



**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

Dipartimento di Biomedicina Comparata ed Alimentazione

Dipartimento di scienze e tecnologie per l'Agricoltura, le Foreste, la Natura e l'Energia

Corso di Laurea in

Sicurezza Igienico-sanitaria degli Alimenti

**Monitoraggio del processo produttivo e della shelf-life di una
bevanda a base di soia: presentazione di un caso studio**

Relatore: Prof.ssa Anna Lante

Correlatore: Dott. Marco Bellamio

Laureanda: Elena Tognato

Matricola: 1006809/SIA

Anno Accademico 2013/2014

INDICE

1. INTRODUZIONE	1
1.1. ORIGINE E DIFFUSIONE DELLA SOIA.....	1
1.2. CARATTERI BOTANICI.....	4
1.3. COMPOSIZIONE DEI SEMI DI SOIA.....	8
1.4. BEVANDA A BASE DI SOIA	9
Origine e diffusione.....	9
Denominazione	11
1.5. COMPOSIZIONE DELLA BEVANDA A BASE DI SOIA	11
1.5.1. PROTEINE	11
1.5.2. LIPIDI	14
1.5.3. CARBOIDRATI	15
1.5.4. FIBRA ALIMENTARE.....	16
1.5.5. POLIFENOLI.....	16
1.5.6. ISOFLAVONI.....	17
1.5.7. INIBITORI DELLA DIGESTIONE	20
1.5.8. SAPONINE.....	21
1.5.9. LECTINE	22
1.5.10. CENERI	22
1.5.11. FITATI	22
1.5.12. VITAMINE	23
1.6. MATERIA PRIMA	23
Caratteristiche fisiche.....	23
Caratteristiche tecniche	24
Caratteristiche igienico-sanitarie.....	24
Caratteristiche nutrizionali	24
Lavorazione della materia prima.....	25
1.7. FORMULAZIONE DELLA RICETTA.....	26
Ingredienti	26
Zucchero di canna	26
Fosfato monopotassico.....	27
Sale marino.....	27
Gomma di gellano	27

Monogliceridi e di gliceridi.....	28
Aroma.....	28
Fortificazione	28
NRV	28
CLAIMS.....	29
Vitamina D2	30
Vitamina B2	30
Vitamina B12	30
Calcio	31
1.8. SEMILAVORATO DELLA BEVANDA A BASE DI SOIA	32
Caratteristiche chimico-fisiche.....	32
Caratteristiche microbiologiche	32
1.9. OPERAZIONI UNITARIE DAL RICEVIMENTO DEL SEMILAVORATO	
AL CONFEZIONAMENTO DEL PRODOTTO FINITO	33
1.9.1. DIAGRAMMA DI FLUSSO	33
1.9.2. CIP.....	37
1.10. PRODOTTO FINITO	39
Etichetta.....	39
Informazioni nutrizionali	40
Caratteristiche chimiche.....	40
Caratteristiche fisiche.....	41
Caratteristiche microbiologiche	41
Packaging e formato.....	41
Conservazione	41
2. SCOPO DELLO STUDIO.....	43
3. MATERIALI E METODI	45
3.1. PROGRAMMA DI PREREQUISITI OPERATIVI E PIANO HACCP.....	45
3.2. PIANO DI CONTROLLO DELLA SHELF-LIFE	47
3.3. METODICHE DI ANALISI	51
3.3.1. RICERCA DELLA CARICA BATTERICA MESOFILA AEROBICA	
TOTALE (CBT) IN PETRIFILM.....	51

3.3.2. RICERCA DELLA CARICA BATTERICA MESOFILA AEROBICA TOTALE IN PIASTRA PETRI CON TERRENO PCA.....	53
3.3.3. PROVA DELLA STABILITA' AL CALORE.....	53
3.3.4. MISURAZIONE DEL pH.....	54
3.3.5. ESAME ORGANOLETTICO	54
3.3.6. RILEVAZIONE DEI TENORI IN GRASSO E PROTEINE	54
3.3.7. RILEVAZIONE DELLE QUANTITA' DI CALCIO E VITAMINE	55
3.3.8. RILEVAZIONE DI ALLERGENI DEL LATTE VACCINO.....	55
3.3.9. RICERCA DEI MICRORGANISMI PATOGENI.....	55
4. RISULTATI E DISCUSSIONE	57
4.1. CBT E MICRORGANISMI PATOGENI	72
4.2. CONTAMINAZIONI CROCIATE.....	75
4.3. pH	76
4.4. STABILITA' TERMICA	77
4.5. TENORI IN GRASSO E PROTEINE.....	78
4.6. QUANTITA' DI VITAMINE E CALCIO	79
4.7. ESAME ORGANOLETTICO	80
5. CONCLUSIONE	85
BIBLIOGRAFIA	87

Riassunto

La soia è una leguminosa che oltre all'elevato contenuto proteico contiene alcune importanti molecole bioattive. Per tale motivo, negli ultimi anni, la sua produzione ed il suo consumo in Occidente sono molto cresciuti.

Lo studio prende in considerazione una bevanda a base di soia, arricchita in calcio e vitamine (D2, B2 e B12), stabilizzata termicamente mediante *Infusion technology* e confezionata in asettico dalla Centrale del latte di Vicenza. L'Azienda è autorizzata a trasformare alimenti di origine vegetale ai sensi del Reg. (CE) 852/2004.

Il presente elaborato esamina il processo produttivo monitorando la stabilità del prodotto, con una shelf-life di 12 mesi, a temperatura ambiente, a 30°C e a 55°C.

Dai risultati è emerso che i campioni di bevanda UHT sono stati sterilizzati in modo corretto e non hanno subito contaminazioni successive.

I campioni tenuti a temperatura ambiente sono stati caratterizzati da un pH debolmente più basico, rispetto a quelli tenuti a 30°C e a 55°C.

Non sono state rilevate contaminazioni crociate con allergeni del latte (caseine e lattosio).

