
meno CROCCANTE	1_____	2_____	3_____	4_____	5_____	più CROCCANTE

Figura 3.2.7.1.1 – Esempio di scheda sensoriale per test dell'ordinamento relativo alla croccantezza

3.2.7.2 test descrittivo (QDA)

L'analisi sensoriale dei grissini è stata condotta mediante test descrittivo con l'obiettivo di monitorare l'evoluzione dei descrittori durante la shelf-life dei prodotti. La preparazione delle prove e la valutazione della qualità sensoriale sono state eseguite in conformità alla norma UNI EN ISO 13299:2016.

I campioni sono stati codificati e serviti a ciascun giudice in ordine bilanciato, al fine di ridurre effetti legati alla sequenza di presentazione o a possibili bias di aspettativa. Tra un assaggio e l'altro sono stati previsti intervalli di riposo (60 sec), durante i quali i giudici hanno neutralizzato il pelato con acqua e mela, così da minimizzare la fatica sensoriale e garantire l'affidabilità delle valutazioni.

Ogni giudice ha ricevuto, in modalità *blind,* un numero predefinito di campioni:

- Grissini commerciali: presentati in forma sfusa, tre per ciascun tempo di valutazione;
- Grissini sperimentali arricchiti con alghe: presentati in confezioni monoporzione di monomateriale plastico.

Grissini commerciali

Per i grissini commerciali sono state pianificate sei sessioni di analisi, con frequenza quindicinale, così da monitorare i campioni nell'intervallo T0-T7 (Tabella 3.2.7.2.1). In ogni sessione ciascun giudice ha valutato:

- Il campione T0 (sempre incluso come riferimento),
- Un campione intermedio per la PLS (in doppio),
- A partire dal campione al tempo T44 anche un campione per la SSL.

L'accettabilità complessiva è stata inoltre valutata tramite la domanda binaria "*Ancora accettabile?"*.

Le risposte sono state registrate come percentuale di giudici che hanno espresso valutazione positiva. È stata considerata non accettabile la condizione in cui meno del 50% dei giudici rispondesse positivamente, segnando la fine della sperimentazione.

Sessione 1	T0; T0 b
Sessione 2	T0; T30a; T30b
Sessione 3	T0; T39; T44a e T44b
Sessione 4	T0; T51; T58a e T58b
Sessione 5	T0; T65a; T65b
Sessione 6	T0; T78; T65a e T65b

Tabella 3.2.7.2.1. - Campioni valutati nelle diverse sessioni

Grissini sperimentali arricchiti con alghe

La valutazione è stata effettuata impiegando una scheda descrittiva che presentava in ordine differenti attributi sensoriali misurati su una scala continua strutturata di 10 cm corrispondente a valori da 1 a 10 (assenza di intensità = 1, massima intensità = 10).

Per i grissini sperimentali sono state pianificate sette sessioni complessive. In ciascuna sessione il panel ha valutato in doppio:

- Un campione di grissini con Spirulina corrispondenti a specifici tempi di invecchiamento,
- Un campione di Ulva lactuca, corrispondenti a specifici tempi di invecchiamento.

Il numero di sessioni effettive era tuttavia vincolato all'accettabilità dei campioni durante la shelf-life. Infatti, qualora l'intensità di rancidità olfattiva e/o aromatica mostrasse una variazione ≥ 2 punti su scala lineare rispetto al valore iniziale (T0), i campioni dei tempi successivi non venivano sottoposti alla valutazione del panel.

3.2.8 Valutazione del colore dei grissini arricchiti con alghe:

La valutazione strumentale del colore è stata effettuata per monitorare, in modo accurato, le variazioni cromatiche dei grissini sperimentali con le alghe durante il periodo di conservazione. Le misure sono state eseguite con colorimetro portatile CR-400 (Konica Minolta Sensing Americas) (Figura 3.2.8.1), attraverso le coordinate colore nello spazio *CIE Lab**: la luminosità (L*), la componente cromatica verde-rossa (a*), e la componente blu-gialla (b*).

Le differenze di colore sono state valutate tra campioni e, durante la conservazione, monitorate mediante il parametro ΔE*, il quale fornisce una misura quantitativa della variazione complessiva di colore percepibile all'occhio umano. Questo è definito dalla seguente espressione:

$$\sqrt{(L_2^* - L_1^*)^2 + (a_2^* - a_1^*)^2 + (b_2^* - b_1^*)^2}$$

Dove L_1^*, a_1^*, b_1^* e L_2^*, a_2^*, b_2^* rappresentano rispettivamente i valori cromatici iniziale e quelli rilevati per i campioni prelevati ai diversi tempi di campionamento.



Figura 3.2.8.1 - Colorimetro CR-400 (Konica Minolta Sensing Americas)

3.2.9 Costruzione isoterme di sorzione

Le isoterme di sorzione descrivono, a temperatura costante, la relazione tra il contenuto umido di un alimento e l'attività dell'acqua (a_w) dello stesso che si messo in equilibrio con quella dell'ambiente circostante. Tale procedura si è resa necessaria per la successiva verifica e validazione dei modelli teorici proposti da Labuza (PSL) e da Don Sun Lee (SSL).

Il termine *sorzione* è usato in senso generale perché comprende sia il fenomeno dell'*adsorbimento* (legame dell'acqua sulle superfici del materiale), sia quello dell'*assorbimento* (penetrazione dell'acqua all'interno della matrice). Nei prodotti alimentari, come i grissini, entrambi i fenomeni avvengono contemporaneamente

L'allestimento sperimentale ha previsto la creazione di microambienti caratterizzati da differenti valori di a_w, ottenuti mediante soluzioni saline sature o soluzioni di glicerolo a concentrazioni calibrate. All'interno di ciascun microambiente i campioni di grissini sono stati collocati su appositi supporti, predisponendo due repliche per ogni condizione sperimentale. La temperatura è stata mantenuta a 25°C.

I valori di a_w adottati e le corrispondenti soluzioni utilizzate per il loro mantenimento sono riportati in Tabella 3.2.9.1 In particolare, sono state impiegate soluzioni saline (cloruro di litio, acetato di potassio, cloruro di magnesio, cloruro di sodio) e soluzioni di glicerolo a diverse concentrazioni, secondo le seguenti condizioni

Soluzione	**a_w**	**g sale su 100 mL acqua**	**g glicerolo su 100 g soluzione finale**
Cloruro di Litio	0.11	85	–
Acetato di Potassio	0.23	255	–
Cloruro di Magnesio	0.33	80	–
Glicerolo	0.40	–	84.7
Glicerolo	0.50	–	78.7
Glicerolo	0.60	–	70.9
Glicerolo	0.70	–	61.0
Cloruro di Sodio	0.75	38	–
Glicerolo	0.80	–	48.1
Glicerolo	0.90	–	31.7

Tabella 3.2.9.1 - Elenco soluzioni

La predisposizione di tali microambienti ha consentito di coprire un intervallo ampio di valori di a_w (0.11–0.90), necessario per descrivere in modo completo il comportamento igroscopico dei grissini e per confrontare i dati sperimentali con i modelli matematici di riferimento.

Per la costruzione delle isoterme di sorzione, i campioni di grissini sono stati inizialmente pesati a tempo zero e successivamente collocati nei diversi microambienti caratterizzati da valori di attività dell'acqua (a_w) controllati. L'obiettivo era consentire ai campioni di raggiungere l'equilibrio igroscopico con l'ambiente circostante.

Il monitoraggio è stato eseguito mediante pesate successive a 48, 72 e 144 ore dall'inizio della prova, al fine di valutare la variazione di peso in funzione del valore di a_w di ciascun microambiente. I dati sperimentali di variazione di massa sono stati quindi utilizzati per il calcolo del contenuto umido dei singoli campioni.

4. Risultati e discussioni

La shelf life primaria (PSL) e secondaria (SSL) rappresentano due aspetti complementari della stabilità dei prodotti alimentari. Nel presente lavoro tali concetti sono stati applicati ai grissini commerciali e sperimentali, mettendo in relazione i modelli teorici con le analisi sperimentali, al fine di verificarne la capacità predittiva. Nei paragrafi seguenti vengono discussi i risultati ottenuti, con particolare attenzione al confronto tra la PSL dei grissini commerciali e sperimentali e all'analisi della SSL nei grissini commerciali.

4.1 Shelf life primaria: grissini commerciali e sperimentali

Come anticipato nel capitolo di Materiali e Metodi (§ 3.1.1. e 3.1.2), i grissini commerciali (nella loro confezione originale: 8 monoporzioni in un multipack) e sperimentali, nella cui ricetta è stata aggiunta polvere di alga (Ulva lactuca, d'ora in poi Ulva) e del cianobatterio Limnospira platensis (d'ora in poi Limnospira), confezionati in laboratorio in monoporzioni realizzate con OPP (30 mn), sono stati mantenuti in condizioni definite tropicali, ovvero a 38°C e 90% UR. Le condizioni scelte, definite ASLT (accelerated shelf life test), erano funzionali ad accelerare i fenomeni degradativi, in specie quelli legati all'assorbimento di umidità da parte dei grissini. Di seguito si riportano e commentano i risultati ottenuti.

4.1.1 Variazione di peso

La variazione di peso delle confezioni è una misura della sensibilità del prodotto nei confronti degli scambi di umidità e della protezione offerta dalla sua confezione.
Il calcolo della variazione di peso (Δp) dei campioni ha permesso quindi di monitorare l'assorbimento di umidità durante il periodo di conservazione in condizioni accelerate (ASLT; 38°C, 90% UR). I dati inerenti ai grissini commerciali hanno evidenziato un incremento progressivo del peso nel tempo (Figura 4.1.1.1), indicativo di un assorbimento costante di vapore acqueo dall'ambiente circostante. La quasi linearità della variazione di peso rispetto al tempo rende conto della buona protezione offerta ai grissini dalla presenza di una doppia confezione: quella della monoporzione e quella offerta dall'imballo secondario. Anche per i grissini sperimentali arricchiti con le due tipologie di "alghe" è stato osservato un

incremento di peso nel tempo (Figura 4.1.1.2., 4.1.1.3), con una progressione maggiore dovuta alla protezione offerta solo dalla monoporzione. L'andamento si discosta dalla linearità già a partire dal 12/13° giorno di conservazione, a significare che la forza motrice che regola gli scambi di umidità tra esterno e interno della confezione diminuisce, peer le mutate condizioni dell'alimento stesso.

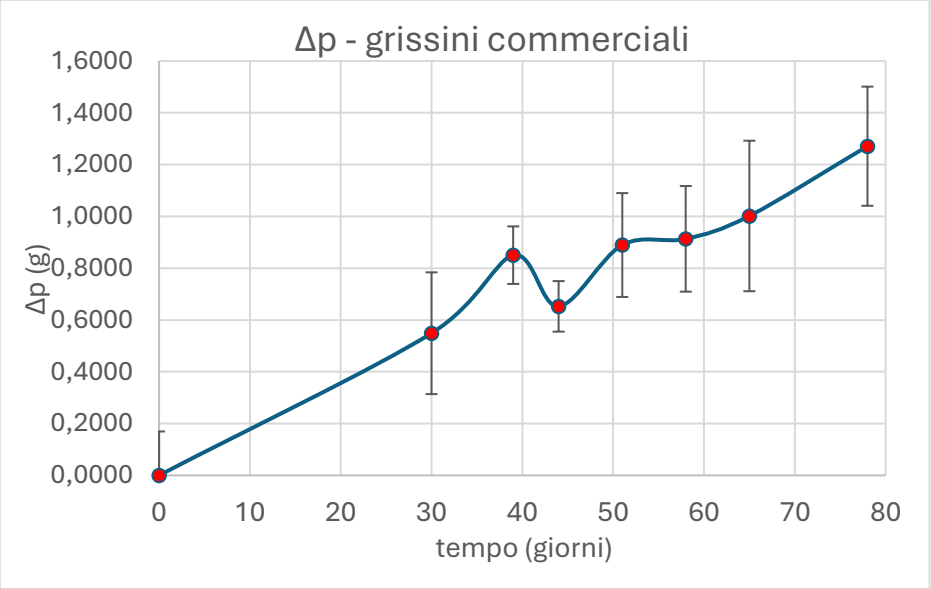


Figura 4.1.1.1 - Variazione di peso delle monoporzioni di grissini commerciali confezionate in multipack, mantenute a 38°C -90% UR

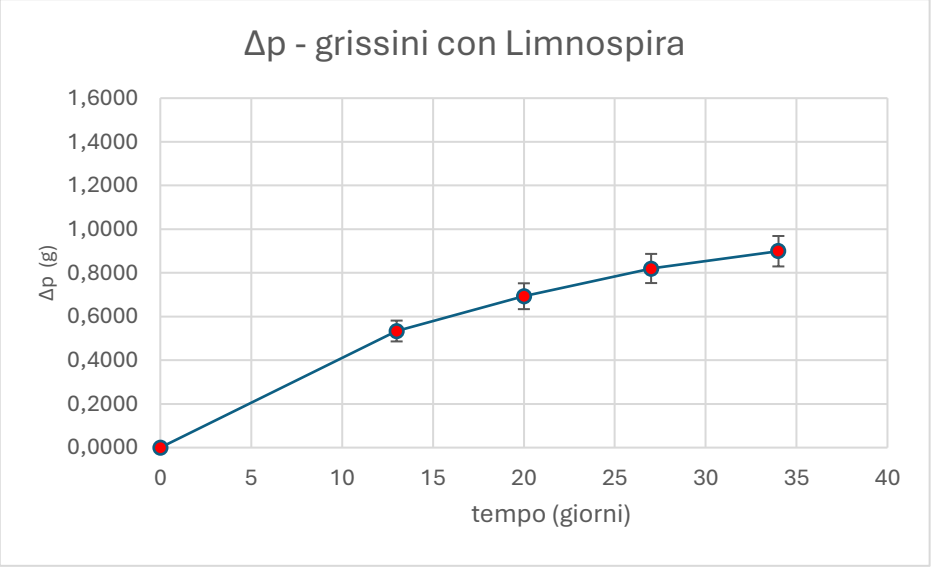


Figura 4.1.1.2 - Variazione di peso delle monoporzioni di grissini sperimentali con aggiunta di Limnospira (5%) mantenute a 38°C -90% UR

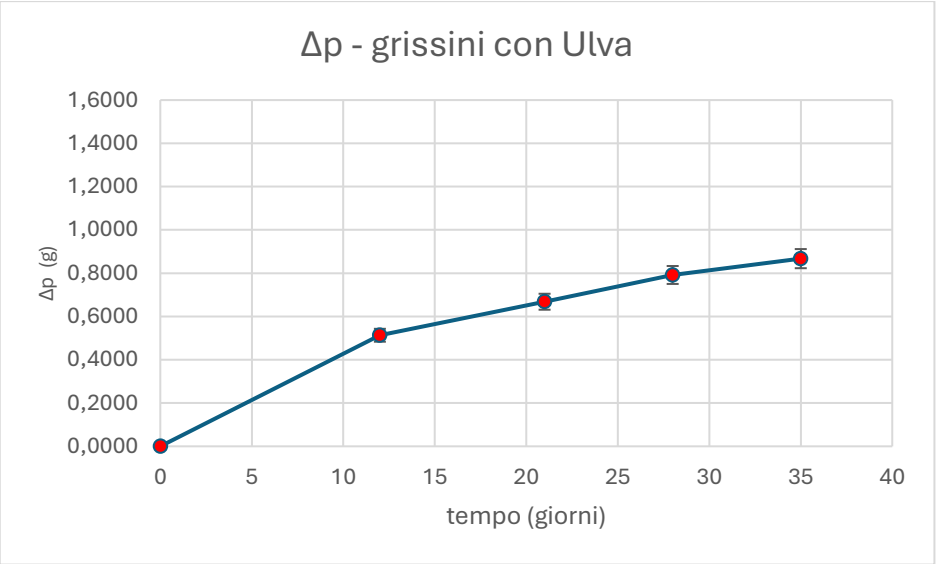


Figura 4.1.1.3 - Variazione di peso delle monoporzioni di grissini sperimentali con aggiunta di Ulva lactuca (5%) mantenute a 38°C -90% UR

4.1.2 Variazione a_w

Al di là dell'evidente acquisizione di umidità dei grissini, testimoniata dall'incremento di perso delle confezioni, la misura della stabilità di un alimento è sempre legata al valore di attività dell'acqua (a_w) iniziale e raggiunto per effetto di una conservazione. Pertanto, dei grissini commerciali e sperimentali è stata determinata l'evoluzione della a_w durante la conservazione in ASLT. In tutti i campioni l'a_w aumenta asintoticamente raggiungendo nel caso dei grissini commerciali un valore pari a 0.45 (stabile tra il 50° e il 60° giorno di conservazione (Figura 4.1.2.1); in quelli sperimentali si arriva a un valore prossimo a 0.6 alla fine della prova (35° giorno dal confezionamento) (figura 4.1.2.2 e 4.1.2.3). In questo caso la maggiore variazione è senza dubbio dovuta ancora una volta alla minore protezione esercitata dal materiale di confezionamento. L'andamento asintotico si spiega sempre con la diminuzione della forza motrice del fenomeno di assorbimento, che si misura come differenza tra attività dell'acqua del prodotto (o la sua umidità relativa) che aumenta e quella dell'ambiente, mantenuta costante.