Il tenore in grasso e proteine è rimasto pressoché costante lungo tutta la conservazione, come pure la concentrazione di calcio e vitamine.

Dal punto di vista sensoriale, la bevanda a base di soia con un sapore gradevolmente dolce non ha sviluppato odori indesiderati di rancido mantenendo un colore tipo crema.

Dal punto di vista fisico, la bevanda aveva la tendenza a separarsi in fasi, una liquida in superficie con una lieve pellicola di grasso affiorato e una verso il fondo con leggeri addensamenti disomogenei. All'ebollizione prolungata è rimasta stabile.

Nel complesso, si può concludere che la bevanda a base di soia sia stata processata idoneamente e che le condizioni di conservazione, il packaging e i dati sulla shelf-life raccolti fino a 12 mesi ne confermino una sicurezza d'uso di almeno 12 mesi.

Summary

Soy is a protein-rich bean that contains some components with important health properties. For this reason its production and its consumption in the West have grown a lot in recent years.

This study considers a soy milk, which was enriched with calcium and vitamins (D2, B2 and B12), heat-treated by *Infusion technology* and packaged from Centrale del latte di Vicenza. Centrale del latte di Vicenza is authorized, according to Reg. (CE) 852/2004, to transform foods of vegetable origin.

This composition examines the productive process by monitoring the stability of the product, with shelf-life fixed at 12 months, at room temperature, at 30°C and at 55°C.

The results show that the samples of UHT soy milk were sterilized properly and they didn't undergo subsequent contamination.

The samples kept at room temperature were characterized by a weakly more basic pH, than those kept at 30°C and at 55°C.

There were no cross-contaminations with milk allergens (casein and lactose).

The concentrations of fat, protein, calcium and vitamins remained almost constant during the conservation.

From the sensorial point of view, soy milk with a sweet taste hasn't developed undesirable rancid or old smells, maintaining a cream colour.

From the physical point of view, soy milk had a tendency to separate into two phases, one liquid with a slight fat film on the surface and one towards the deep with irregular hardenings. Soy milk remained stable to the action of heat.

Overall, it can be concluded that the soy milk was properly processed and that the conditions of conservation, the packaging and the data collected on the shelf-life up to 12 months will confirm a safety of at least 12 months.

1. INTRODUZIONE

1.1. ORIGINE E DIFFUSIONE DELLA SOIA

La Soia è una pianta annuale originaria dell'Asia centro-orientale di cui si ha notizie sin dal 5° millennio a.C.. In Cina esiste da 5000 anni ed in Corea e Giappone le varietà sono presenti da 2000 anni. Il primo contatto europeo con gli alimenti a base di soia in Inghilterra, Francia e Paesi Bassi, è avvenuto tra il 1500 e il 1600 con la salsa di soia giapponese detta shoyu. L'interesse vero e proprio per la soia da parte dei botanici europei cominciò nel 1700 e al 1800, soprattutto in Francia e in Italia, risalgono le prime coltivazioni. La prima ricerca scientifica relativa alla composizione chimica e nutrizionale di questo legume è stata condotta in Europa 30 anni prima rispetto all'Asia e 50 anni prima rispetto agli USA. Dal 1909 Inghilterra, Francia, Germania e Belgio hanno introdotto le coltivazioni di questa pianta nelle loro colonie, promuovendo così la sua diffusione in Africa e in India. (www.valsoia.it, 2011) A causa della richiesta di seme e per ragioni economiche la diffusione è accresciuta nel frattempo pure nell'America latina; Brasile ed Argentina ne sono i più grandi produttori. (Toniolo L. & Mosca G., 1986)

Le importazioni europee hanno avuto un grave crollo durante le Guerre mondiali. Dal 1945 gli USA sono diventati i primi produttori mondiali di soia, scavalcando l'Asia orientale, seguiti dai Paesi del sud America, come descritto anche in Tabella 1. (www.valsoia.it, 2011)

Tabella 1 – principali produttori mondiali di soia (www.faostat.fao.org)

Produzione in tonnellate e percentuale della produzione mondiale (dati 2008) Dati del FAOSTAT (FAO)		
<u>Stati Uniti</u>	80 748 700	35,0%
<u>Argentina</u>	46 238 087	20,0%
<u>Brasile</u>	59 242 480	25,6%
<u>Cina</u>	15 545 141	6,7%
<u>India</u>	9 905 000	4,3%
<u>Paraguay</u>	6 311 794	2,7%
<u>Canada</u>	3 335 900	1,4%
<u>Bolivia</u>	1 259 676	0,5%
<u>Uruguay</u>	880 000	0,4%
<u>Ucraina</u>	812 800	0,4%
<u>Altri</u>	6 930 000	3,0%
Totale	231 000 000	100%

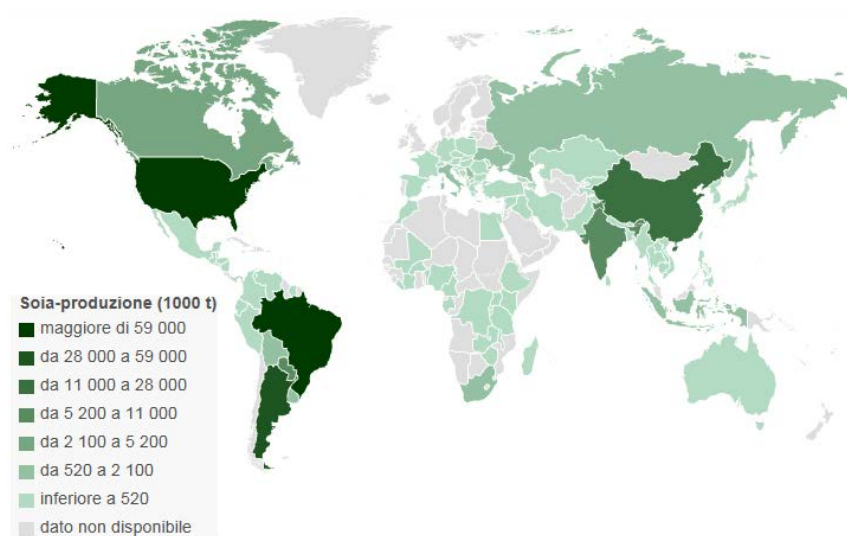


Figura 1 – produzione mondiale di soia nel 2013 (www.deagostinigeografia.it)

Nel planisfero in Figura 1, le produzioni mondiali nei primi cinque maggiori produttori di soia, in modo più dettagliato, nel 2013 sono le seguenti:

- 90.609.000 t di soia in USA;
- 68.518.000 t di soia in Brasile;
- 52.677.000 t di soia in Argentina;
- 15.083.000 t di soia in Cina;
- 9.810.000 t di soia in India.

Da questi dati emerge una netta crescita delle produzioni di soia in USA, Brasile ed Argentina rispetto al 2008 (Tabella 1); le produzioni in Cina e in India sono rimaste, invece, pressoché costanti.

In Italia nel 2013 sono prodotti 574.000 t di soia. (www.deagostinigeografia.it)

Nel mercato mondiale della soia sono quattro gli stati forti in termini di offerta, quali Stati Uniti (43% delle esportazioni mondiali), Brasile (22%), Argentina (12%) e Paraguay (6%). La domanda di soia in Cina ha superato l'offerta, pertanto è divenuta il maggior Paese importatore. (www.agronotizie.com)

Le attuali stime USDA indicano una produzione mondiale di soia di circa 269,5 milioni di tonnellate, in aumento del 12,9% rispetto all'annata 2011/2012. Sempre in confronto alla precedente campagna agraria, i consumi mondiali sono previsti in crescita e dovrebbero arrivare a 262,32 milioni di tonnellate (+2,4%); le importazioni dell'UE dovrebbero aggirarsi intorno a 11,3 milioni di tonnellate (-5,5%), mentre la Cina importerà circa 63 milioni di tonnellate di soia (+ 6,4%).(www.anas.it,2012/2013)

La soia è la principale coltura transgenica; infatti, nel 2000 il 52% dei 40 milioni di ettari coltivati ospitava soia manipolata geneticamente. Le colture OGM sono diffuse soprattutto in Asia e in America (il 50% della produzione degli USA è OGM, il 64% per quella del Brasile). (www.agraria.org) In Europa, invece, le coltivazioni di soia OGM sono vietate sulla base del principio di precauzione. L'Unione Europea, però, con la Decisione 2012/347/UE, ha consentito l'importazione di prodotti derivati o costituiti da soia OGM per la resistenza ai lepidotteri e all'erbicida glifosate.

In Italia la leadership della produzione di soia e derivati spetta a Valsoia. Nel Veneto vengono prodotti 45-50 q/ha di soia.

La soia è una coltura redditizia a causa dei suoi contenuti costi di produzione e del suo valore di mercato particolarmente alto. Bisogna, però, porre attenzione alla volatilità dei

prezzi che hanno visto in Italia un'impennata nel 2008 che si è spenta subito dopo. Attualmente i prezzi sono nuovamente in fase positiva. (www.agronotizie.com)

1.2. CARATTERI BOTANICI DELLA SOIA

La Soia (Figure 2 e 3) appartiene alla classe delle *Dicotyledones*, ordine *Leguminosae*, famiglia *Papilionaceae*, sottofamiglia *Papilionatae*, tribù *Phaseoleae*, specie *Glycine max* L.. (www.agraria.org)



Figura 2 – la soia (www.fas.usda.gov)



Figura 3 – la soia (M. Snidaro et al., 2001)

Le varietà di soia si distinguono per diversi aspetti.

Innanzitutto esistono differenti specie riconoscibili dal colore. La soia gialla, la *Glycine max* L., è la vera e propria soia dalla quale si ottengono la maggior parte dei prodotti derivati e per questo motivo è la più commercializzata. Le altre sono la soia nera, la soia verde delle specie *Vigna radiata*, altrimenti detta “fagiolo mung” e la soia rossa appartenente alla specie *Phaseolus angularis*, nota come “fagiolo azuki”.

In secondo luogo, in base alla precocità, le varietà vengono classificate in gruppi da 000 (precocissime) a X (tardive). Nei nostri ambienti si prediligono i gruppi da 00 a III.

Infine, le piante di soia possono essere indeterminate, semideterminate o determinate. La distinzione è legata ai diversi tipi di fioritura ed accrescimento.

La soia è una piantagione che risente del fotoperiodo, passando dunque dallo stato vegetativo alla fioritura in relazione alla lunghezza del giorno. Generalmente è brevidiurna.

La soia è una pianta erbacea estiva che può raggiungere un'altezza tra i 70 e i 130 cm ed è caratterizzata da un portamento eretto e cespuglioso. L'apparato radicale fittonante si espande ramificandosi per 40cm orizzontalmente e per 1m verticalmente nel terreno. Nei terreni in cui viene seminata per la prima volta è necessario inoculare preventivamente colture microbiche di *Rhizobium japonicum* che viene ospitato nelle radici entrando in simbiosi con la pianta. Ad esso si deve il processo naturale di fissazione dell'azoto atmosferico, che avviene nei noduli radicali detti rizobi (Figura 4), che contribuisce a migliorare la fertilità del suolo.



Figura 4 – noduli radicali (www.sipcamitalia.it)

Il fusto ramificato è eretto e ricco di peluria bruna o grigia. Le foglie sono trifogliate, tranne il primo paio che è unifogliato.

I fiori da bianchi a violacei (Figura 5) si dispongono in gruppi formando le infiorescenze, dette racemi, che possono essere formate da 2 a 25 fiori. Sono caratterizzati da una fecondazione principalmente autogama, ma non tutti danno luogo a frutti fertili. La percentuale di aborti è elevata.