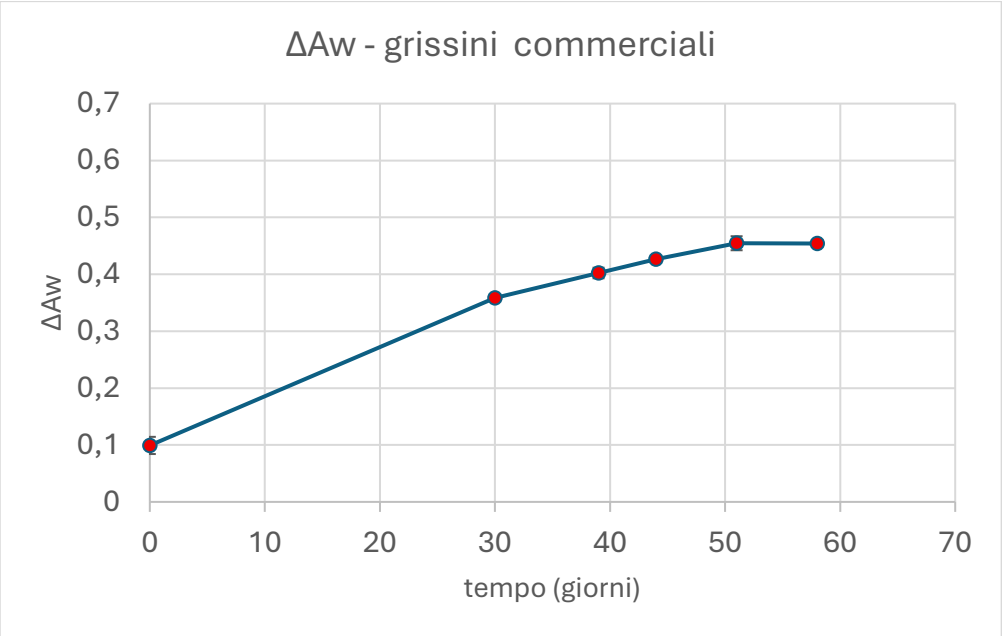


Figura 4.1.2.1 - Variazione di aw dei grissini commerciali nelle monoporzioni confezionate in multipack e mantenute a 38°C -90% UR

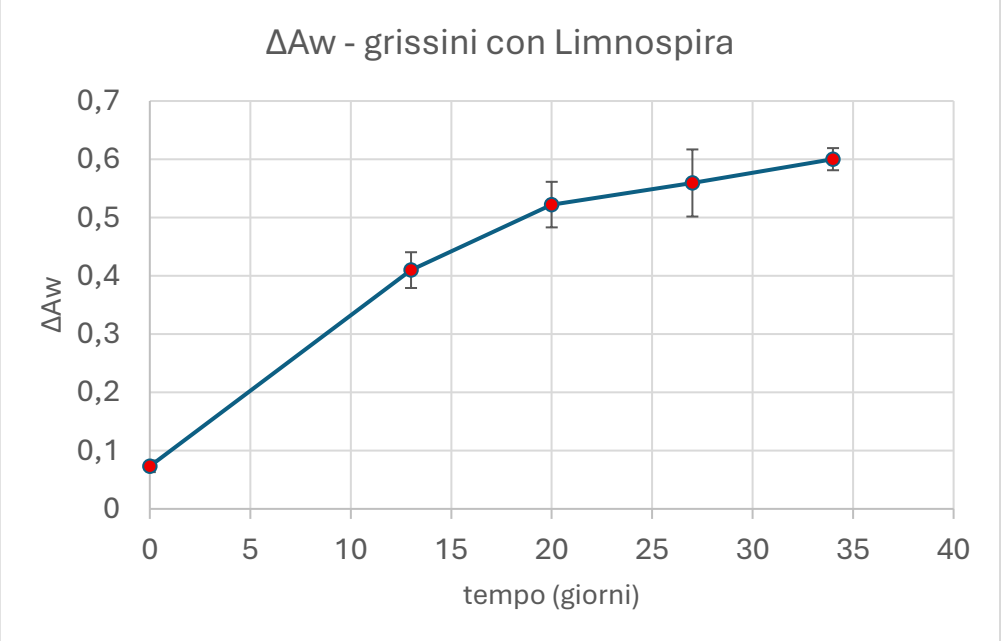


Figura 4.1.2.2 - Variazione di aw dei grissini sperimentali con aggiunta di Limnospira nelle monoporzioni mantenute a 38°C -90% UR

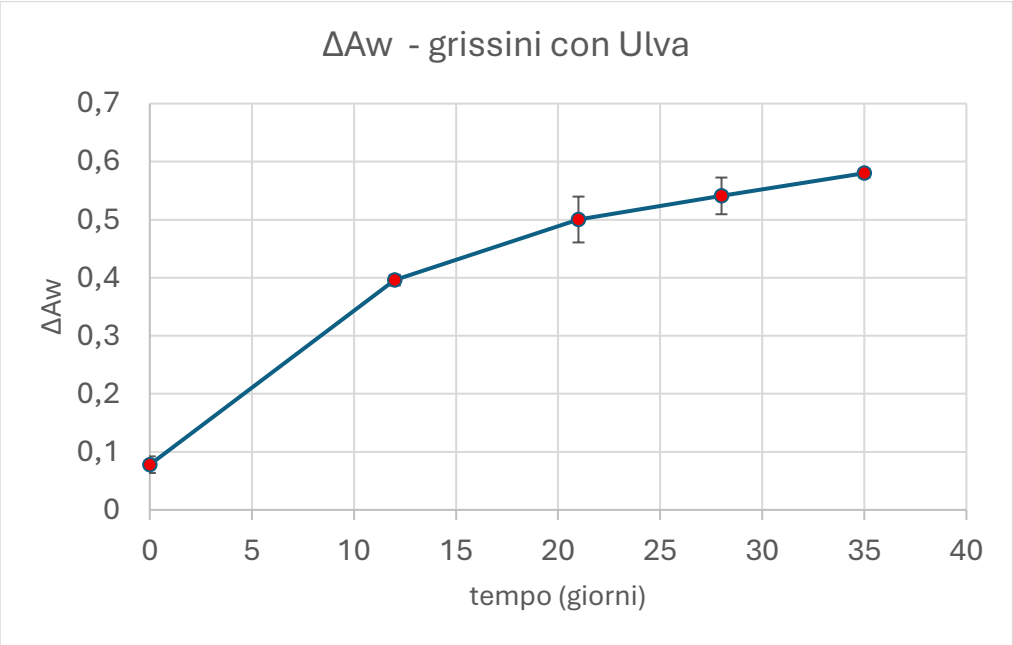


Figura 4.1.2.3 - Variazione di aw dei grissini sperimentali con aggiunta di Ulva lactuca nelle monoporzioni mantenute a 38°C -90% UR

Si sottolinea che entrambe le tre tipologie di grissini raggiungono (i commerciali) e superano (gli sperimentali) quel valore di attività dell'acqua che è considerato critico per questa tipologia di prodotto e che determina una perdita significativa delle caratteristiche reologiche di tali prodotti, a esempio croccantezza e friabilità, indicato da alcuni autori compreso in un range tra 0.45 e 0.50, Nel caso dei grissini commerciali questo valore è raggiunto e mantenuto alla fine della conservazione (circa 60 giorni), per quelli sperimentali il dato viene estrapolato dalla curva ed è compreso tra il 17° e il 20° giorno di conservazione.

4.1.3 Variazione M ($gH_2O/g\ s.s$)

La determinazione del contenuto umido (M; gH2O/ g ss) ha fornito un ulteriore supporto alle osservazioni ottenute dalla Δp e di a_w, permettendo di descrivere in maniera più completa l'evoluzione igroscopica dei campioni. Nei campioni commerciali, l'andamento ha mostrato un incremento iniziale seguito da una fase di crescita più marcata e da una successiva tendenza alla stabilizzazione (Figura 4.1.3.1), comportamento riconducibile al raggiungimento progressivo dell'equilibrio igroscopico con l'ambiente. Questo profilo, di tipo sigmoide, è in accordo con i modelli di isoterma di sorzione dell'acqua, in cui la velocità di

trasferimento del vapore risulta inizialmente contenuta, aumenta nella fase intermedia e rallenta con l'avvicinarsi dell'equilibrio. Nei grissini sperimentali si è osservata invece una variazione del contenuto umido generalmente superiore rispetto ai campioni commerciali, con una cinetica di assorbimento più rapida e un livello di equilibrio più elevato (Figura 4.1.3.2 e 4.1.3.3). Questo comportamento può essere attribuibile, almeno in parte, alla modalità di produzione dei grissini sperimentali, realizzati manualmente in laboratorio e non mediante un processo industriale standardizzato. La minore uniformità nei parametri di impasto e di cottura, rispetto ai campioni commerciali, può aver influenzato la microstruttura della matrice, favorendo una maggiore capacità di assorbimento dell'umidità. È inoltre probabile che la composizione delle alghe impiegate in polvere, le quali, pur integrate in quantità ridotte, sono ricche di componenti (polisaccaridi, fibre, proteine) che possono modificare le proprietà igroscopiche del prodotto. Tale combinazione di fattori potrebbe giustificare l'aumento del contenuto umido e la conseguente riduzione della stabilità della texture osservata nei campioni sperimentali.

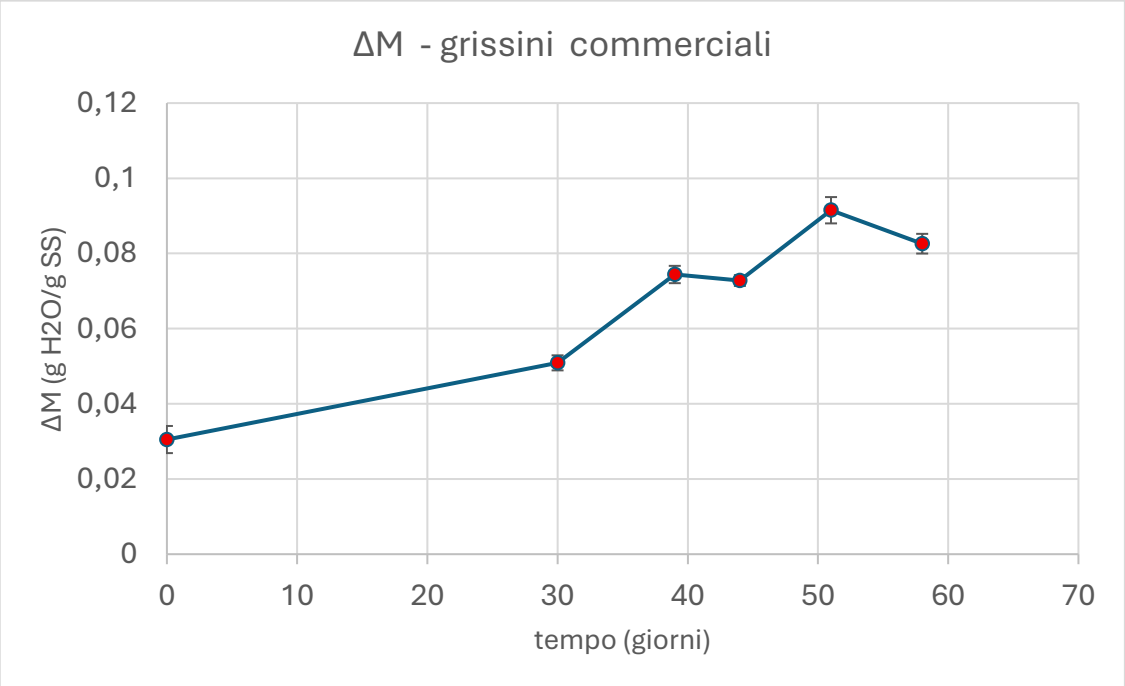


Figura 4.1.3.1 - Variazione di contenuto umido. (M) dei grissini commerciali nelle monoporzioni confezionate in multipack e mantenute a 38°C -90% UR

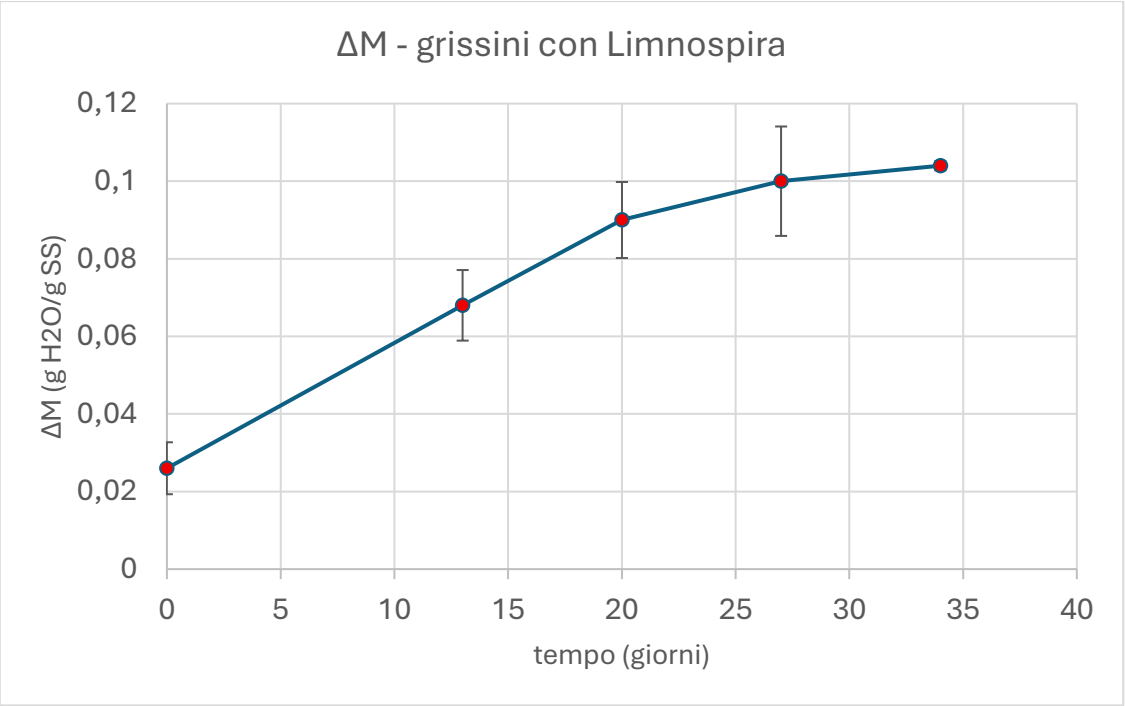


Figura 4.1.3.2. - Variazione di contenuto umido. (M) dei grissini sperimentali con aggiunta di Limnospira. nelle monoporzioni mantenute a 38°C -90% UR

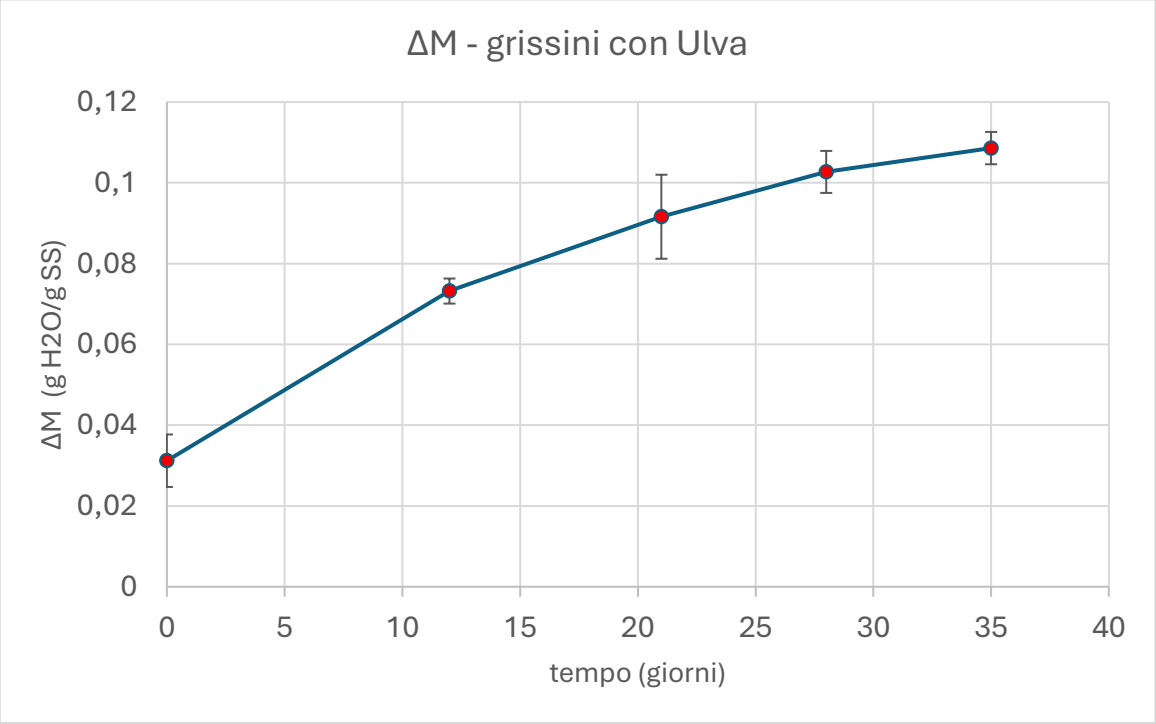


Figura 4.1.3.3 - Variazione di contenuto umido. (M) dei grissini sperimentali con aggiunta di Ulva lactuca nelle monoporzioni mantenute a 38°C -90% UR

La relazione tra contenuto umido (M) di un alimento e i corrispondenti valori di a_w consente di definire la sua stabilità intrinseca. Tuttavia, per effetto degli scambi di umidità con l'ambiente circostante, M e quindi a_w si modificano e in certi casi l'alimento può raggiungere valori di a_w che favoriscono/accelerano reazioni