Figura 5 – fiori di soia (www.agraria.org)

I frutti (Figura 6), che prendono il nome di baccelli o legumi, contengono fino a 3-4 semi. Sono ricoperti di peluria e hanno un colore che va dal giallo al grigio. Essi compaiono dopo 10-15 giorni dalla fioritura e permangono per 3-5 settimane. Spesso accade che i baccelli una volta maturi tendano ad aprirsi (deiscenza). Generalmente per infiorescenza ne possono crescere fino a 20. (Toniolo L. & Mosca G., 1986)



Figura 6 – baccelli di soia (www.agronotizie.com)

I semi (Figura 7) gialli, verdi, bruni o neri e privi di endosperma, contengono un tegumento (scafo) che circonda un grande embrione provvisto di due cotiledoni. Sono dotati di un ilo che è la zona di attacco del frutto. La loro forma varia da quasi sferica ad allungata e piatta ed il loro peso è compreso tra 50 mg e 450 mg. I cotiledoni rappresentano il 90% del peso ed al loro interno, nelle cellule, si concentrano olio e proteine.



Figura 7 – semi di soia *Glycine Max L.* (www.agraria.org)

La semina nel nostro clima avviene in primavera/estate e la raccolta si effettua quando la granella contiene una umidità relativa minore del 12-14% e quando gli steli e i legumi hanno un colore marrone, solitamente in settembre. La temperatura è un fattore importante e quella ottimale è di 20°C. La soia necessita di terreni con un pH pari a 6-6,5. Può tollerare anche una moderata salinità. Essendo una pianta rustica vuole limitate quantità di concimi. In particolare è utile limitare l'apporto di azoto (20-30 Kg/ha alla semina) per non ostacolare il processo naturale di fissazione dell'azoto atmosferico. Nei casi di mancanza di crescita dei noduli radicali o quando piove abbondantemente nel periodo di semina, la dose di azoto può essere aumentata a 150-200 Kg/ha. L'arricchimento del terreno prevede, inoltre, 80-100 Kg/ha di fosforo (P_2O_5) e 50-70 Kg/ha di potassio (fino a 100 Kg/ha nel caso di carenza). (www.agraria.org)

1.3. COMPOSIZIONE DEI SEMI DI SOIA

Le seguenti Tabelle 2 e 3 indicano la ripartizione dell'energia, la composizione chimica media ed il valore energetico dei semi di soia.

Tabella 2 – ripartizione percentuale dell'energia della soia (www.inran.it)

Composizione percentuale

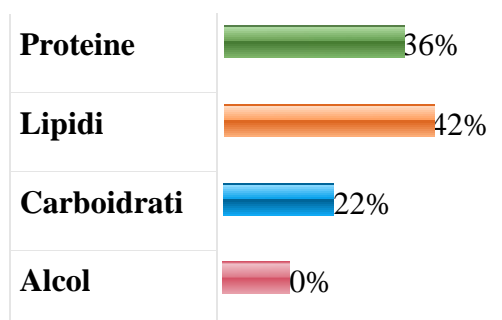


Tabella 3 – composizione chimica e valore energetico della soia (www.inran.it)

COMPOSIZIONE CHIMICA E VALORE ENERGETICO PER 100g DI PARTE EDIBILE		
Composizione chimica	valore per 100g	Note
Parte edibile (%):	100	
Acqua (g):	9.5	
Proteine (g):	36.9	
Lipidi(g):	19.1	
Colesterolo (mg):	0	
Carboidrati disponibili (g):	23.2	
Amido (g):	11.1	
Zuccheri solubili (g):	11	
Fibra totale (g):	11.9	
Alcol (g):	0	
Energia (kcal):	407	
Energia (kJ):	1701	

1.4. BEVANDA A BASE DI SOIA

Origine e diffusione

La bevanda a base di soia è una soluzione colloidale contenente proteine solubili, carboidrati, olio, un'elevata quantità d'acqua e altri composti minori e può essere dolce o salata in base agli ingredienti (zucchero, semi di senape o altri). (Cagnoni D., 1948)

E' probabilmente il derivato della soia più reperibile nel mercato ed è largamente usata in Oriente da molti anni prima di Cristo. In Cina nei primi del 1900 è stata impiegata per migliorare lo stato di nutrizione della popolazione, prestando maggior interesse verso i neonati e i bambini. Nel 1940 a Hong Kong è stata fondata una fabbrica per la produzione di bevanda di soia, denominata *Vitasoy*. Per il suo gusto cosiddetto *beany* piuttosto marcato non sarebbe stata apprezzata in Occidente. Nel 1983 la produzione mondiale di bevanda a base di soia era di 1 milione di tonnellate ed è in continuo aumento, specialmente in Giappone. (www.fao.org, 1992)

I vantaggi nella produzione di bevanda a base di soia sono la facilità della lavorazione ed i bassi costi di produzione.

In Italia il mercato della bevanda a base di soia è un mercato di nicchia, evoluto principalmente in Veneto, Lombardia e Piemonte. La leadership spetta a Valsoia (circa il 50% del totale). L'andamento delle vendite è altalenante. C'è una modesta stagionalità.

Nel 2011 tre milioni di famiglie, il 13% del totale, consumavano prodotti derivati dai vegetali, tra cui la bevanda a base di soia.

Il mercato di questi alimenti si è fortemente sviluppato negli ultimi tre anni, con una crescita superiore al 50%. www.valsoia.it

Il consumatore, sempre più attento alla salute e al benessere psicofisico, ricerca negli alimenti la prevenzione per le malattie. La bevanda a base di soia è un prodotto interessante per le proprietà benefiche di alcune sue componenti. Per questo motivo il suo consumo sta crescendo in Occidente, grazie anche alle tecniche adottate per migliorare la sua qualità organolettica.

Non bisogna dimenticare, però, che gli effetti positivi sulla salute si possono ottenere assumendo la bevanda in un contesto di un'alimentazione sana e varia e di un corretto stile di vita, a cominciare da una regolare attività fisica. Questo è il motivo per cui il Reg. (CE) 1924/2006 vieta qualsiasi tipo di indicazione fuorviante per la salute del consumatore nell'etichetta dei prodotti alimentari.