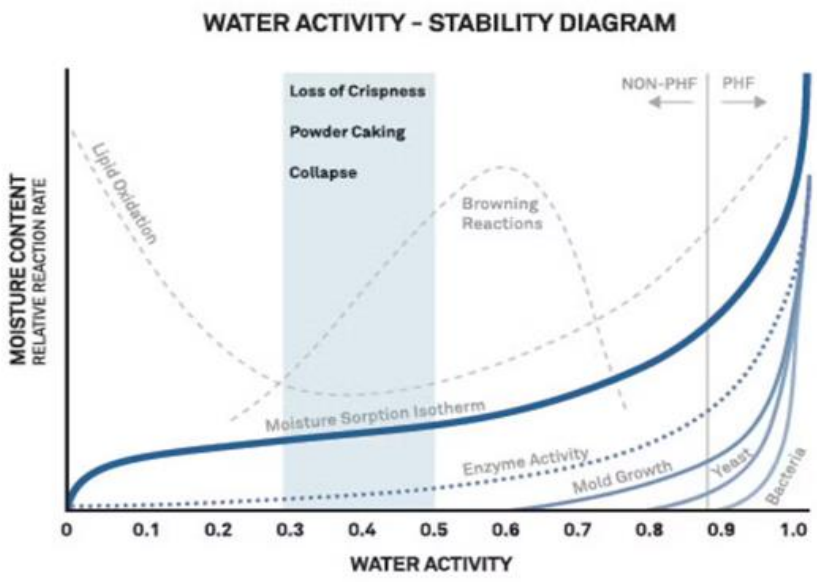


Figura 4.1.3.4 - Diagramma di stabilità in funzione dell'attività dell'acqua.

degradative e/o cambiamenti fisici che ne provocano lo scadimento qualitativo. A titolo esemplificativo si riporta in figura 4.1.3.4. un diagramma di stabilità in funzione del valore di attività dell'acqua di un alimento, in cui la parte in azzurro corrisponde ai valori critici di questo parametro che possono causare decadimento qualitativo per perdita di friabilità

Pertanto, al fine della stima della shelf life di un qualsiasi prodotto alimentare, diventa necessario individuare il cosiddetto "valore critico del parametro qualitativo selezionato", ovvero nel caso dei grissini il contenuto umido critico (M_c). I dati relativi alla variazione del contenuto umido e dell'attività dell'acqua delle tre tipologie di grissini sono mostrati nelle seguenti figure, in cui si riporta anche di attività dell'acqua identificato nella precedente

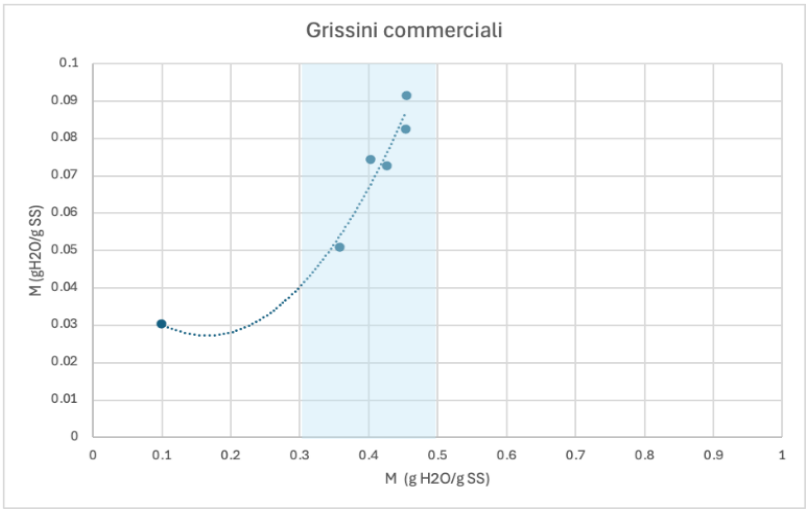


Figura 4.1.3.5 - Relazione tra M e aw dei grissini commerciali

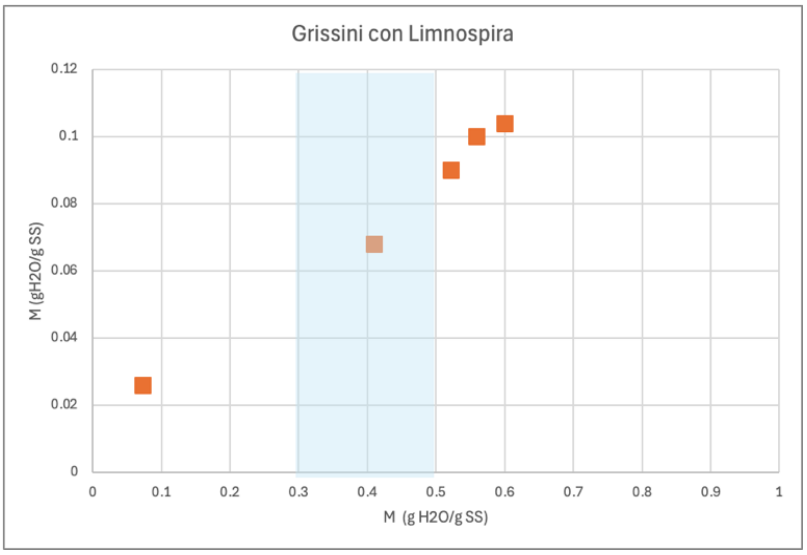


Figura 2.1.3.6-Relazione tra M e aw dei grissini sperimentali con Limnospira



Figura 4.1.3.7- Relazione tra M e aw dei grissini sperimentali con Ulva

Appare evidente che il range compreso tra 0.3 e 0.5 di a_w è troppo ampio per i grissini commerciali che, durante la conservazione si situano quasi tutti al suo interno; anche per quelli sperimentali questa elaborazione non consente di identificare con certezza il valore critico di M. Dunque, diventa necessario approfondire la valutazione della qualità del prodotto tramite l'esecuzione di controlli ulteriori, analisi sensoriale compresa, per la definizione del contenuto umido critico.

4.1.4 Valutazione dei composti volatili

L'analisi dei composti volatili è fondamentale per comprendere le caratteristiche sensoriali dei prodotti da forno, poiché questi composti influenzano direttamente il loro aroma e la percezione del gusto. La valutazione comparativa tra grissini commerciali e sperimentali arricchiti con Limnosperma platensis e Ulva Lactuca, permette di identificare differenze nei profili aromatici e di correlare tali variazioni con le caratteristiche sensoriali percepite dai consumatori.

Durante la conservazione dei campioni commerciali (ASLT; 38°C, 90% UR), i profili volatili dei grissini mostrano andamenti coerenti con reazioni di ossidazione lipidica secondaria e reazioni di Maillard/Strecker indotte dal calore e dall'umidità relativa (Figura 4.1.4.1). In particolare, le aldeidi mostrano un aumento progressivo nel tempo tipico dei prodotti da forno, infatti molte aldeidi (es. nonanale, esanale e ottanale) sono prodotti diretti della degradazione degli idroperossidi lipidici e tendono ad accumularsi durante la conservazione, vengono spesso usate come marker di rancidità. Tale fenomeno è stato riportato sia in crackers che in panificati e biscotti, dove l'aumento delle aldeidi è strettamente collegata alla progressione dell'ossidazione lipidica (Manzocco et al., 2020). I chetoni e gli alcoli seguono spesso una traiettoria "a campana" (aumentano nelle fasi intermedie e poi diminuiscono nelle fasi finali): all'inizio si formano come prodotti secondari dell'ossidazione, oltre che per riduzione/ossidazione di alcoli e aldeidi, o per scissione di perossidi), a causa delle fermentazioni e delle reazioni di Strecker; nelle fasi avanzate però questi composti possono subire trasformazioni ulteriori, con conseguente calo della loro abbondanza relativa. Questa dinamica spiega l'incremento iniziale seguito da una diminuzione successiva osservata

sperimentalmente (Pellacani et al., 2023). I furani (composti tipici della degradazione termica, reazioni di Maillard e reazioni carboniliche) tendono ad aumentare con il progredire della conservazione, poiché alte temperature e un'alta umidità relativa favoriscono il percorso di degradazione dei carboidrati e la formazione di furani, per questo motivo, il loro incremento risulta coerente con le condizioni di stoccaggio. Inoltre, possono derivare anche dalla degradazione di idroperossidi lipidici e dalla combinazione delle reazioni di Maillard con le reazioni dei lipidi (Pico et al., 2020). Gli acidi carbossilici mostrano spesso un aumento nelle fasi intermedie, a causa della formazione per ossidazione o idrolisi degli intermedi, seguito in alcuni casi da una riduzione nelle fasi più tardive, che può essere dovuta dalla loro conversione in altri prodotti (es. esterificazione) o dalla loro perdita relativa per volatilizzazione; inoltre, in prodotti a bassa umidità iniziale il bilancio tra formazione e successiva trasformazione o perdita rende possibile spiegare il trend altalenante che si osserva. Studi sui biscotti e su altri prodotti da forno mostrano proprio questa variabilità (Rutkowska et al., 2023).

Nel complesso questi andamenti rimangono coerenti con il modello generale dell'ossidazione lipidica nei prodotti da forno a basso contenuto umido iniziale dove la fase iniziale è dominata dalla formazione di idroperossidi e prodotti secondari (aldeidi, chetoni, alcoli), mentre nelle fasi avanzate si attivano percorsi di trasformazione/consumo dei prodotti intermedi.

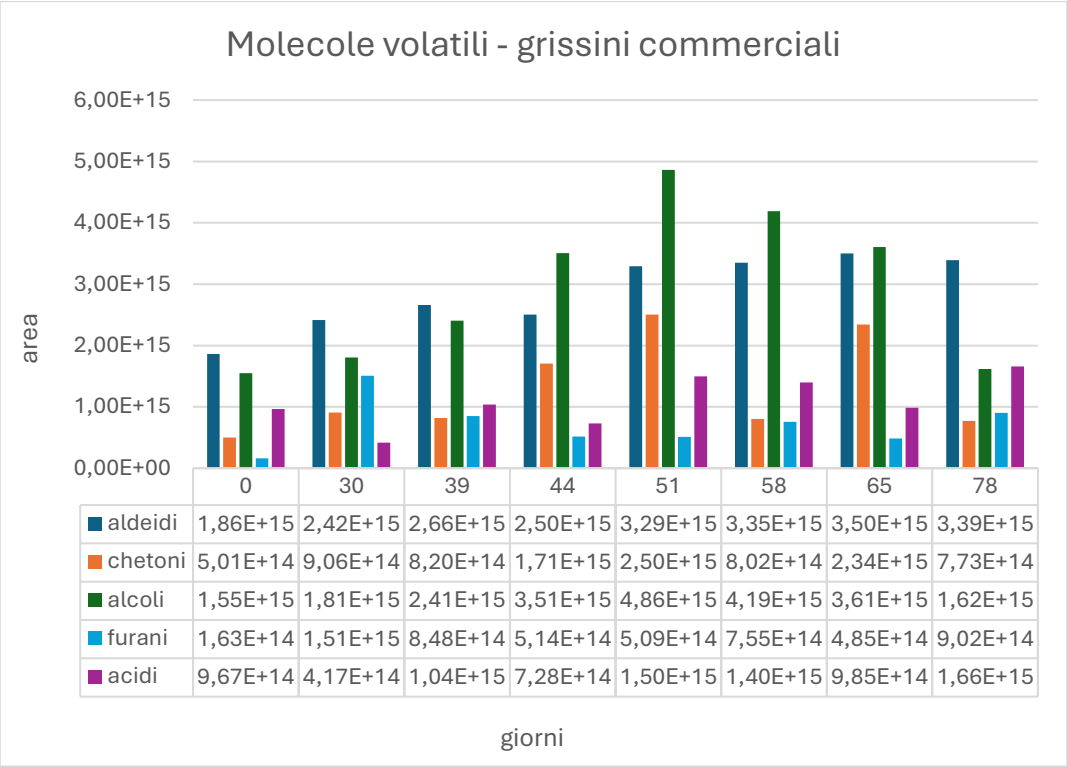
Parallelamente, durante la conservazione delle due tipologie di grissini sperimentali arricchiti con Limnospira platensis e Ulva lactuca (ASLT; 38°C, 90% UR), i profili volatili si differenziano tra loro (Figura 4.1.4.2 e 4.1.4.3).

Nei grissini arricchiti con Limnospira platensis (Spirulina) si osserva un progressivo incremento di aldeidi, chetoni e alcoli, coerente con i noti processi di ossidazione lipidica e di frammentazione degli idroperossidi in composti carbonilici e alcolici (Barden & Decker, 2016). Al contrario, i terpeni mostrano una chiara tendenza alla diminuzione durante la conservazione, fenomeno che si spiega con la loro instabilità termica e la facile ossidazione a prodotti non volatili. Gli idrocarburi tendono ad aumentare, in linea con quanto riportato per la degradazione di frazioni lipidiche insature delle microalghe, mentre i furani diminuiscono probabilmente a causa dell'azione di antiossidanti naturali tipici della Spirulina (ficocianine,

carotenoidi e polifenoli) che modulano le reazioni di Maillard e di degradazione termica (Chemodanov et al., 2024). Gli acidi carbossilici aumentano nelle fasi iniziali per poi stabilizzarsi, mentre gli eteri mostrano una fase di incremento, ma nelle fasi avanzate tendono a ridursi o sparire, probabilmente per instabilità chimica o volatilizzazione. Questi comportamenti sono coerenti con il profilo volatile caratteristico della Spirulina riportato in letteratura, dove aldeidi, chetoni alcoli e terpeni sono stati identificati come principali VOC, la cui dinamica è influenzata dalle condizioni di conservazione (Chemodanov et al., 2024).

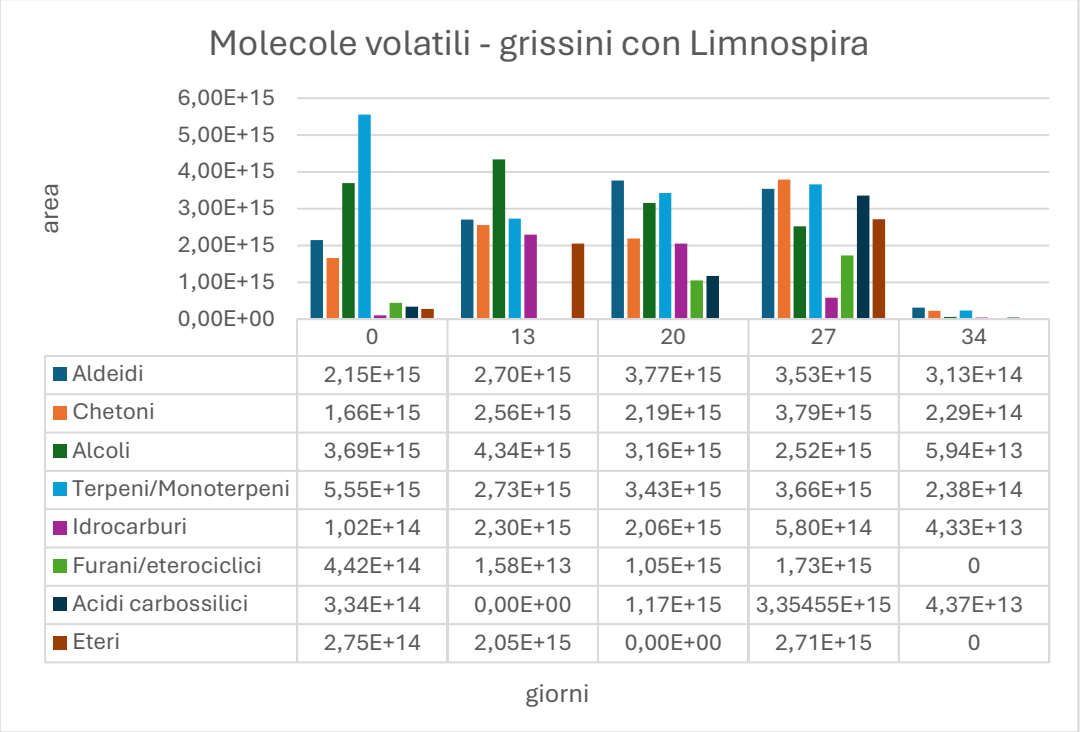
Nei grissini con Ulva lactuca (Lattuga di mare) si osservano invece andamenti peculiari: aldeidi, chetoni e alcoli tendono ad aumentare progressivamente, confermando il ruolo dei lipidi insaturi marini e delle reazioni di Maillard nella formazione di carbonili volatili (Coman et al., 2021). Gli idrocarburi e i composti solforati (derivati da amminoacidi solforati come metionina e cisteine tipici delle alghe verdi) mostrano un incremento, mentre i composti aromatici tendono a diminuire, verosimilmente per ossidazione e volatilizzazione. Gli acidi carbossilici aumentano nelle fasi intermedie per poi ridursi a causa di trasformazioni secondarie (es. esterificazione). Infine, gli eteri non compaiono all'inizio, ma si manifestano successivamente, compatibilmente con la loro formazione da reazioni di condensazione tra precursori ossidati. Anche in questo caso i trend trovano conferma nella letteratura (Coman et al., 202; Alfonso et al., 2023).

Nel complesso, i risultati evidenziano come l'arricchimento con le due tipologie di alga modulino diversamente l'evoluzione dei composti volatili, in funzione della diversa composizione biochimica delle due biomasse: la Spirulina, ricca di antiossidanti, sembra attenuare la formazione di alcuni composti, mentre la Lattuga di mare, più ricca di frazioni lipidiche marine e aminoacidi solforati, favorisce la comparsa di aldeidi, chetoni, alcoli e composti solforati (Dominguez et al.,2019). Tali dinamiche rientrano nei meccanismi generali dell'ossidazione lipidica e delle trasformazioni termiche nei prodotti da forno a basso contenuto umido iniziale, come riportato in studi recenti (Manzocco et al., 2020; Barden & Dacker, 2016).



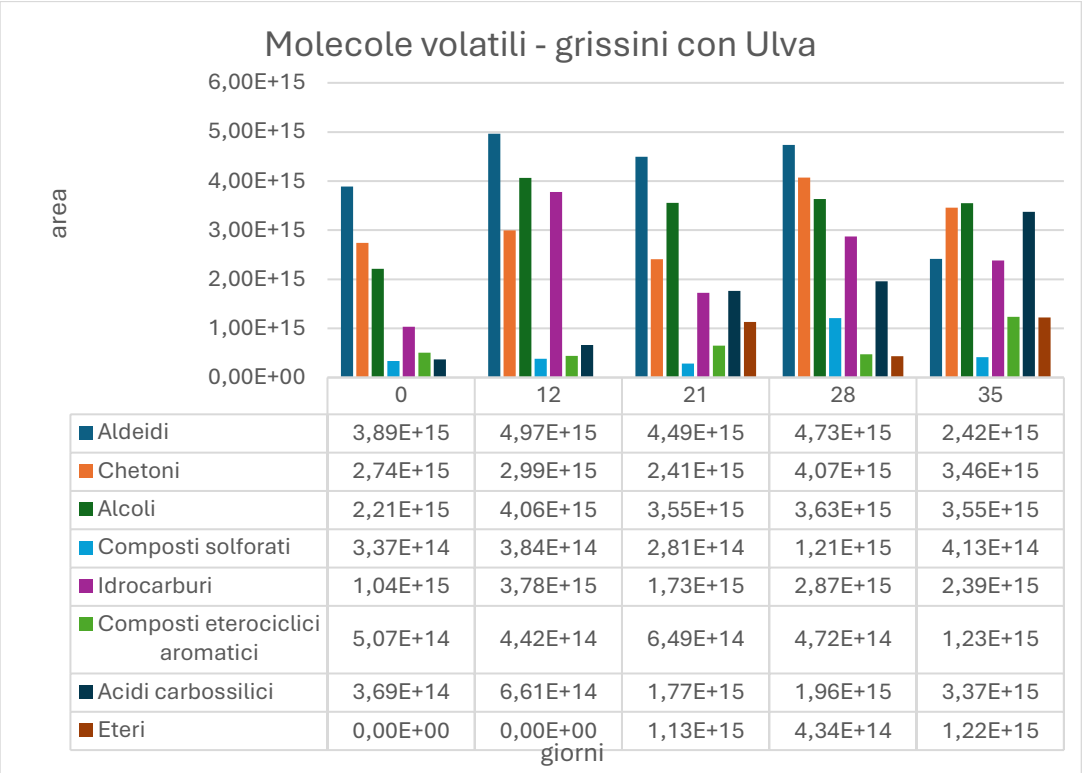
	0	30	39	44	51	58	65	78
aldeidi	1,86E+15	2,42E+15	2,66E+15	2,50E+15	3,29E+15	3,35E+15	3,50E+15	3,39E+15
chetoni	5,01E+14	9,06E+14	8,20E+14	1,71E+15	2,50E+15	8,02E+14	2,34E+15	7,73E+14
alcoli	1,55E+15	1,81E+15	2,41E+15	3,51E+15	4,86E+15	4,19E+15	3,61E+15	1,62E+15
furani	1,63E+14	1,51E+15	8,48E+14	5,14E+14	5,09E+14	7,55E+14	4,85E+14	9,02E+14
acidi	9,67E+14	4,17E+14	1,04E+15	7,28E+14	1,50E+15	1,40E+15	9,85E+14	1,66E+15

Figura 4.1.4.1 - Andamento delle molecole volatili nei grissini commerciali mantenuti a 38°C-90% UR



	0	13	20	27	34
Aldeidi	2,15E+15	2,70E+15	3,77E+15	3,53E+15	3,13E+14
Chetoni	1,66E+15	2,56E+15	2,19E+15	3,79E+15	2,29E+14
Alcoli	3,69E+15	4,34E+15	3,16E+15	2,52E+15	5,94E+13
Terpeni/Monoterpeni	5,55E+15	2,73E+15	3,43E+15	3,66E+15	2,38E+14
Idrocarburi	1,02E+14	2,30E+15	2,06E+15	5,80E+14	4,33E+13
Furani/eterociclici	4,42E+14	1,58E+13	1,05E+15	1,73E+15	0
Acidi carbossilici	3,34E+14	0,00E+00	1,17E+15	3,35455E+15	4,37E+13
Eteri	2,75E+14	2,05E+15	0,00E+00	2,71E+15	0

Figura 4.1.4.2 - Andamento molecole volatili dei grissini con Limnospira mantenuta a 38°C-90% UR



	0	12	21	28	35
Aldeidi	3,89E+15	4,97E+15	4,49E+15	4,73E+15	2,42E+15
Chetoni	2,74E+15	2,99E+15	2,41E+15	4,07E+15	3,46E+15
Alcoli	2,21E+15	4,06E+15	3,55E+15	3,63E+15	3,55E+15
Composti solforati	3,37E+14	3,84E+14	2,81E+14	1,21E+15	4,13E+14
Idrocarburi	1,04E+15	3,78E+15	1,73E+15	2,87E+15	2,39E+15
Composti eterociclici aromatici	5,07E+14	4,42E+14	6,49E+14	4,72E+14	1,23E+15
Acidi carbossilici	3,69E+14	6,61E+14	1,77E+15	1,96E+15	3,37E+15
Eteri	0,00E+00	0,00E+00	1,13E+15	4,34E+14	1,22E+15

Figura 4.1.4.3 - Andamento molecole volatili dei grissini con Ulva mantenuta a 38°C-90%UR

4.1.5 Prove meccaniche sui grissini commerciali

Le prove meccaniche sono state condotte per ottenere misure oggettive e quantificabili della consistenza dei campioni e metterle in relazione diretta con i parametri igroscopici. Esse forniscono punti di confronto analitici con le valutazioni sensoriali dei parametri principali che caratterizzano i prodotti da forno come i grissini, quali friabilità e croccantezza, e permettono di quantificare in che misura l'assorbimento di umidità modifica le proprietà strutturali del grissino. Nella curva di frattura si riconoscono due indicatori chiave: il primo picco, che segnala la forza necessaria per innescare la rottura iniziale della superficie, ed è strettamente correlato alla friabilità percepita; e la forza massima di rottura (Fmax), che rappresenta la sollecitazione richiesta per provocare la rottura completa del campione e descrive quindi la resistenza complessiva della matrice, intesa come durezza e croccantezza. Lo spostamento al punto di Fmax (dLFmax) indica la deformabilità prima della rottura: un suo aumento segnala che il prodotto sopporta

maggiore deformazione prima di cedere, evidenziando una perdita della resistenza meccanica. I risultati raccolti sui grissini commerciali mostrano un aumento progressivo di questi parametri con il progredire della conservazione (Figura 4.1.5.1 e 4.1.5.2), coerente con gli incrementi osservati nei risultati delle analisi descritte precedentemente: l'umidità assorbita plasticizza la matrice farinacea, riduce la friabilità e rende la struttura più compatta e deformabile. Nella figura 4.1.5.3 si può osservare un confronto tra i profili meccanici al tempo iniziale (T0) e dopo 58 giorni di conservazione in condizioni accelerate (ASLT; 38°C, 90% UR): si noti come la deformazione (dLFmax) aumenta nel tempo confermando una perdita della resistenza meccanica, ulteriormente provata dall'aumento della forza massima (Fmax) necessaria alla rottura del grissino, dovuto appunto, all'assorbimento di umidità da parte dell'ambiente circostante. Tale correlazione tra dati meccanici e parametri igroscopici consente di collegare in modo quantitativo le misure strumentali alle percezioni sensoriali e fornisce indicatori utili per la modellazione della shelf life.

Le prove meccaniche non sono state eseguite sui grissini sperimentali perchè la produzione manuale in laboratorio, priva di sistemi standardizzati, introduceva variabilità (spessore, porosità, uniformità di cottura) tale da compromettere la ripetibilità e la confrontabilità dei dati meccanici; per questi campioni, dunque, le osservazioni igroscopiche restano le principali evidenze a supporto delle conclusioni.

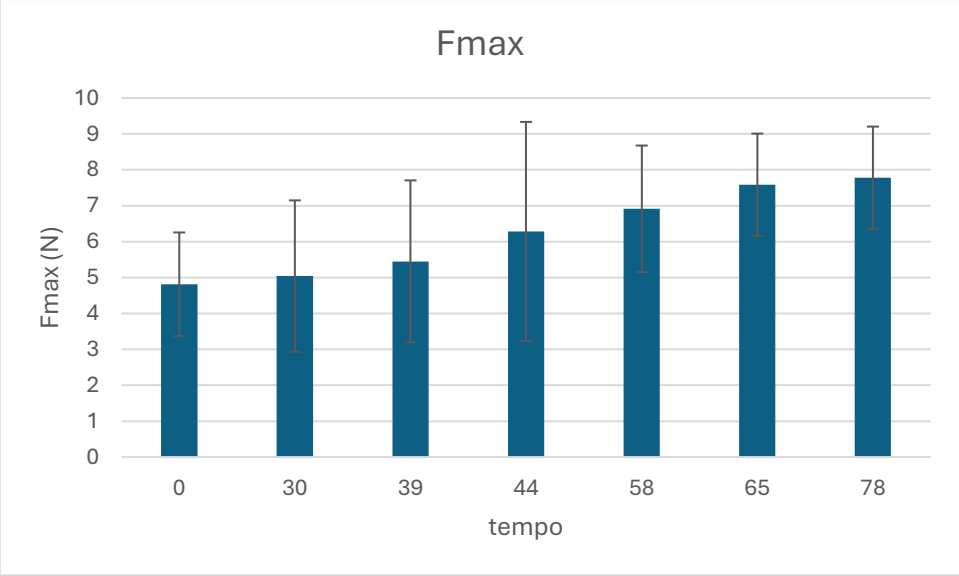


Figura 4.1.5.1 - Andamento Fmax (38°C-90% UR)

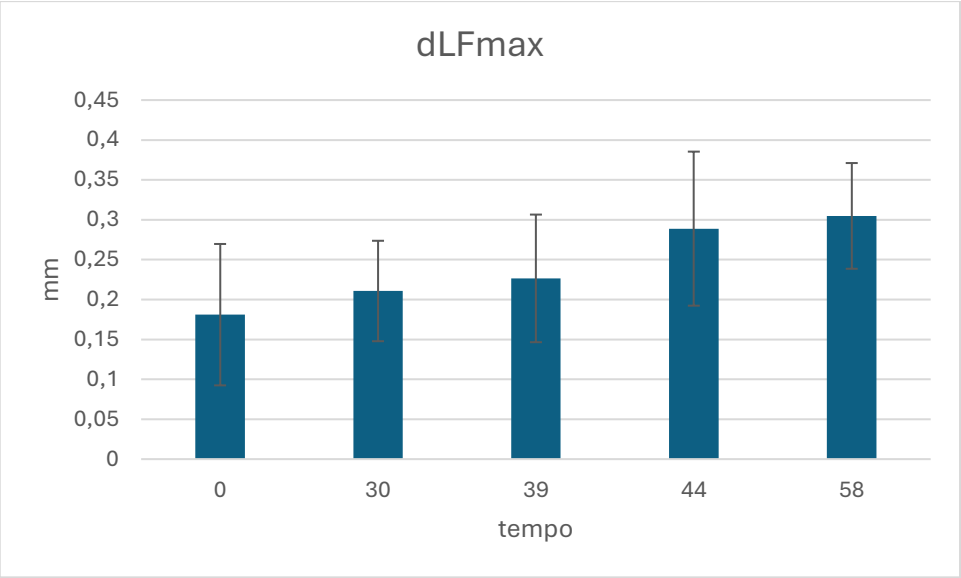


Figura 4.1.5.2 - Andamento dL Fmax (38°C-90% UR)

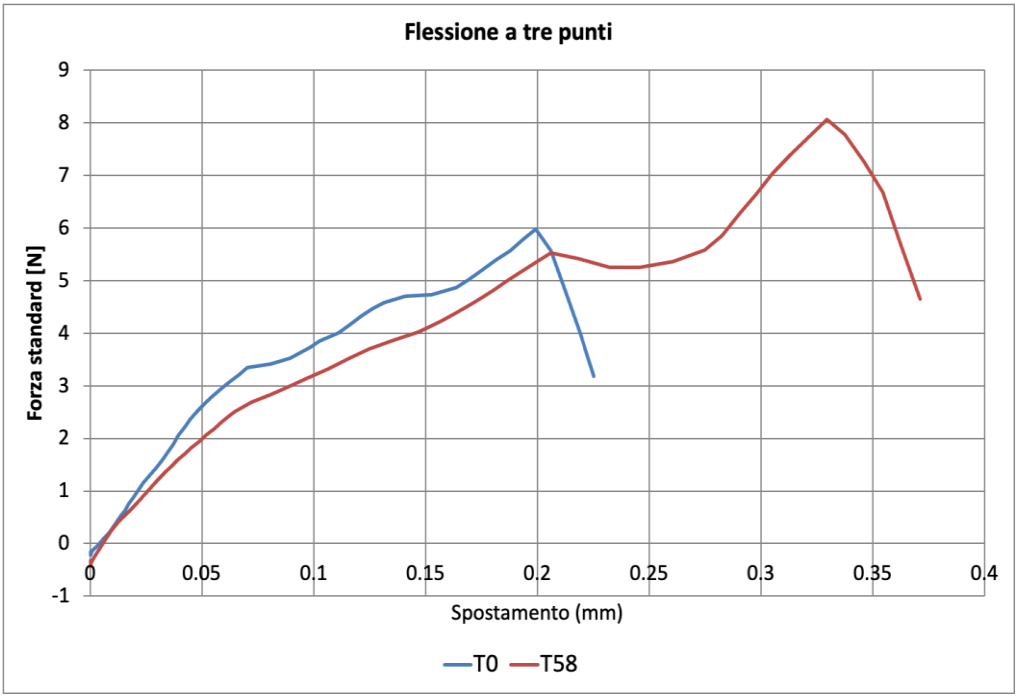


Figura 4.1.5.3 - Confronto dei profili meccanici T0 e T58 (38°C-90%UR)

4.1.6 Valutazione del colore dei grissini sperimentali

L'analisi del colore è stata condotta sui grissini sperimentali al fine di monitorare l'evoluzione dell'intensità cromatica durante la conservazione. Il colore rappresenta infatti un parametro sensoriale primario, fondamentale per

l'accettabilità del prodotto da parte dei consumatori, e l'aggiunta di alghe modifica significativamente la tonalità dei grissini, conferendo sfumature verdi di diversa intensità a seconda della tipologia: l'introduzione dell'alga Spirulina genera un verde più intenso, mentre la Lattuga di mare conferisce una tonalità più tenue. I risultati strumentali hanno evidenziato cambiamenti distinti tra le due tipologie di alga. Nei campioni con Spirulina, la variazione della luminosità (ΔL*) è risultata positiva (Figura 4.1.6.1) indicando un progressivo schiarimento del colore e una perdita di saturazione della componente verde. Contestualmente, Δa* è anch'esso positivo (Figura 4.1.6.2), segnalando uno spostamento verso tonalità più rosse e una diminuzione dell'intensità del verde, mentre Δb* mostra un incremento della componente gialla (Figura 4.1.6.3), tipica della base del grissino. Complessivamente, il colore tende quindi a virare dal verde intenso a sfumature più calde e meno sature.

Nei campioni con Lattuga di mare, invece, le variazioni sono state più contenute: ΔL* mostra un incremento limitato (Figura 4.1.6.4), indicando una maggiore stabilità luminosa, ma pur sempre un andamento positivo indicando uno schiarimento meno marcato, mentre Δa* mostra un andamento pressocché invariato (Figura 4.1.6.5), Δb* mostra un incremento leggermente positivo correlato all'ingiallimento (Figura 4.1.6.6). Questi risultati strumentali possono essere comparati con i risultati ottenuti dalla valutazione sensoriale. L'analisi del colore non solo permette di quantificate in modo oggettivo le variazioni visive legate alla tipologia di alga, ma fornisce un parametro strumentale complementare alle osservazioni sensoriali e agli altri indicatori di shelf life, come l'assorbimento di umidità, contribuendo ad una valutazione completa della stabilità e dell'accettabilità dei grissini durante la conservazione.