La bevanda a base di soia, inoltre, può soddisfare quelle persone che non assumono il latte materno o alimentare per diverse ragioni. Diviene il sostituto più adatto in caso di allergie alle proteine del latte e in caso di intolleranza al lattosio. L'allergia al latte alimentare colpisce il 2-3% dei bambini, generalmente entro i 3 anni d'età e provoca manifestazioni gastrointestinali, respiratorie e dermatologiche. (Kattan et al., 2011) Le capacità nutritive della bevanda sono di poco inferiori a quelle del latte vaccino. Rispetto ad esso contiene meno grassi ed è povera di calcio e di vitamina D, infatti, molte industrie ne attuano una fortificazione. La quantità di proteine è, invece, più o meno simile. E', però, più digeribile e meno inquinata. Comunemente al latte alimentare il grasso presente tende ad affiorare e la bevanda ha capacità di montatura se riscaldata; viene consumata, infatti, anche assieme al caffè. Può essere, inoltre, concentrata e polverizzata. (Cagnoni D., 1948)

Può essere impiegata come sostitutivo del latte materno pure nei vitelli a carne bianca, in modo graduale.

Grazie alla sua composizione chimica è indicata per i vegetariani e per i vegani per coprire le carenze nutritive derivate dal non consumo dei prodotti di origine animale.

Per l'assenza di glutine è sicura per i celiaci. (Cagnoni D., 1948) (www.valsoia.it, 2011)

Tuttavia, le proteine di soia possono rappresentare una fonte di allergia. Secondo uno studio condotto negli Stati Uniti è un evento che colpisce un numero basso di persone ed è meno frequente rispetto alle allergie scatenate dal consumo di altri cibi (es. latte vaccino). I bambini ne vanno più soggetti, al contrario degli adulti, ma il fenomeno viene superato dal 70% di essi entro i primi 10 anni di vita. Paradossalmente anche nei Paesi, come l'Asia, in cui la soia è uno degli alimenti principali della dieta, non si presentano troppi casi. La sintomatologia, spesso lieve, raramente grave, è simile a quella delle altre allergie. (www.ensa-eu.org)

Il consumo della bevanda di soia in Occidente è aumentato grazie all'attuazione di tecnologie che hanno permesso il miglioramento dell'aspetto organolettico del prodotto. Alcune sostanze, infatti, originano off-flavour poco graditi dalla popolazione occidentale.

I trattamenti termici (soprattutto UHT) associati anche a trattamenti ad elevate pressioni (evaporazioni flash), la macinazione dei semi, la deodorazione (rimozione dei composti aromatici volatili per evaporazione) e l'aggiunta di dolcificanti e aromatizzanti sono le operazioni più gettonate.

Il trattamento termico è un'operazione unitaria utile per la distruzione microbica e per l'inattivazione di enzimi che potrebbero causare alterazione. La bevanda avendo

un'elevata percentuale d'acqua è un ottimo terreno per i microrganismi. Tra gli enzimi quello più significativo è la lipossigenasi. Le lipossigenasi sono delle diossigenasi contenenti ferro che catalizzano l'ossidazione degli acidi grassi insaturi a idroperossidi, con la formazione finale di aldeidi insature, quali l'esanale. L'esanale conferisce l'odore tipico dell'erba verde appena tagliata. La costante di inattivazione delle lipossigenasi, se esposte al calore eventualmente associato ad elevate pressioni, dipende dalla composizione chimica dell'alimento. Un altro metodo per la loro riduzione è la macinazione dei semi. (Wang et al., 2007)

Durante i trattamenti termici, soprattutto a temperature elevate, possono, però, svilupparsi alcuni composti che cambiano il sapore e l'aroma del prodotto. Altre componenti, quali isoflavoni, saponine e composti fenolici, invece, sono già nativi nei semi di soia e sono responsabili anch'esse parzialmente dei caratteri organolettici sgradevoli della bevanda. (Lozano et al., 2007)

Denominazione

Viene chiamata erroneamente "latte di soia". La definizione "latte di soia" è impropria in quanto il "latte alimentare" secondo il RD 994/29 ha la seguente definizione: "Il prodotto ottenuto dalla mungitura regolare, ininterrotta e completa di animali in buono stato di salute e nutrizione". Inoltre, il Reg. (CEE) 1898/87 protegge la nomenclatura dei prodotti lattiero-caseari, impedendo di etichettare prodotti di origine differente con la dicitura "latte".

La denominazione corretta è: "Bevanda a base di soia".

1.5. COMPOSIZIONE DELLA BEVANDA A BASE DI SOIA

La bevanda a base di soia è ricca delle stesse componenti della materia prima (semi di soia o farina di soia disoleata) che, a seconda della loro natura, sono trattate sotto forma di soluzione, emulsione e sospensione.

Non esiste uno standard ufficiale. E' un prodotto che viene processato abbastanza liberamente dalle industrie e può, dunque, avere composizioni anche molto diverse.

1.5.1. PROTEINE

Le proteine sono la componente più rappresentativa del seme di soia. Il tenore dipende fondamentalmente dalla capacità di fissare l'azoto negli amminoacidi e negli ureidi verso le cellule cotiledonari del seme. Altri fattori importanti sono il genotipo, il terreno di coltura,

l'irrigazione (meglio se tardiva) e la temperatura (meglio se elevata durante il riempimento del seme).

Nel caso della bevanda a base di soia la solubilità delle proteine è un requisito di qualità. Essa è fortemente influenzata dal pH. Se l'acidità aumenta le proteine si avvicinano maggiormente al loro punto isoelettrico e così la loro solubilità diminuisce fino a raggiungere il minimo a pH tra 4,2 e 4,6. Al contrario, per il tofu (formaggio di soia) è necessario che le proteine abbiano una buona capacità di coagulazione.