Figura 4.1.6.1 - Variazione del parametro L in grissini con Limnospira (38°C-90% UR)*

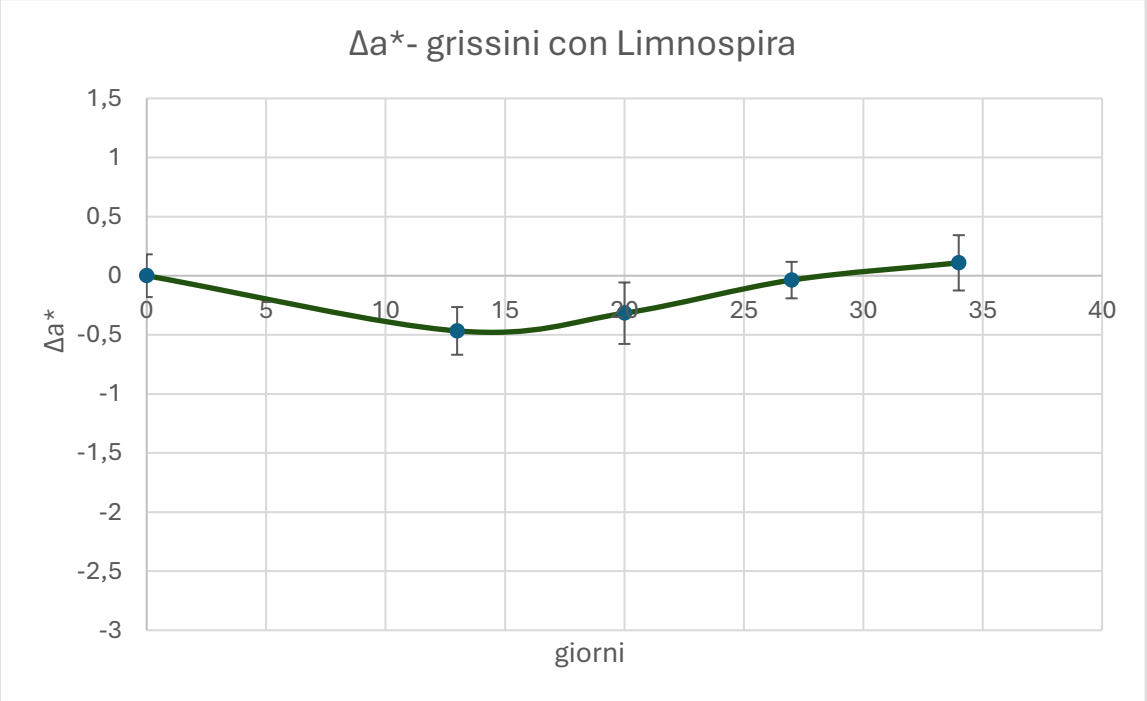


Figura 4.1.6.2 -Variazione del parametro a in grissini con Limnospira (38°C-90% UR)*



Figura 4.1.6.3 - Variazione del parametro b in grissini con Limnospira (38°C-90% UR)*

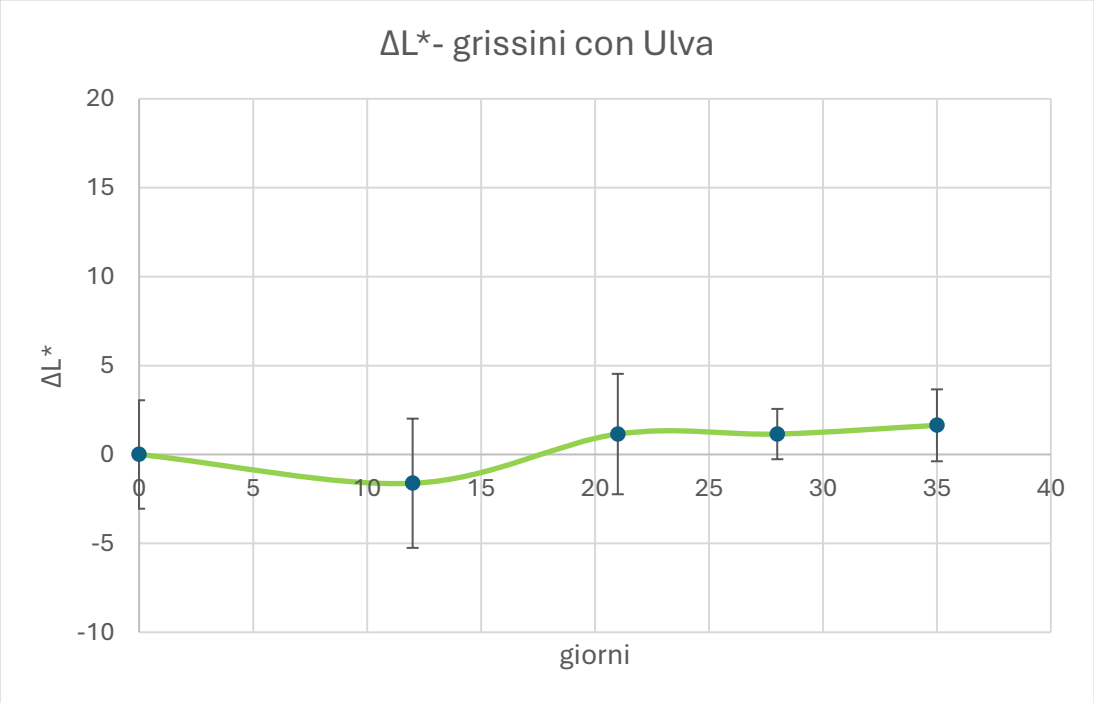


Figura 4.1.6.4 - Variazione del parametro L in grissini con Ulva (38°C-90% UR)*

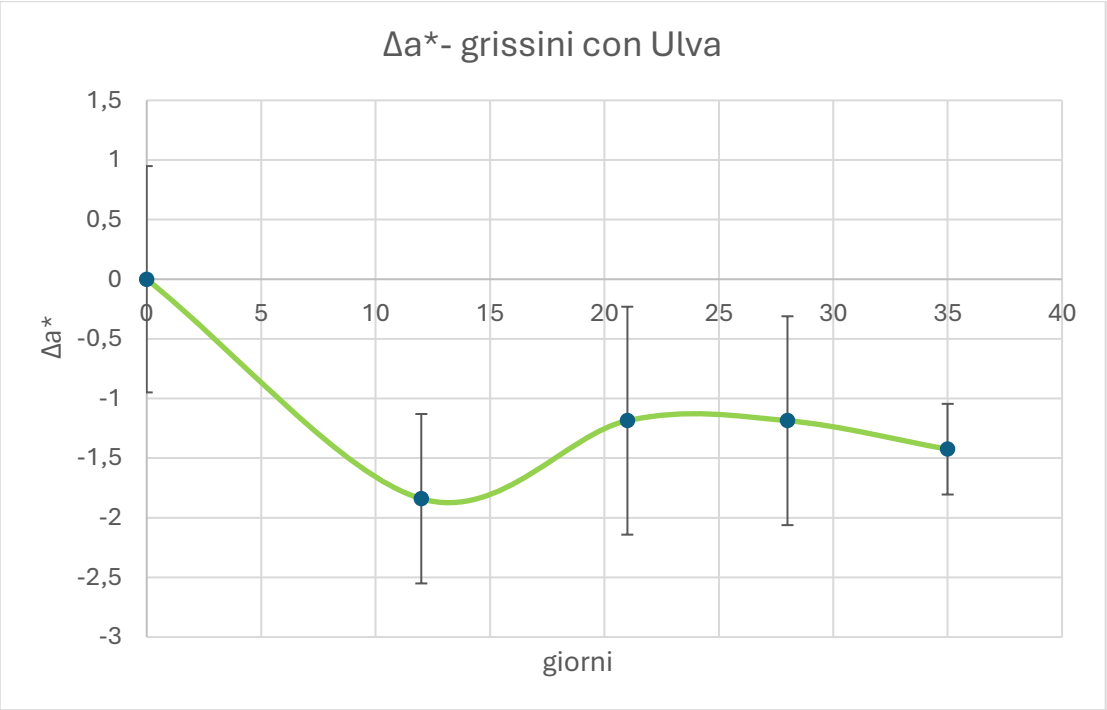


Figura 4.1.6.5 - Variazione del parametro a in grissini con Ulva (38°C-90% UR)*

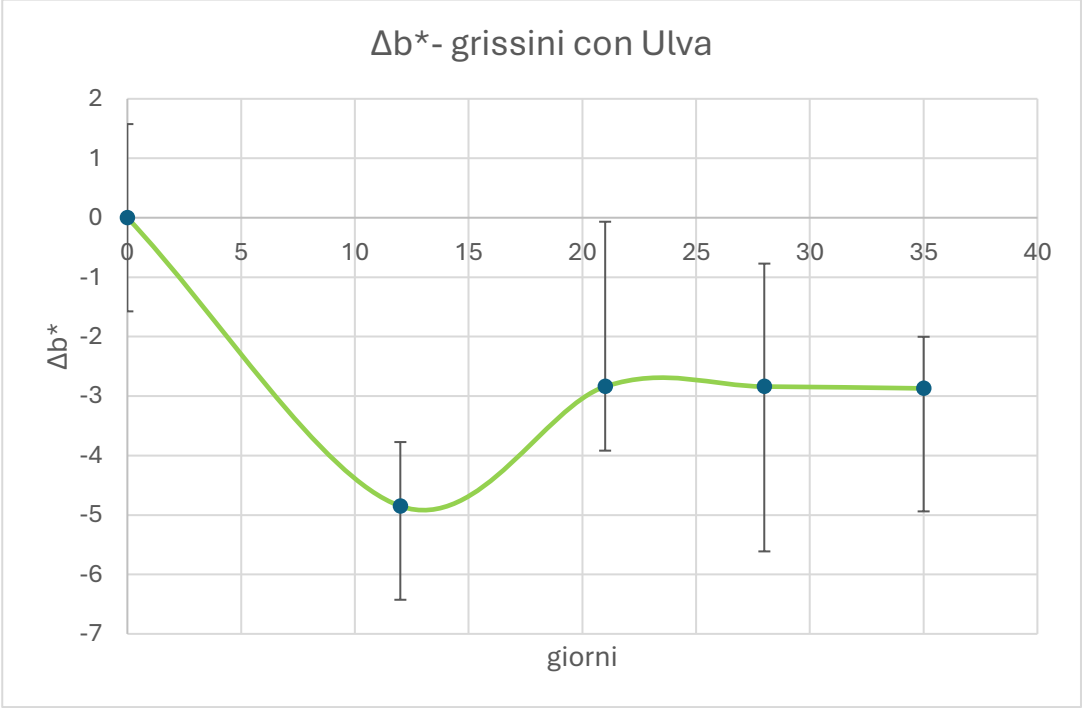


Figura 4.1.6.6 -Variazione del parametro b in grissini con Ulva (38°C-90% UR)*

4.1.7 Analisi sensoriali

Le prove sensoriali sui prodotti da forno sono fondamentali per valutare come le caratteristiche fisico-chimiche influenzino la percezione del consumatore. In questa sperimentazione, l'analisi sensoriale è stata condotta per correlare i dati strumentali, come l'attività dell'acqua (a_w) e contenuto umido (M; gH2O/ g ss), con l'accettabilità del prodotto, consentendo di identificare il momento in cui la perdita di friabilità, croccantezza e l'insorgere di difetti aromatici (off-flavours) rende i grissini non più graditi o al limite di accettabilità. Questo approccio fornisce informazioni chiave per la determinazione della shelf life sensoriale e permette di integrare i dati oggettivi con le percezioni da parte dei consumatori. Per i grissini commerciali, le prove hanno evidenziato un progressivo decadimento delle caratteristiche qualitative durante la conservazione (Figura 4.1.7.1). Si è osservata una riduzione significativa della friabilità e della croccantezza, accompagnata da un incremento della durezza e della percezione di rancidità. Tali fenomeni sono riconducibili all'assorbimento di umidità da parte del prodotto, che riduce la fragilità della matrice farinacea rendendo i grissini più compatti e resistenti alla rottura (Alamprese et al., 2017), come confermato dalle analisi meccaniche. A partire dal tempo T65 è emersa anche la percezione dello stantio, difetto tipicamente associato alla perdita di freschezza nei prodotti da forno. È interessante notare la correlazione inversa tra croccantezza e durezza: prodotti più croccanti non sono necessariamente più duri, ma si rompono facilmente in frammenti, mentre l'aumento della durezza è indice di una struttura più compatta e meno friabile (Giuffré et al., 2023). L'accettabilità complessiva è calata rapidamente a partire dal tempo T58, quando circa il 20 % dei giudici ha valutato i grissini come "accettabili" (Figura 4.1.7.2). Poiché al controllo precedente (T51) l'accettabilità era ancora significativamente elevata (> 75%), si considera che il prodotto abbia raggiunta il valore critico proprio a quel tempo di conservazione, con un contenuto umido critico pari a 0.0915 g H_2O/g SS.

Le prove sensoriali sui grissini sperimentali hanno mostrato un andamento simile, seppur con alcune differenze legate alla tipologia di alga. Nei campioni con Ulva, il colore verde è risultato più intenso a tempo T0, per poi diminuire significativamente già dai primi tempi, stabilizzandosi nei periodi successivi. Gli aromi di stantio e

rancido sono aumentati progressivamente, superando la soglia di accettabilità negli ultimi tempi, mentre friabilità e durezza hanno subito un calo marcato solo nelle fasi finali; la croccantezza, invece, ha iniziato a diminuire già a metà della conservazione (Figura 4.1.7.3). Nei campioni con Limnospira, il colore è rimasto relativamente stabile, mentre gli aromi di stantio sono aumentati a partire dal secondo tempo (T1= 12 giorni), superando la soglia di accettabilità a tempo T4 (35 giorni). Friabilità, croccantezza e durezza sono rimaste invariate fino a T3 (27 giorni), per poi diminuire bruscamente (Figura 4.1.7.4).

Questi cambiamenti sensoriali sono direttamente riconducibili all'assorbimento dell'umidità, responsabile della riduzione delle caratteristiche meccaniche e sensoriali e all'ossidazione dei lipidi presenti nei campioni commerciali, sia in quelli sperimentali, che determina l'insorgenza di aromi rancidi o stantii.

Considerando per questi grissini un decadimento non più accettabile quando la variazione dei punteggi attribuiti ai diversi parametri considerati è maggiore di 2 (indicatore scelto dal laboratorio che ha eseguito le prove), si può giungere anche nel caso dei due grissini sperimentali all'individuazione del tempo di conservazione limite, pari a circa 27/28 giorni per entrambe le tipologie e quindi ricavare il contenuto umido critico corrispondente a quel tempo:

grissini con Limnospira: M critico pari a 0.0998 g H_2O/g SS

grissini con Ulva: M critico pari a 0.1026 g H_2O/g SS

Questi dati confermano come le prove sensoriali siano essenziali per integrare le analisi strumentali e per comprendere l'impatto dei fenomeni igroscopici e ossidativi sulla percezione del consumatore.

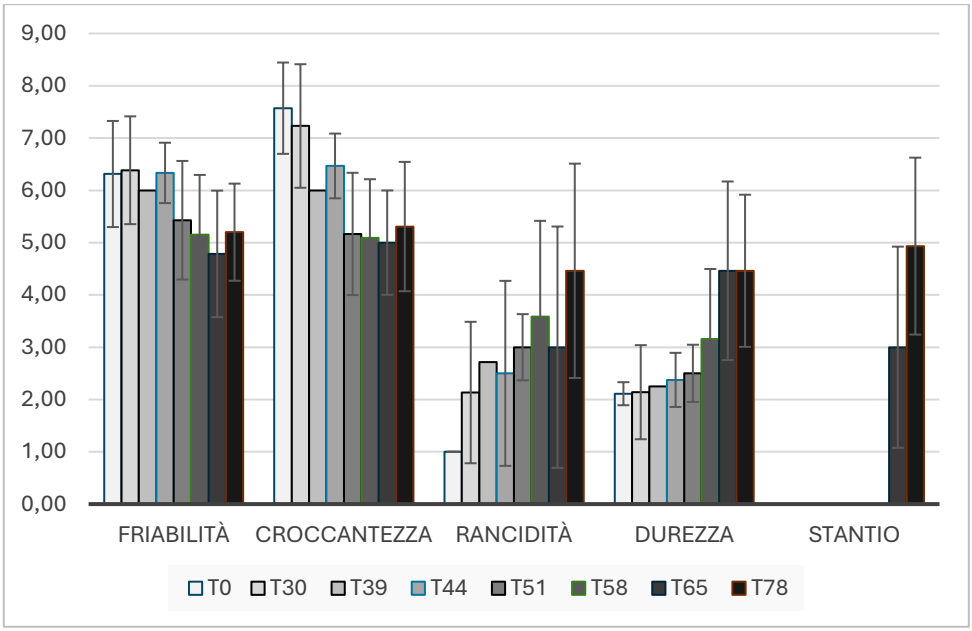


Figura 4.1.7.1 - Risultati analisi sensoriale dei grissini commerciali (38°C-90% UR)

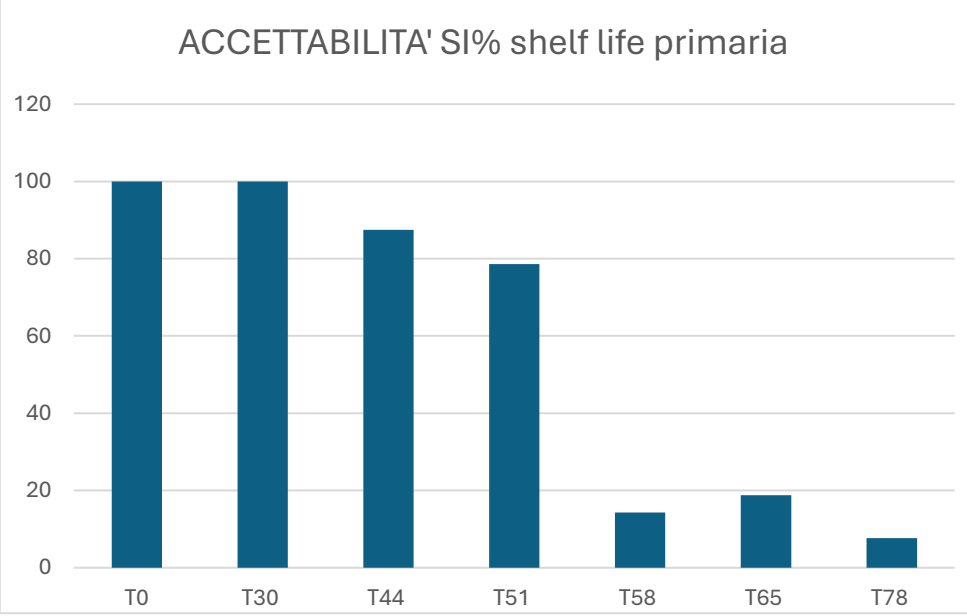


Figura 4.1.7.2 - Percentuale di accettabilità durante la conservazione (38°C-90%UR)

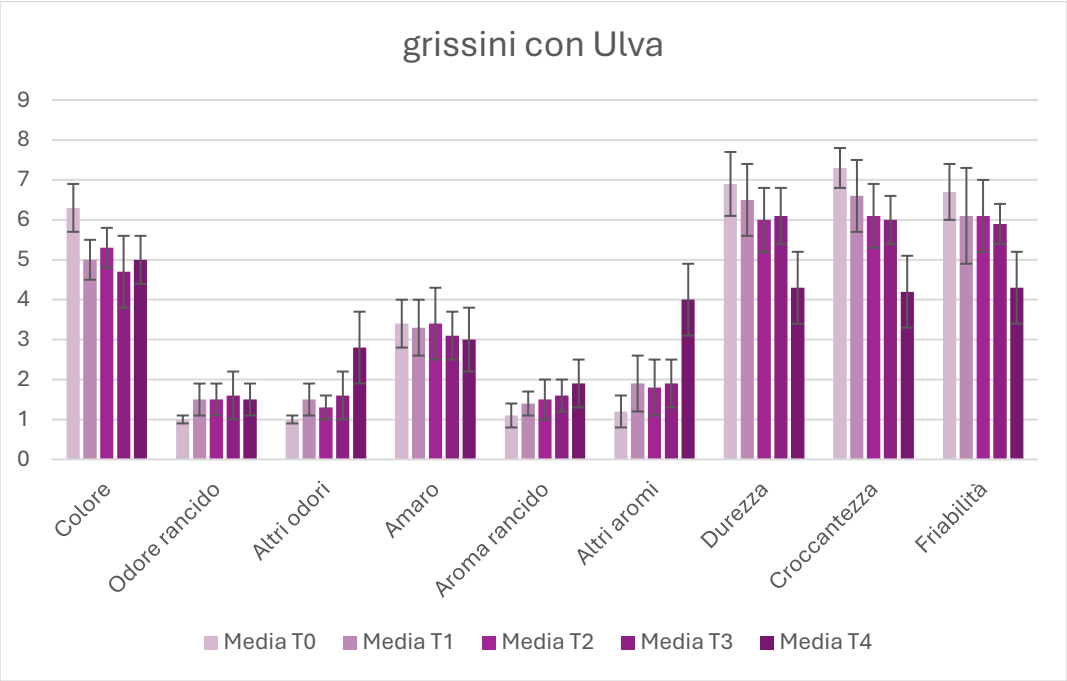


Figura 4.1.7.3 - Risultati analisi sensoriale dei grissini con Ulva (38°C-90%UR)



Figura 4.1.7.4 - Risultati analisi sensoriale sui grissini con Limnospira (38°C-90% UR)

4.2 Applicazione del modello di isoterma linearizzata di Labuza

La shelf life di alimenti sensibili agli scambi di umidità può essere prevista anche tramite l'applicazione di modelli matematici in cui si inseriscono e rapportano tra loro tutte le variabili del triplice sistema "ambiente/confezione/alimento". In questo lavoro di tesi si è considerato il modello proposto da Labuza (1970) i cui

presupposti teorici sono stati discussi nella parte introduttiva (§ 1.4.2) e di seguito riportato

$$t_{sl} = \frac{l \cdot b \cdot W_S}{K_{PH_2O} \cdot A \cdot WVP_0} \cdot \ln\left(\frac{m_e - m_c}{m_e - m_i}\right)$$

dove

t_{sl} = *shelf life prevista del prodotto (giorni)*

l= spessore del materiale di confezionamento (mm)

b= coefficiente angolare della isoterma linearizzata (dM/da_w)

W_s = *solidi secchi totali presenti nella confezione (g)*

K_{PH2O} = *permeabilità al vapor d'acqua del materiale di confezionamento (g mm m^{-2} $giorno^{-1}Pa^{-1}$)*

A = superficie totale della confezione (m^2)

WVPo = pressione del vapor d'acqua a una temperatura considerata (Pa)

M_e = *contenuto umido del prodotto che si trova in equilibrio con la UR% ambientale (g H_2O/ gSS)*

M_c = *contenuto umido critico (fine dell'accettabilità) (g H_2O/ gSS)*

M_i = *contenuto umido iniziale del prodotto (g H_2O/ gSS)*

Per la risoluzione matematica del modello diventa quindi indispensabile disporre dei valori accurati delle variabili in gioco, a iniziare dalla costruzione della isoterma dei tre prodotti esaminati

.

4.2.1 Costruzione dell'isoterma di assorbimento

La costruzione dell'isoterma di assorbimento descrive la relazione che per ogni alimento esiste tra il suo contenuto umido (M) e la sua attività dell'acqua (a_w). Attraverso prove sperimentali i campioni sono stati posti in equilibrio con diverse condizioni di umidità relativa controllata, determinando così il contenuto di umidità in equilibrio per ciascun valore di a_w. I dati ottenuti hanno permesso di tracciare le

isoterme di tutti i grissini oggetto della sperimentazione (Figura 4.2.1.1, 4.2.1.2 e 4.2.1.3).

Tutte e tre le isoterme seguono la forma a sigmoide, caratteristica della tipologia di prodotti di cui i grissini fanno parte: a base amidacea, con un contenuto umido iniziale molto basso e una struttura alveolata. Qualche differenza tuttavia si riscontra, confrontando a esempio l'isoterma dei grissini commerciali con quella dei grissini con Ulva: in questo ultimo caso, sembra che il prodotto abbia una minore capacità di assorbimento del vapor d'acqua nell'intervallo di a_w compreso tra 0.6 e 0.9. Tuttavia, questo tratto dell'isoterma non è di interesse per il presente lavoro, in quanto il limite di accettabilità teorico è inferiore e pari al massimo a una attività dell'acqua di 0.5.

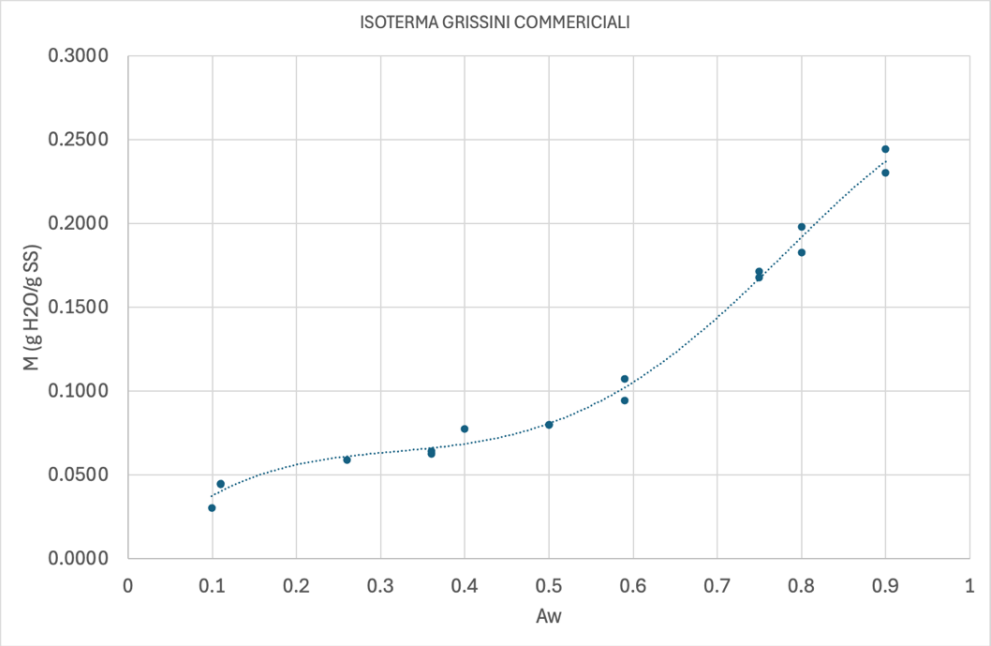


Figura 4.2.1.1 – Isoterma dei grissini commerciali

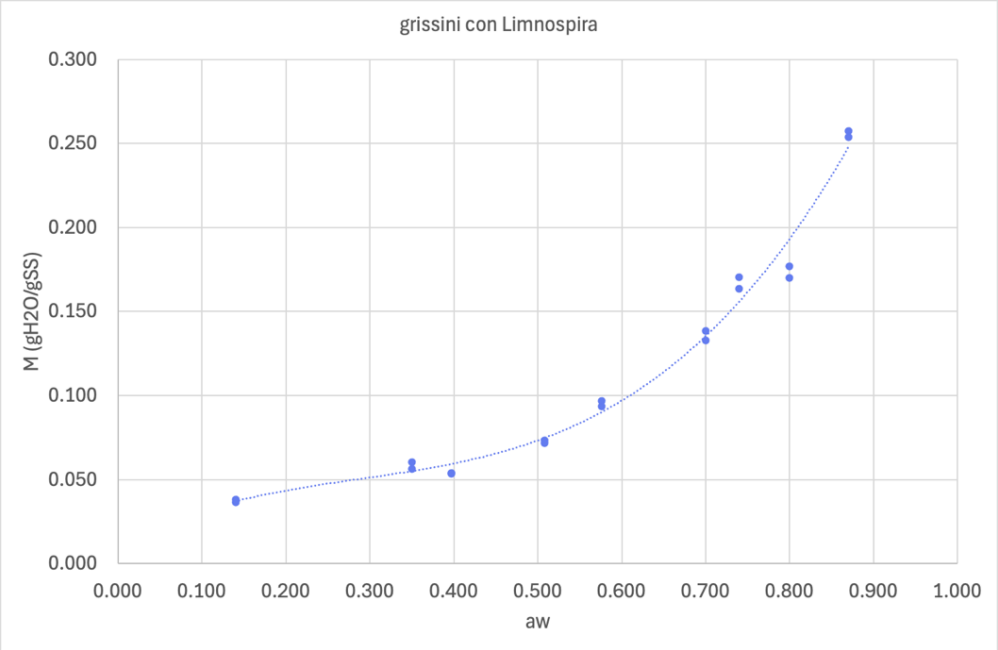


Figura 4.2.1.2 - Isoterma dei grissini con Limnospira

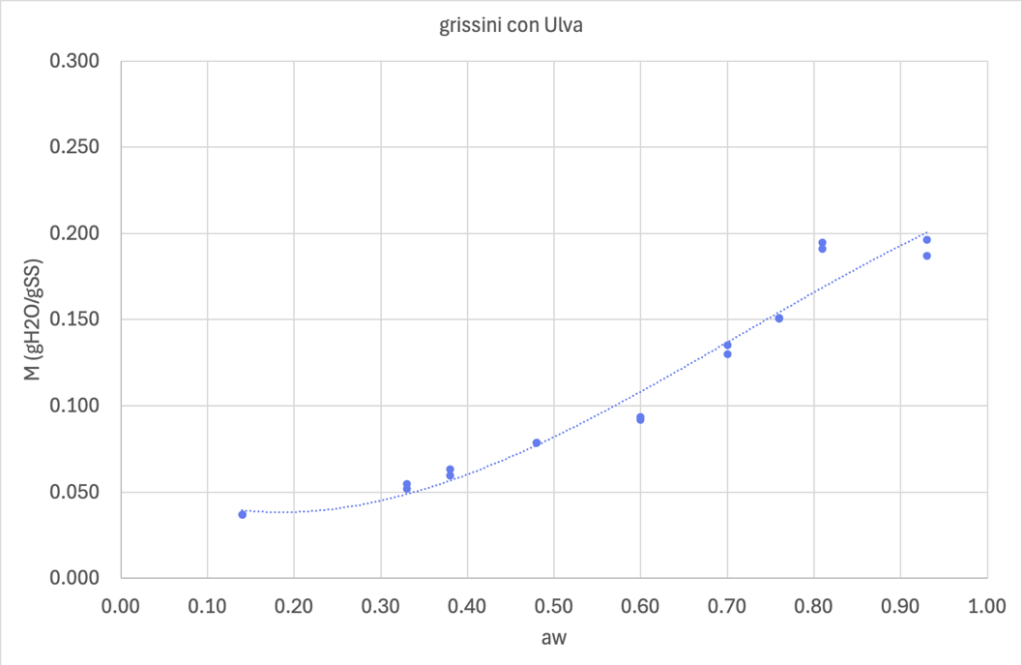


Figura 4.2.1.3 - Isoterma dei grissini con Ulva

Il modello proposto da Labuza prevede la linearizzazione dell'isoterma nel tratto compreso tra il contenuto umido iniziale (M_0) e quello critico per il prodotto (M_c). Questi due dati sono stati ricavati sperimentalmente il primo e dalla prima parte della sperimentazione il secondo (Figura 4.2.1.4)

Nella seguente tabella si riportano i valori dei due parametri per i tre grissini

parametro	Grissini commerciali	Grissini con Limnospira	Grissini con Ulva
M_0 (g H_2O/g SS)	0.0304	0.0305	0.0312
M_c (g H_2O/g SS)	0.0915	0.0998	0.1026

Tabella 4.2.1.1

In figura si mostra a titolo di esempio la linearizzazione dell'isoterma dei grissini

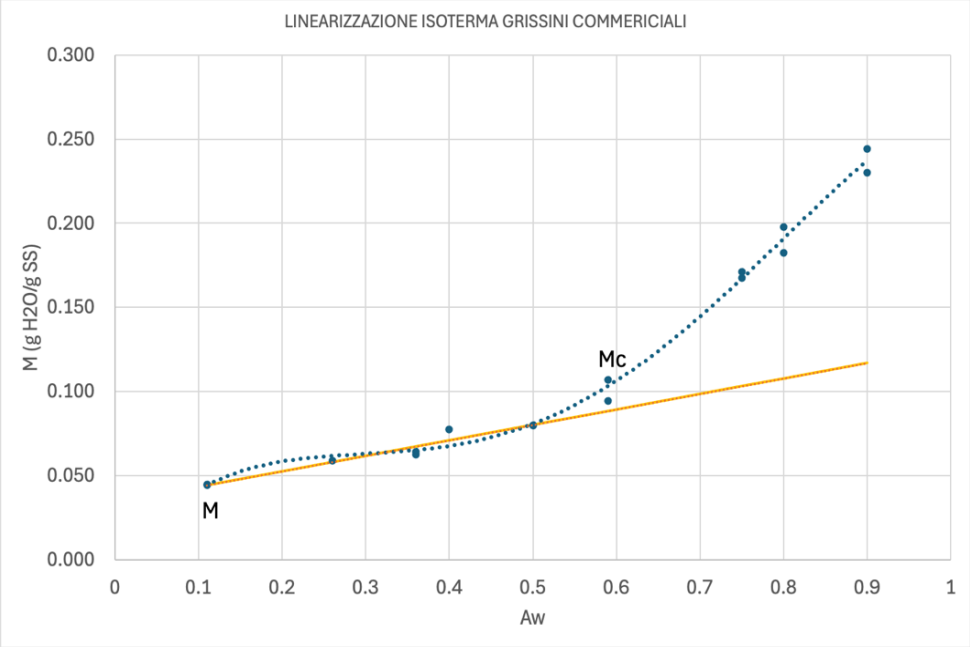


Figura 4.2.1.4 - Linearizzazione dell'isoterma dei grissini commerciali (38°C-90% UR)

commerciali

La procedura è stata ripetuta anche per quelli con le "alghe" e nella tabella seguente si riportano i valori del coefficiente angolare delle rette ottenute

Grissini	Pendenza della retta (b) (dM/da_w)
commerciali	0.1113
con Limnospira	0.1088
con Ulva	0.1130

Tabella 4.2.1.2

Il coefficiente b, ottenuto dalla linearizzazione dell'isoterma, non ha evidenziato differenze significative tra i campioni, che sembrano quindi avere un comportamento perfettamente confrontabile nei confronti degli scambi di umidità con l'ambiente circostante.

4.2.2 Determinazione della Water Vapor Transmission Rate (WVTR)

Accanto alle proprietà igroscopiche del prodotto, il modello considera le caratteristiche del sistema di confezionamento, che influenzano in maniera determinante il trasferimento di vapore acqueo.

In questo studio, i grissini commerciali e i grissini sperimentali arricchiti con le due tipologie di alga si presentano confezionati in sistemi differenti: nei grissini commerciali il confezionamento prevede un sistema a doppia barriera, caratterizzato da un packaging secondario (multipack) contenente al suo interno più unità di grissini confezionati singolarmente in monoporzioni (monopack) che fungono da packaging primario; al contrario, i grissini sperimentali sono stati confezionati esclusivamente in monoporzioni, prive del multipack esterno. In questo caso, è bene considerare che il sistema è costituito da una sola barriera. Questa differenza si riflette nei valori di WVTR, che misura la quantità di vapore che attraversa l'unità di superficie del film in un giorno, in condizioni controllate di temperatura e umidità. I grissini commerciali hanno mostrato un valore di WVTR pari a 1,42 g/m^2 · giorno (a 38° C, 90% UR), mentre i prototipi sperimentali hanno registrato un valore di 5 g/m^2 · giorno nelle stesse condizioni.