La bevanda a base di soia è il derivato che contiene la minor quantità di proteine (~2,9%); il tenore viene, però, generalmente standardizzato con lo scopo di eguagliare il contenuto proteico del latte vaccino.

Le proteine di soia sono a medio valore biologico pari a 74, poiché scarseggiano in aminoacidi solforati. Sono, invece, molto ricche di lisina che è il fattore limitante dei cereali. Il valore biologico è definito dal rapporto N trattenuto / N assorbito e dipende dalla composizione aminoacidica della proteina in questione, essenziale per la sintesi delle proteine dell'organismo.

Le frazioni proteiche del seme di soia, classificate in base ai coefficienti di sedimentazione, sono quattro: 2S, 7S, 11S e 15S. (Cheftel & Laurient, 1985)

Le maggiori, rappresentanti il 70-75% del totale, sono la 7S e la 11S formate soprattutto da globuline.

La 7S è detta β -conglucina, comprende 3 sub-unità a carattere acido α , α_1 e β ed è povera in aminoacidi solforati. La cisteina è assente in tutte le sottounità, mentre la metionina è assente solo nella β .

La 11S è detta glicina ed è ricca in zolfo e costituita da 12 sub-unità legate da ponti disolfuro e legami idrogeno. Esse sono per la maggior parte idrofobe, alcune a carattere acido, altre a carattere basico.

Il rapporto 7S/11S discrimina il tipo di prodotto derivato dalla granella, ovvero bevanda a base di soia o tofu. Un forte tenore in proteine 11S è responsabile di un gel più stabile. I fattori ambientali incidono sul rapporto ed è necessario modulare il momento della raccolta visto che la frazione 7S sembra accumularsi tardivamente nel corso della maturazione. (Mosca & Barion, www.venetoagricoltura.regione.veneto.it)

La 2S consiste in polipeptidi a basso peso molecolare e la 15S è un dimero della glicina.

I trattamenti termici possono determinare la denaturazione delle proteine di soia. La β -conglucina denatura a 71°C (Liu Z. et al., 2004), mentre la glicina a 80°C. (Sorgentini D. A. et al., 1995)

In presenza di zuccheri riducenti le proteine possono reagire nella reazione di Maillard con formazione di composti melanoidinici e di sapore di cotto.

Le alte temperature possono provocare anche la distruzione di alcuni aminoacidi essenziali, in particolare lisina e cisteina. La lisina è abbondante nelle proteine di soia, mentre la cisteina scarseggia, quindi, una sua idrolisi al calore potrebbe comportare un ulteriore abbassamento del valore biologico delle proteine.

Sono stati svolti diversi studi sulle proprietà benefiche contro le malattie cardiovascolari delle proteine di soia. In ognuno appare evidente che l'incidenza di queste malattie sia minore nei Paesi orientali per un'abituale dieta a base di soia, rispetto a quelli occidentali, nonostante qui il consumo stia moderatamente aumentando.

La FDA (Food and Drug Administration) ha affermato che un consumo giornaliero di 25g di proteine di soia al giorno, in un contesto di una dieta povera di grassi saturi e di colesterolo, può contribuire a diminuire il rischio cardiovascolare. La riduzione sarebbe dovuta alla capacità di abbassare il livello di LDL plasmatiche, aumentando l'espressione dei loro recettori. Le LDL sono le principali aggravanti per la formazione delle placche ateromatose. Sono state osservate delle differenze tra le frazioni proteiche in termini di attivazione dei recettori, infatti, la 7S sembra essere molto più abile rispetto alla 11S. Inoltre, anche la composizione aminoacidica potrebbe influenzare il rischio. La metionina e la cisteina, di cui la soia scarseggia, sono ipercolesterolemizzanti. (Carroll & Kurowska, 1995)

E' stato anche verificato che una dieta con bevanda a base di soia comporta un aumento delle HDL e una riduzione delle LDL e delle sostanze reattive dell'acido tiobarbiturico (elementi per la stima di fenomeni di stress ossidativo in campioni biologici), quando comparata ad una dieta con latte vaccino magro. L'incremento di colesterolo HDL sembra essere dovuto alla presenza anche di isoflavoni che assieme alle proteine agiscono raddoppiando l'espressione del gene per il PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor), influenzando così il metabolismo lipidico. Il PPAR, infatti, stimola il recupero dei lipidi e la lipogenesi a livello di tessuto adiposo. La riduzione delle LDL circolanti sarebbe spiegata dall'attivazione di un maggior numero di recettori da parte delle proteine di soia rispetto alle caseine del latte.

Tuttavia, non sono state evidenziate variazioni significative sui livelli plasmatici di colesterolo totale, di trigliceridi e nemmeno di Apolipoproteina E. Questa apolipoproteina, adibita al trasporto del colesterolo, è uno dei primi marcatori genetici studiato come fattore promuovente l'infarto miocardico. (Bricarello L. P. et al., 2004)

1.5.2. LIPIDI

La frazione lipidica nei semi di soia è correlata negativamente con quella proteica ed è più variabile. Le quantità di olio e di acidi grassi insaturi sono influenzate dalla temperatura e dalle precipitazioni durante il riempimento dei semi. L'acido linolenico si riduce decisamente se la temperatura è elevata. (Dombos D.L. et al., 1992) Durante la maturazione l'acido palmitico e l'acido linolenico tendono a diminuire, mentre l'acido linoleico aumenta. L'acido oleico, invece, raggiunge un massimo e poi decresce leggermente.

La fase lipidica nella soia è costituita da triacilgliceroli che sono la componente primaria e da fosfolipidi (tra cui la lecitina), steroli, tocoferoli, tocotrienoli e idrocarburi. Tra i composti minori si riconoscono cere, acido fosfatidico, esteri fosfatidici e sfingolipidi.