Di seguito si riportano i valori di WVTR (g m^{-2} $giorno^{-1}$) a 38°C e 90% UR calcolati per le due tipologie di confezionamento

Monopack in multipack (grissini commerciali) WVTR = 1.40 (Figura 4.2.2.1)

Monopack grissini sperimentali = 5.00 (Figura 4.2.2.2)

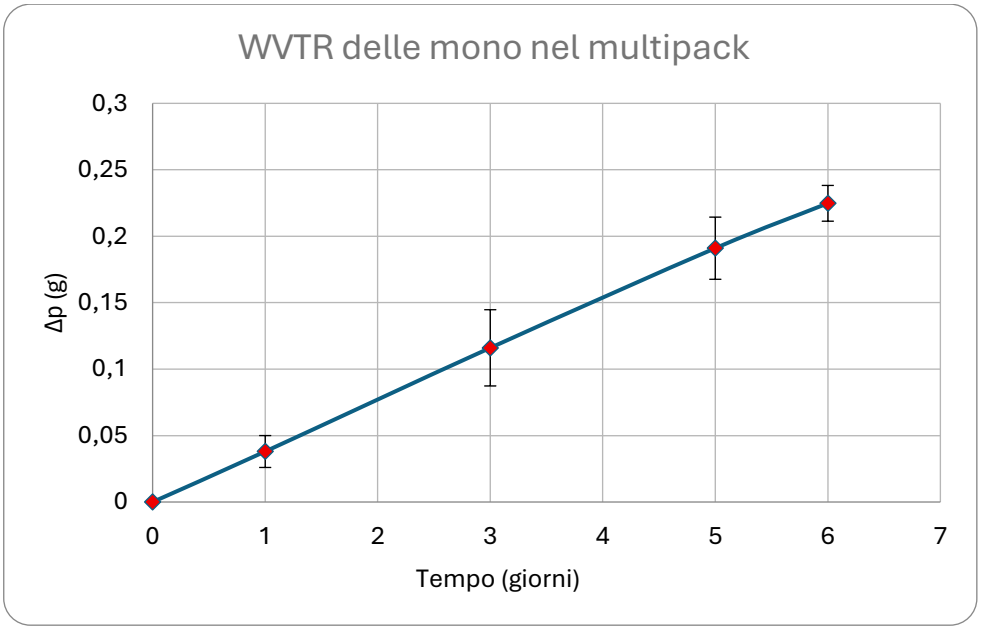


Figura 4.2.2.1 - WVTR mono+multi dei grissini commerciali (38°C-90%UR)

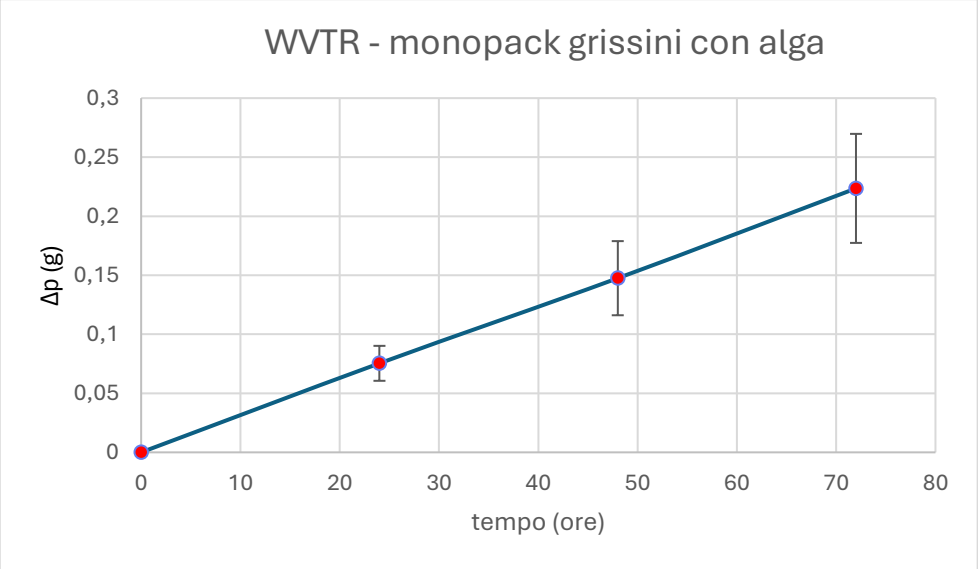


Figura 4.2.2.2 - WVTR monopack dei grissini con alga (38°C-90%UR)

Per essere impiegati nel modello, i valori di WVTR sono stati normalizzati rispetto alla forza motrice del processo (differenza di pressione parziale di vapore), ottenendo così il parametro P/L. In aggiunta, la geometria della confezione (area di scambio A) e il peso secco del campione (W_s) contribuiscono a determinare la quantità totale di umidità trasferibile attraverso il packaging. La pressione di vapore saturo dell'acqua a 38°C (P_0) completa il quadro dei parametri fisici necessari (Tabella 4.2.2.1).

L'integrazione di questi dati con i parametri derivati dalle isoterme permette di simulare la dinamica dell'assorbimento e di stimare il tempo (t_{sl}) in cui il contenuto di umidità del prodotto raggiungerà la soglia critica M_c.

Parametri modello di Labuza	Grissini commerciali	Limnospira	Ulva
Mo	0.0304	0.0305	0.0313
Mc	0.0915	0.0998	0.1026
Me (da isoterma)	0.1296	0.1169	0.1210
P/L (g m^{-2} giorno^{-1} Pa^{-1})	0.000235 [1]	0.000718 [2]	0.000718 [2]
A (m^2)	0.0265	0.014	0.014
WS (g)	19.54 [3]	9.703 [4]	9.703 [4]
Po (Pa) 38°C	6631.5	6631.5	6631.5
b	0.1113	0.1088	0.1130

Tabella 4.2.2.1. - Raccolta dei dati prodotti per il loro inserimento nel modello di Labuza

Legenda

1. valore calcolato a partire dalla WVTR del materiale utilizzato per i monopack mantenuti nel multipack
2. valore calcolato da quello di WVTR del materiale utilizzato per i monopack dei grissini con alghe
3. sostanza secca totale (peso prodotto x frazione in massa di solidi) dei grissini commerciali all'interno delle monoporzioni
4. sostanza secca totale (peso prodotto x frazione in massa di solidi) dei grissini sperimentali all'interno delle monoporzioni

Introducendo nel modello proposto da Labuza i valori delle variabili considerate per le tre tesi sperimentali, si ottengono le stime di shelf life (tempo necessario al raggiungimento del valore critico di contenuto umido) riportate in tabella 4.2.2.2.

Grissini	Shelf life stimata dal modello (giorni)	Shelf life sperimentale
commerciali	50	51
con Limnospira	26	27
con Ulva	30	28

Tabella 4.2.2.2

I valori ottenuti non si discostano di molto da quanto osservato sperimentalmente nella prima parte della discussione dei risultati, a riprova che, se le variabili considerate sono valutate correttamente e preventivamente, la modellazione matematica diventa un utile strumento di screening per valutare cambi di packaging (materiale e/o dimensioni della confezione), cambi di ricetta e/o di processo (che modificano l'isoterma del prodotto, ad esempio).

4.3 Shelf life secondaria: il caso dei grissini commerciali

La valutazione della shelf life secondaria (SSL) assume particolare rilevanza nel caso dei grissini commerciali confezionati in un sistema a doppia barriera (multipack esterno contenente le monoporzioni). Una volta rimossa la protezione del multipack, le singole unità restano esposte direttamente all'ambiente, condizione che accelera i fenomeni di scambio di umidità e determina un progressivo aumento del contenuto umido del prodotto, con conseguente perdita delle caratteristiche qualitative e sensoriali. I campioni, già sottoposti a condizioni di invecchiamento accelerato in camera climatica (ASLT; 38°C, 90% UR) per la valutazione della shelf life primaria, hanno quindi proseguito l'esposizione in assenza della protezione aggiuntiva. In questo contesto, il modello di Dong Sun Lee è stato applicato per descrivere le cinetiche di incremento del contenuto umido e la conseguente perdita qualitativa, fornendo una stima predittiva della shelf life residua dei grissini.

4.3.1 Applicazione del modello di Dong Sun Lee

Per i grissini commerciali, particolarmente sensibili all'umidità, è stata applicata la formulazione proposta da Dong Sun Lee (2024), che rappresenta un'evoluzione del modello dell'isoterma linearizzata di Labuza. La logica di base è che, una volta aperto il multipack, le monoporzioni non partono più dal contenuto umido iniziale del prodotto (M_0), bensì da un valore intermedio (M_1), raggiunto durante la shelf life primaria sotto protezione del packaging. L'equazione che descrive la shelf life primaria (t_{SL}) in funzione delle variabili del sistema è:

$$t_{SL} = \frac{b}{K_1} ln \frac{M_e - M_0}{M_e - M_c}$$

dove K_1 è il termine che racchiude le variabili legate alle proprietà barriera del materiale, alla superficie della confezione, al peso secco del prodotto e alla tensione di vapore dell'acqua pura alla temperatura di prova.

Al momento dell'apertura, la protezione fornita dal multipack viene meno e la velocità di assorbimento dell'umidità aumenta, passando da K_1 a K_2. La shelf life residua dopo l'apertura (t_{SLOP}) si esprime quindi come:

$$t_{SLOP} = \frac{b}{K_2} ln \frac{M_e - M_1}{M_e - M_c}$$

Mettendo in relazione le due equazioni, e considerando che M_1 corrisponde allo stato del contenuto umido del prodotto al tempo di apertura (t_{op}), si ricava un'espressione adimensionale che lega la shelf life primaria e secondaria:

$$\frac{t_{SSL}}{t_{SL}} = \frac{1}{(K_2/K_1)} \cdot (1 - \frac{t_{op}}{t_{SL}})$$

Dove

t_{SSL} = shelf life secondaria (giorni)

t_{SL} = shelf life primaria (giorni), derivata dal modello di Labuza

K_2 = costante di variazione del parametro contenuto umido, dopo l'apertura della confezione

K_1 = costante di variazione del parametro contenuto umido, a confezione chiusa

t_{op} = giorni trascorsi dal confezionamento all'apertura della confezione

Questa relazione, come già anticipato nel paragrafo 1.4.4, permette di quantificare in maniera predittiva la riduzione della shelf life residua in funzione del momento di apertura del multipack e del rapporto tra i coefficienti K_2/K_1, che esprimono rispettivamente la velocità di assorbimento di umidità a confezione aperta e chiusa. L'applicazione ai grissini ha consentito di stimare il tempo necessario al raggiungimento del contenuto umido critico M_c dopo l'apertura del multipack, descrivendo quantitativamente la dinamica di deterioramento in assenza della doppia barriera di confezionamento.

Occorre quindi definire, secondo l'elaborazione proposta i due valori delle K, ricordando che

$$\frac{P}{L}\ A\frac{1}{Ws}\ Po = K$$

dove

P = permeabilità al vapor d'acqua del materiale (g m m^{-2} giorno^{-1} Pa^{-1})

L = spessore del materiale (mm)

Ws = peso secco totale del prodotto nella monoporzione (g)

Po = tensione del vapor d'acqua alla temperatura di conservazione (Pa)

4.3.2 Parametri di permeabilità e definizione della costante cinetica K_2

Accanto alle proprietà igroscopiche del prodotto, il modello considera in maniera determinante le caratteristiche del sistema di confezionamento, responsabili della velocità con cui l'umidità può attraversare il packaging.

Con la rimozione della barriera secondaria, la valutazione della SSL dei grissini commerciali è stata condotta considerando esclusivamente il contributo del monopack. In tale condizione, il valore di WVTR misurato è risultato pari a 3 g/m^2 · giorno (a 38°C, 90% UR) (Figura 4.3.2.1.). Per l'impiego nel modello, è stato

normalizzato rispetto alla differenza di pressione parziale di vapore, ottenendo il parametro P/L pari a 0,000503 g/m^2 · giorno Pa.

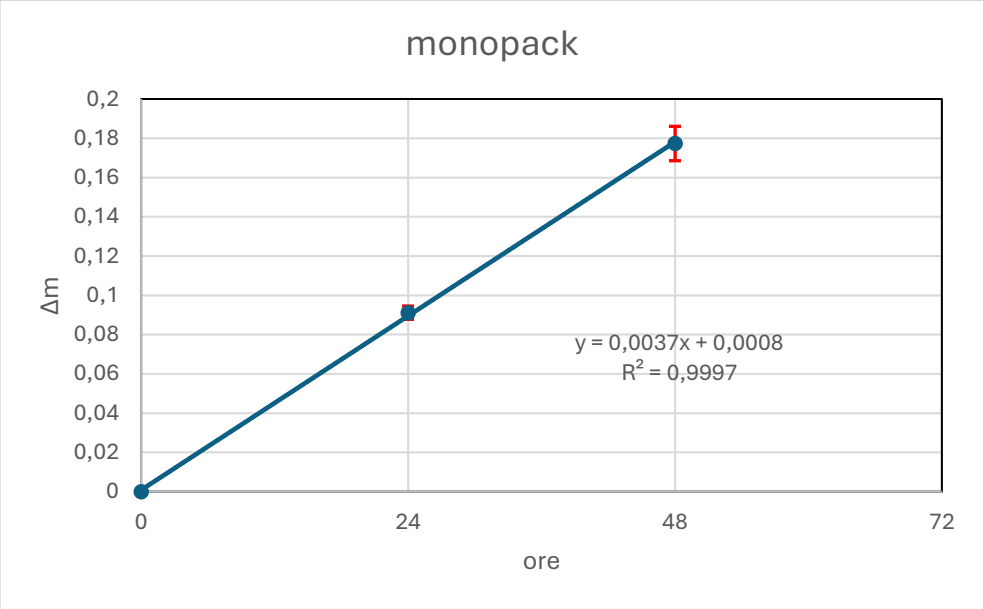


Figura 4.3.2.1 - WVTR monopack dei grissini commerciali (38°C-90%UR)

Questo valore è confluito nella definizione della costante cinetica K_2, che rappresenta la nuova velocità di assorbimento di umidità in assenza della protezione secondaria. L'aumento di permeabilità si traduce quindi in una maggiore rapidità di raggiungimento del contenuto umido critico (M_c), con conseguente riduzione della shelf life residua.

In tabella 4.3.2.1 sono riportati i valori sperimentali di tutte le variabili e nell'ultima riga il valore delle due K

Parametri per il calcolo della K	Shel life primaria	Shelf life secondaria
P/L (g m^{-2} giorno^{-1} Pa^{-1})	0.000237 [1]	0.000503 [2]
A (m^2)	0.0265	0.0265
WS (g)	19.54 [3]	19.54 [3]
Po a 38°C(Pa)	6631.5	6631.5
SL (giorni)	50[4]	X
	K_1 = 0.002147	**K_2 = 0.004545**

Tabella 4.3.2.1

1. valore calcolato da quello di WVTR del materiale utilizzato per i monopack dei grissini commerciali in multipack
2. valore calcolato da quello di WVTR del materiale utilizzato per i monopack dei grissini commerciali
3. sostanza secca totale (peso prodotto x frazione in massa di solidi) dei grissini commerciali all'interno delle monoporzioni
4. SL stimata per i grissini a multipack chiusa tramite il modello proposto da Labuza

Nella tabella seguente (Tabella 4.3.2.2) sono riportati i valori di shelf life secondaria (SSL) ottenuti applicando il modello per diversi tempi di apertura della confezione secondaria

Apertura della confezione (giorni)	10	15	30	40	50
Risultato del modello	0.38	0.33	0.19	0.09	0.00
giorni rimanenti dopo l'apertura (SSL)	**19**	**17**	**9**	**5**	**0**

Tabella 4.3.2.2

I risultati della tabella 2.0 sono riportati anche nella seguente figura (Figura 4.3.2.2)

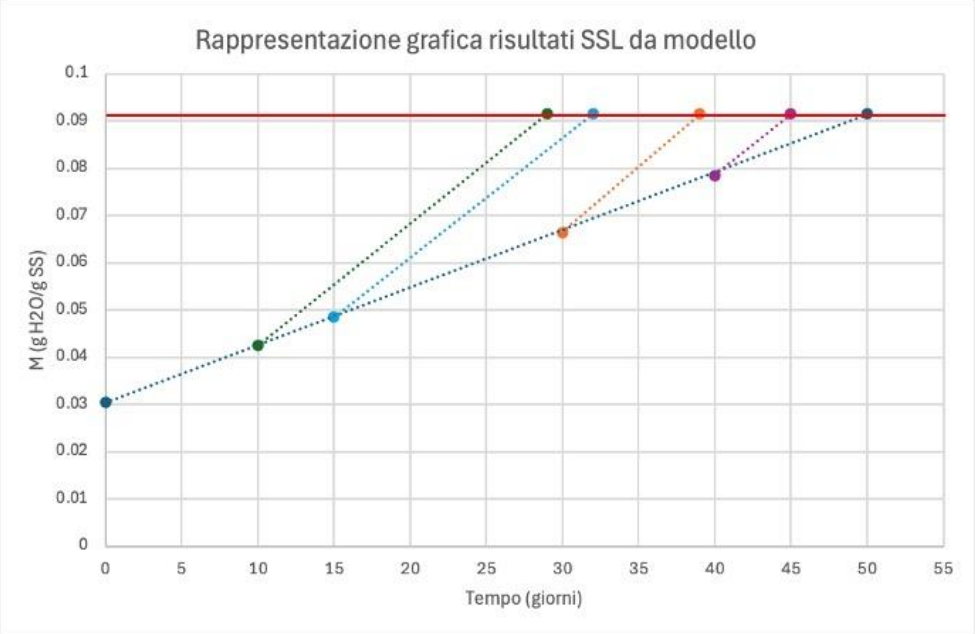


Figura 4.3.2.2 – Rappresentazione grafica dei risultati ottenuti dal modello di previsione della SSL

4.3.3. Confronto del modello con i dati sperimentali

Per valutare l'applicabilità del modello, è stato considerato il caso di apertura del packaging al tempo t_{po} di 30 giorni, l'obiettivo era stimare il tempo necessario affinché il prodotto raggiungesse il contenuto umido critico M_c di 0,0915 gH2O/gSS, oltre il quale la qualità non è più accettabile, definito nella valutazione della shelf life primaria.

Per rappresentare visivamente la dinamica del contenuto umido, è stato costruito un grafico a dispersione dei valori rilevati durante la shelf life primaria. Nel grafico, il punto corrispondente al tempo di apertura t_{po} di 30 giorni è evidenziato, mostrando come a partire da quel momento il contenuto umido del campione inizia la fase di shelf life secondaria (Figura 4.3.3.1).

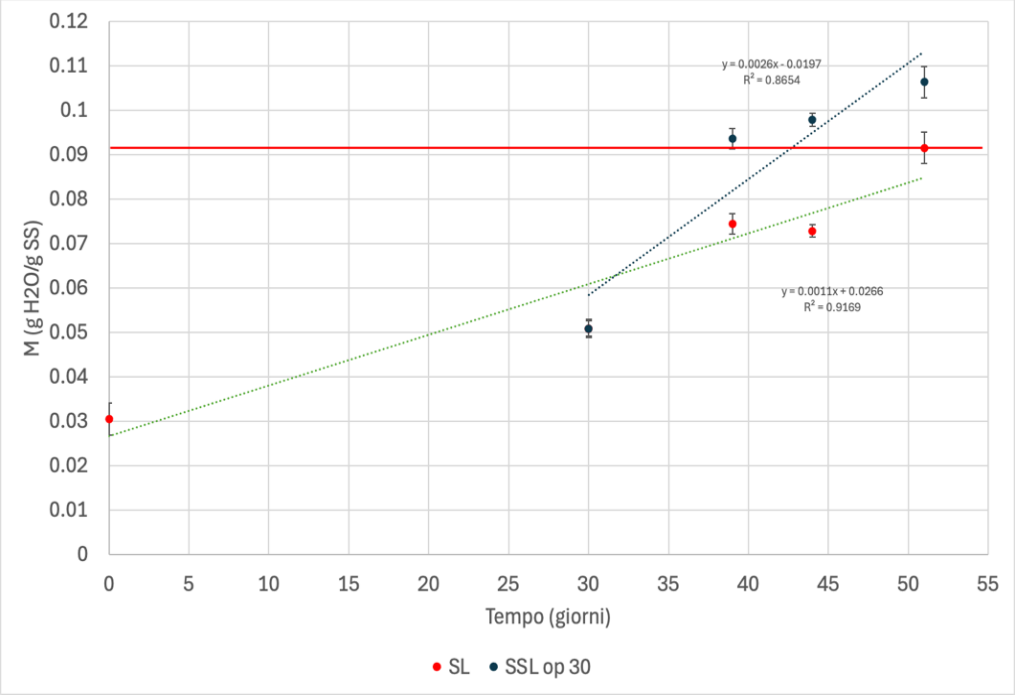


Figura 4.3.3.1 - Dinamica di assorbimento del contenuto umido in SSL

I dati sperimentai post-apertura indicano che il contenuto umido ha raggiunto il valore critico dopo circa 9 giorni. Questo risultato consente di osservare come, nonostante la rimozione della protezione offerta dalla confezione multipack, l'incremento di umidità all'interno del singolo monopack non sia immediato, ma segua una cinetica graduale. La previsione matematica del modello conferma la possibilità di stimare la shelf life residua, mostrando che la dinamica di incremento del contenuto umido può essere descritta in modo quantitativo e predittivo.

Il confronto evidenzia che il modello riproduce correttamente la tendenza generale della degradazione qualitativa post-apertura, anche se i valori numerici precisi possono differire leggermente dai dati osservati. Questa discrepanza è attribuibile a fattori sperimentali reali, come la resistenza interna del prodotto all'assorbimento di umidità, la geometria del monopack e l'interazione con l'ambiente, che non sono completamente catturati dal modello teorico.

In sintesi, l'applicazione del modello di Dong Sun Lee si conferma uno strumento utile per interpretare e prevedere la shelf life secondaria dei grissini commerciali, fornendo indicazioni quantitative sul tempo residuo prima che il prodotto raggiunga M_c e dimostrando la capacità del modello di guidare strategie di conservazione e gestione post-apertura.

5. Conclusioni

La presente tesi sperimentale aveva lo scopo di validare modelli predittivi sviluppati per stimare la shelf life primaria (PSL) di grissini sperimentali con aggiunta di "alghe" nella ricetta e di grissini commerciali prodotti da un'azienda locale di Reggio Emilia (RE) e, per questi ultimi, la cui confezione prevede l'assemblaggio di monoporzioni in una confezione multipack, anche la shelf life secondaria (SSL). Lo studio/verifica della PSL è una prassi comune per le aziende alimentari, anche per la necessità di indicare in etichetta il termine minimo di conservazione del prodotto (TMC), che si riferisce alla condizione di confezione ermeticamente chiusa. Una volta che la confezione originale viene aperta, come accade nel caso dei grissini commerciali, la protezione offerta dalla confezione secondaria viene meno e la velocità con cui il prodotto si degrada aumenta e a questo punto il TMC riportato sulla confezione non è più rappresentativo della reale durata del prodotto.

La sperimentazione è stata indirizzata a raccogliere tutti i dati relativi alle variabili inserite nei due modelli utilizzati: il primo sviluppato da Labuza (1970) per la stima della PSL, il secondo proposto da Lee (2024) per la previsione della SSL. Cruciali per questi modelli sono la individuazione del limite del parametro qualitativo scelto per monitorare l'evoluzione della qualità dei grissini, raggiunto il quale l'accettabilità del prodotto comincia sensibilmente a decadere, ovvero il loro contenuto umido critico (M_c); inoltre, e altrettanto importante, è l'accurata verifica delle prestazioni di barriera al vapor d'acqua delle confezioni. In questi modelli, oltre alle caratteristiche del prodotto e della confezione, si integrano anche le condizioni ambientali in cui avviene la conservazione.

La comparazione dei risultati ottenuti in termini di variazione del contenuto umido e attività dell'acqua dei grissini, di variazione del profilo aromatico strumentale e della texture con quelli delle analisi sensoriali svolte da un panel addestrato, su grissini conservati in condizioni accelerate (38°C, 90% UR) ha consentito per tutte e tre le tipologie di grissini l'individuazione del loro M_c. La misura accurata della permeabilità al vapor d'acqua dei materiali e delle confezioni è stata un'altra parte importante della sperimentazione, al fine di ottenere tutti i dati da inserire nei modelli.

I risultati ottenuti hanno confermato la coerenza tra i dati sperimentali e le stime modellistiche, mostrando come l'approccio predittivo rappresenti un valido strumento per la valutazione della shelf life dei grissini.

L'applicazione dei modelli ha permesso di descrivere l'evoluzione della qualità dei campioni in funzione dell'assorbimento di umidità, evidenziando una buona attendibilità delle stime ottenute. Inoltre, l'estensione delle valutazioni alla shelf life secondaria ha mostrato la possibilità di interpretare in modo quantitativo le conseguenze dell'apertura del packaging e dell'esposizione a condizioni più critiche, simulando scenari più vicini all'esperienza reale del consumatore. Questa capacità di collegare le due fasi di vita del prodotto rappresenta un valore aggiunto rilevante, poiché consente di quantificare non solo la durata complessiva, ma anche il comportamento del prodotto una volta rimosse le barriere protettive della confezione.

Un ulteriore elemento emerso riguarda i campioni arricchiti con le due tipologie di alga, nei quali non sono state osservate variazioni significative nella cinetica di assorbimento dell'umidità rispetto ai campioni di riferimento. Tale evidenza conferma che la loro aggiunta non altera il comportamento igroscopico tipico della matrice, senza compromettere l'attendibilità del modello applicato. Si tratta di un'informazione rilevante in ottica dello sviluppo di nuove formulazioni, poiché permette di estendere l'applicabilità dei modelli anche a prodotti arricchiti con ingredienti alternativi.

Nel complesso, lo studio ha mostrato come l'impiego congiunto di dati sperimentali e strumenti predittivi possa fornire una valutazione solida e flessibile della shelf life, sia primaria che secondaria. Questo approccio non si limita a produrre stime numeriche della durata, ma consente di interpretare i fenomeni di decadimento qualitativo in relazione alle condizioni di conservazione, fornendo una base oggettiva per decisioni industriali legate alla formulazione e al confezionamento.

6. Bibliografia

Afonso, N. C., Catarino, M. D., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2023). A review of volatile compounds in edible macroalgae: Occurrence, analytical approaches, and biological significance. *Algal Research, 68*, 102887. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102887

Alamprese, C., Cappa, C., Ratti, S., Limbo, S., Signorelli, M., Fessas, D., & Lucisano, M. (2017). Shelf life extension of whole-wheat breadsticks: Formulation and packaging strategies. *Food Chemistry, 230*, 532–539. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.092

Bacenetti, J., et al. (2018). Shelf life extension as solution for environmental impact mitigation: A case study for bakery products. *Science of The Total Environment, 627*, 997–1007. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.213

Barden, L., & Decker, E. A. (2016). Lipid oxidation in low-moisture food: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 56*(15), 2467–2482. https://doi.org/10.1080/10408398.2013.848833

Bianchi, F., Lomuscio, E., Rizzi, C., & Simonato, B. (2021). Predicted shelf-life, thermodynamic study and antioxidant capacity of breadsticks fortified with grape pomace powders. *Foods, 10*(11), 2815. https://doi.org/10.3390/foods10112815

Cannas, M., Conte, P., Piga, A., & Del Caro, A. (2024). Artichoke by-product extracts as a viable alternative for shelf-life extension of breadsticks. *Foods, 13*, 2639. https://doi.org/10.3390/foods13162639

Caruso, M., et al. (2021). Evaluation of packaging and processing strategies to reduce quality decay in bakery products. *Italian Journal of Food Science, 33*(3), 1–9.

Cauvain, S. P., & Young, L. S. (2006). *Baked products: Science, technology and practice*. Wiley-Blackwell. ISBN 978-1-4051-2702-2

Cesa, S., Casadei, M. A., Cerreto, F., & Paolicelli, P. (2015). Infant milk formulas: Effect of storage conditions on the stability of powdered products towards autoxidation. *Foods, 4*(3), 487–500. https://doi.org/10.3390/foods4030487

Coman, M. M., Bahrim, G., Granata, G., Colavita, G., & Cecchini, C. (2021). Characteristic volatile composition of seven seaweeds from the Black Sea coastal area. *Foods, 10*(9), 2182. https://doi.org/10.3390/foods10092182

Conte, P., Del Caro, A., Urgeghe, P. P., Petretto, G. L., Montanari, L., Piga, A., & Fadda, C. (2020). Nutritional and aroma improvement of gluten-free bread: Is bee pollen effective? *LWT - Food Science and Technology, 134*, 110274. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110274

Del Nobile, M. A., & Conte, A. (2023). Secondary shelf life of foods: State of the art and future perspective. *Food Engineering Reviews, 15*, 748–762. https://doi.org/10.1007/s12393-023-09360-4

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2020). Guidance on date marking and related food information: Part 1 (date marking). *EFSA Journal, 18*(12), 6306. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6306

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2021). Guidance on date marking and related food information: Part 2 (food information). *EFSA Journal, 19*(1), 6510. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6510

FAO. (2019). *The state of food and agriculture: Moving forward on food loss and waste reduction*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. ISBN 978-92-5-131234-1

Giuffrè, A. M., Caracciolo, M., Zappia, C., Capocasale, M., & Poiana, M. (2023). Breadsticks flavoured with olives and onions: One-year shelf life. *Foods, 12*(9), 1798. https://doi.org/10.3390/foods12091798

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). (1986). *Microorganisms in foods 2: Sampling for microbiological analysis* (2nd ed.). Blackwell Scientific Publications. ISBN 978-0-632-01234-7

Kilcast, D., & Subramaniam, P. (Eds.). (2000). *The stability and shelf-life of food*. Woodhead Publishing. ISBN 978-1-85573-732-7

Ktenioudaki, A., Chaurin, V., Reis, S. F., & Gallagher, E. (2012). Brewer's spent grain as a functional ingredient for breadsticks. *International Journal of Food Science & Technology, 47*(8), 1765–1771. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03032.x

Labuza, T. P., Tannenbaum, S. R., & Karel, M. (1970). Water activity and stability of low-moisture and intermediate moisture foods. *Food Technology, 24*(5), 35.

Lee, D. S. (2024). Theoretical analysis of secondary shelf life: Interactive relationship with package opening time and food quality degradation rate shift. *Food Packaging and Shelf Life, 41*, 101238. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2024.101238

López-Pérez, A., Picón, M., & Núñez, M. (2017). Volatile compounds and odour characteristics of seven species of dehydrated edible seaweeds. *Food Research International, 99*(2), 1084–1092. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.041

Manzocco, L., Romano, G., Calligaris, S., & Nicoli, M. C. (2020). Modeling the effect of the oxidation status of the ingredient oil on stability and shelf life of low-moisture bakery products: The case study of crackers. *Foods, 9*(6), 749. https://doi.org/10.3390/foods9060749

Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T. (1999). *Descriptive analysis in sensory evaluation techniques* (3rd ed.). CRC Press.

Nicoli, M. C. (Ed.). (2012). *Shelf life assessment of food*. CRC Press. https://doi.org/10.1201/b11871

Nicoli, M. C., & Calligaris, S. (2004). Predicting shelf-life of food: Current status and future perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 44*(5), 465–471. https://doi.org/10.1080/10408690490439165

Nicosia, C., Fava, P., Pulvirenti, A., & Licciardello, F. (2022). Secondary shelf life assessment of UHT milk and its potential for food waste reduction. *Food Packaging and Shelf Life, 33*, 100880. https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100880

Nicosia, C., Fava, P., Pulvirenti, A., Antonelli, A., & Licciardello, F. (2021). Domestic use simulation and secondary shelf life assessment of industrial pesto alla Genovese. *Foods, 10*(8), 1948. https://doi.org/10.3390/foods10081948

Pellacani, S., Cocchi, M., Durante, C., & Strani, L. (2023). Exploring the effect of different storage conditions on the aroma profile of bread by using Arrow-SPME GC-MS and chemometrics. *Molecules, 28*(8), 3587. https://doi.org/10.3390/molecules28083587

Piergiovanni, L., & Limbo, S. (2010). *Food packaging: Materiali, tecnologie e qualità degli alimenti*. Springer Italia. https://doi.org/10.1007/978-88-470-1457-2

Robertson, G. L. (2009). *Food packaging and shelf life: A practical guide* (1st ed.). CRC Press / Taylor & Francis. ISBN 978-1-4200-7844-2

Rutkowska, J., Baranowski, D., Antoniewska-Krzeska, A., & Kostyra, E. (2023). Comparison of storage-related volatile profiles and sensory properties of cookies containing xylitol or sucrose. *Foods, 12*(23), 4270. https://doi.org/10.3390/foods12234270

Sharma, H. (2020). *Food packaging technology*. AgriMoon. ISBN 978-93-5388-380-5

Steele, R. (2004). *Understanding and measuring the shelf-life of food*. Woodhead Publishing. ISBN 978-1-85573-732-7

Stenmarck, Å., Jensen, C., Quested, T., & Moates, G. (2016). *Estimates of European food waste levels*. FUSIONS EU Project. ISBN 978-92-79-59883-3

Triantis, A., Katsaros, G., & Siontorou, C. (2024). Volatile profiling of Spirulina food supplements. *Journal of Applied Phycology, 36*(1), 233–245. https://doi.org/10.1007/s10811-023-02889-3

UNI EN ISO 8586:2023. *Analisi sensoriale – Selezione e formazione degli assaggiatori*.

Ringraziamenti

Desidero esprimere la mia più sincera gratitudine alla Professoressa Patrizia Fava, mia relatrice, per la fiducia, la disponibilità, il prezioso supporto scientifico e i consigli che hanno guidato il mio percorso di ricerca. Un ringraziamento particolare va alla Professoressa Francesca Masino, seconda relatrice, per l'attenzione e la disponibilità dimostrate durante lo svolgimento del lavoro.
Un grazie sentito anche alla Dottoressa Emanuela Lo Faro, mia correlatrice e tutor, per la vicinanza, la pazienza e il sostegno concreto in tutte le fasi di questo percorso. Esprimo il mio ringraziamento alla Dottoressa Alessandra Riggio, seconda correlatrice e tutor della parte sperimentale dedicata ai grissini con alga, per la sua disponibilità, competenza e costante supporto durante le fasi del lavoro. Desidero inoltre ringraziare il gruppo Biogest-Siteia per avermi accolta e supportata nelle attività di laboratorio, contribuendo alla mia crescita personale e professionale.

Un ringraziamento speciale va alla mia famiglia, che con amore incondizionato mi ha sostenuta in ogni passo in questo percorso. Grazie per aver creduto in me anche quando io stessa dubitavo, per i sacrifici silenziosi e per la pazienza dimostrata nei momenti più difficili. Senza la vostra forza e il vostro affetto, questo traguardo non avrebbe avuto lo stesso significato. Questo traguardo è anche vostro, perchè siete stati il mio punto di riferimento più grande.

Vorrei ringraziare di cuore Alice, che da collega di università è diventata per me una vera amica. In questo percorso di tesi ci siamo sostenute, confrontate e incoraggiate a vicenda, condividendo fatiche e soddisfazioni. La sua presenza ha reso questo cammino più leggero e ricco, e la nostra amicizia rappresenta uno dei doni più belli che questi due anni di magistrale mi abbiano regalato.

Un ringraziamento dolcissimo va alle mie coinquiline, Barbara, Mariaceleste e Gaia, con cui ho condiviso non solo una casa, ma soprattutto un pezzo importante della mia vita. Tra chiacchierate infinite, risate improvvise, pianti consolati e momenti di pura spensieratezza, la convivenza con voi è diventata una seconda famiglia.

Questo percorso sarebbe stato molto più vuoto senza la vostra presenza, che ha riempito le giornate di calore, affetto e ricordi indimenticabili.
Un grazie speciale va a Federica e Arianna, amiche preziose che con la loro presenza, il sostegno e l'affetto hanno reso questo percorso più leggero. La loro vicinanza, i sorrisi e le parole di incoraggiamento hanno rappresentato per me un punto di forza e un conforto costante. La nostra amicizia è uno dei doni più belli che custodisco con gratitudine in questo traguardo.

Un ringraziamento speciale va ad Andrea, una persona importantissima con cui ho condiviso momenti che resteranno per sempre nel mio cuore. Con lui ho riso fino alle lacrime, mi sono divertita come mai avrei immaginato, ho affrontato momenti difficili e ho anche pianto, sapendo di poter contare sul suo sostegno. Mi ha sempre incoraggiata e fatto complimenti per ogni piccolo traguardo della mia carriera universitaria, portando leggerezza e gioia anche nei giorni più intensi. La sua presenza ha reso questo percorso unico e speciale, e ha lasciato ricordi che resteranno per sempre tra i più belli di questi anni.

Un grazie sincero va a tutte le amicizie, a quelle più strette che mi sono state accanto giorno dopo giorno, e a quelle meno vicine ma che non hanno fatto mancare la loro presenza nei momenti importanti. Ognuna di loro, con un gesto, una parola di incoraggiamento o semplicemente con la vicinanza, ha contribuito a rendere questo percorso più leggero e ricco di sorrisi. La forza dell'amicizia, in tutte le sue forme, è stata un sostegno prezioso che custodisco con gratitudine.