Nel totale degli esteri metilici sono state individuate in media le seguenti percentuali di acidi grassi: miristico 0,04%, palmitico 10,57%, stearico 4,09%, oleico 22,98%, linoleico 54,51%, linolenico 7,23%, arachidonico 0,33% e altri minori. Prevalgono gli acidi grassi insaturi.

Sono rintracciabili in basse concentrazioni anche acidi grassi liberi. I semi danneggiati sono caratterizzati da una quantità superiore di acidi grassi liberi e hanno un contenuto di acido fosfatidico significativo. Per questa ragione sono più ricchi di ferro che è direttamente collegato alla quantità di fosforo presente. (Hammond E. G. et al., 2005)

I semi di soia sono privi di colesterolo e ricchi di omega 6 e omega 3. E' da ricordare che questi ultimi due tipi di acidi grassi insaturi sono essenziali per l'uomo, in quanto l'organismo non è in grado di sintetizzarli autonomamente. Devono, quindi, essere introdotti con la dieta. Nello specifico è fondamentale il rapporto tra essi; ω -6/ ω -3 deve essere inferiore a 10. Gli omega 3 hanno importanti proprietà antinfiammatorie, diminuiscono la trigliceridemia e sembrano, però, aumentare le LDL. Gli omega 6, invece, sono importanti per la sintesi di acido arachidonico, ma stimolano la produzione di eicosanoidi proinfiammatori, aumentano le LDL e inducono insulino-resistenza.

Di notevole rilevanza sono anche i CLA, i coniugati dell'acido linoleico. Essi si formano naturalmente nei prestomaci dei ruminanti, pertanto si ritrovano poi nel latte alimentare. Secondo alcuni dati raccolti dalla USDA (United States Department of Agriculture) la fonte

di coniugati dell'acido linoleico per l'uomo non è solo di origine animale. Infatti, è stato misurato che ogni grammo di grasso nella bevanda a base di soia contiene 80 mg di CLA, contro i 4,5 mg nel latte.

I CLA sono importanti per la salute umana, in quanto posseggono un'azione anticancerogena, riducono il rischio di malattie cardiovascolari e stimolano la mineralizzazione ossea e la risposta immunitaria.

1.5.3. CARBOIDRATI

I carboidrati presenti nei semi di soia sono sia semplici che complessi. In maggiori quantità vi sono lo xilosio, il saccarosio, il raffiniosio e lo stachiosio. Il verbaschiosio è presente in minime concentrazioni.

La quantità di amido è limitata.

Gli zuccheri semplici, quali glucosio, fruttosio, galattosio, maltosio, arabinosio, ramnosio e acido glucuronico compaiono quando la pianta è ancora immatura, per poi quasi scomparire con il progredire dello stadio di maturazione. (Smith & Circle, 1972)

Recenti stime suggeriscono un'ossidazione a livello dei noduli radicali dai 3 ai 7 grammi di carbonio per ogni grammo di azoto fissato. Inoltre, è stato affermato che la quantità di N fissato nelle leguminose di solito va di pari passo con la fornitura di carboidrati. Nei noduli radicali si accumulano rapidamente saccarosio e maltosio. (Streeter J. G., 1980)

Gli oligosaccaridi o α -galattosidi (verbaschiosio, stachiosio e raffiniosio) non sono digeribili dall'uomo perché l'intestino umano è privo di α -galattosidasi. Non venendo, quindi, scissi a livello del colon subiscono fermentazione e causano flatolenza.

La soia non presenta lattosio, il tipico zucchero del latte. Uno dei suoi prodotti derivati, la bevanda a base di soia, viene impiegata nella dieta spesso come sostitutivo del latte da coloro che soffrono di disturbi da intolleranza al lattosio, oltre che dagli allergici alle proteine del latte. L'intolleranza al lattosio è estremamente diffusa ed è geneticamente programmata. La carenza di lattasi viene ereditata con un carattere autosomico recessivo ed è un fenomeno che si manifesta a partire dai 2 anni di vita ed i relativi sintomi gastrointestinali compaiono non prima dei 5-6 anni.

1.5.4. FIBRA ALIMENTARE

Il baccello è ricco di cellulosa, emicellulosa e pectine per un totale di fibra del 24,37g/100g di sostanza secca. La fibra è indigeribile per l'uomo, perciò viene fermentata liberando acidi organici che abbassano il pH intestinale selezionando i microrganismi.

I principali monomeri che compongono la fibra sono glucosio, galattosio, acidi uronici, arabinosio e xilosio. In quantità minori si trovano mannosio, ramnosio e fucosio. Il rapporto tra fibra insolubile e solubile è pari a 6. (Recondo-Cuenca A. et al., 2007)

La fibra alimentare è importante per la salute umana. Non è, però, consigliato assumerne troppa, altrimenti comporterebbe un eccesso di acido fitico che ostacolerebbe l'assorbimento dei minerali. Essa aiuta nella prevenzione delle malattie cardiovascolari, in quanto compete con l'assorbimento del colesterolo, riducendo la lipemia postprandiale (Dubois C. et al., 1993) e nella protezione dal tumore al colon-retto poiché incrementa la velocità di transito delle sostanze citotossiche e citolesive. Inoltre, quella insolubile ha un'azione lassativa.

Gli alimenti a base di soia per la quantità di fibra, per i limitati carboidrati ad elevato indice glicemico, ma anche per la presenza di acidi grassi omega 3, si adattano bene alle diete per diabetici. (Cagnoni D., 1948) Ciò è stato suggerito anche in una meta-analisi, in cui il consumo di alimenti a base di soia era associato con una riduzione significativa della concentrazione di glucosio nel sangue a digiuno. (Liu et al., 2011)

1.5.5. POLIFENOLI

I polifenoli sono delle sostanze naturali molto diffuse nel mondo vegetale e si trovano anche nella soia e derivati. Quelli più esaminati sono sicuramente gli isoflavoni. Tra gli altri ci sono l'acido ferulico, l'acido caffeico e l'acido clorogenico. (Pratt & Birac, 1979)

I polifenoli, specialmente quelli aventi catecolo, pirogallolo o 3-idrossi-4-carbonile, che sono in grado di chelare il ferro e ossidarlo a Fe^{3+} , esplicano importanti proprietà antiossidanti e proteggono dalla perossidazione lipidica causata da radicali liberi (stress ossidativo). (www.inran.it, 2011)

Uno studio ha messo, però, in luce anche capacità proossidanti per questi stessi composti fenolici in grado di stimolare danni ossidativi su DNA e deossiribosio. (Moran J. F. et al., 1996)

Un processo UHT diretto di una bevanda a base di soia in un'indagine ha favorito una minor riduzione dei composti fenolici rispetto ad altri trattamenti ed, in particolare, di β -glucosidi, gli isoflavoni più rappresentati nella bevanda vegetale. Questo fenomeno era correlato con il

mantenimento di una buona attività antiossidante anche dopo il trattamento termico. (Xu B. & Chang S. K. C., 2009)

1.5.6. ISOFLAVONI

Gli isoflavoni sono delle sostanze fenoliche, appartenenti ad una sottoclasse dei flavonoidi. Sono formati da una struttura a 15 atomi di carbonio con due anelli aromatici A e B ed uno eterociclico C. Differiscono dai flavoni per il fatto che l'anello B sia legato alla posizione 3 anzichè alla posizione 2 sull'anello C.

Sono tipici delle leguminose e nella soia ne sono presenti 12 isomeri.

Genisteina (GE), daidzeina (DE) e gliciteina (GLE) sono agliconi (i più semplici).

Genistina (GI), daidzina (DI) e glicitina (GLY) sono β -glucosidi.

Malonilgenistina (MGI), malonildaizina (MDI), malonilglicitina (MGLY), acetilgenistina (AGI), acetildaizina (ADI) e acetilglicitina (AGLY) sono composti coniugati. (Wang & Murphy, 1994)

L'80-90% degli isoflavoni si trova nei cotiledoni dei semi di soia. La loro concentrazione dipende fortemente dalla temperatura durante il riempimento del seme, con una correlazione inversa. (Tsukamoto C. et al., 1995)

Diversi studi epidemiologici (www.efsa.europa.eu, 2009) hanno dimostrato che gli isoflavoni, in dosi quotidiane stimate tra 50 e 100 mg ed in relazione alla loro biodisponibilità, possono promuovere una serie di effetti benefici sulla salute umana, specialmente nelle popolazioni orientali, dove il consumo di soia è abbondante.

La frequenza di malattie cardiovascolari, di osteoporosi, ma anche di cancro (seno, prostata e polmoni) è in effetti risultata minore con l'assunzione di una dieta a base di soia nel contesto di un corretto stile di vita.

Gli isoflavoni sono stati scoperti nel 1930 come agenti bioattivi, in quanto erano in grado di interrompere l'azione degli estrogeni ed indurre infertilità nelle pecore prese in esame. Da qui deriva il nome "fitoestrogeni".

In seguito è stata scoperta la loro capacità di legame con alcuni recettori nucleari ormonali (recettori α e β per gli estrogeni, recettori per il progesterone e per gli androgeni). Hanno una struttura simile all'endogeno 17β estradiolo, un ormone ipocolesterolemico coinvolto nel metabolismo delle apolipoproteine delle LDL. Questa analogia pare spiegare gli effetti ipocolesterolemizzanti degli isoflavoni.

Essi sono anche dei potenti antiossidanti. Sono in grado, perciò, di prevenire l'ossidazione delle LDL. (Carroll & Kurowska, 1995)

Gli isoflavoni sono molto utili per le donne in menopausa, come terapia ormonale sostitutiva. Durante la menopausa diminuisce il numero di estrogeni circolanti nel sangue e viene favorita la perdita di tessuto osseo. Una delle conseguenze tipiche è l'osteoporosi. Per le loro proprietà estrogeniche contrastano i sintomi causati dagli squilibri ormonali (ad esempio le vampate) e prevengono l'osteoporosi. (Setchell K. DR. & Olsen E. L., 2003) Tuttavia, non aiutano a migliorare le menomazioni della cognizione che si verificano con la menopausa. (Fournier L.R. et al., 2007)

Le azioni anticarcinogene svolte dagli isoflavoni sono l'inibizione della crescita delle cellule neoplastiche attraverso modulazioni genetiche ed il controllo del ciclo cellulare e dell'apoptosi. La genisteina, in particolare, è stato suggerito essere un potente inibitore dello stress ossidativo, dell'angiogenesi e della metastasi, nonostante in esami in vitro su ratti pare migliorare la proliferazione neoplastica.

Nella patogenesi del cancro al seno gli estrogeni svolgono un ruolo chiave per il suo sviluppo e per la sua progressione. Le donne in terapia per la menopausa sono quelle più a rischio. Gli isoflavoni possono esercitare effetti antiestrogenici bloccando la loro azione. Bisogna, però, modulare il consumo di fitoestrogeni in quanto, essendo sostanze estrogenosimili, possono accentuare la proliferazione neoplastica nei primi stadi del tumore. Risultati positivi inerenti alla sopravvivenza al cancro al seno sono stati evidenziati dopo l'assunzione di bevanda a base di soia, ma non dopo l'assunzione di integratori di isoflavoni. Permane il dubbio che siano implicati negli effetti anche altri composti della soia singoli o in combinazione. (Shu X. O. et al., 2009)

E' stato affermato che consumare alimenti di soia con isoflavoni comporta, inoltre, una riduzione del rischio di tumore ai polmoni del 27%. I risultati suggeriscono che vi sia una proporzionalità inversa con l'ingestione di cibi non fermentati (bevanda a base di soia e tofu), piuttosto di quelli fermentati (miso), anche se non è chiara la motivazione. (Yang W.S. et al., 2011)

Il consumo di alimenti di soia non fermentati riduce anche il rischio di cancro alla prostata del 30% nei maschi. (Yan L. & Spitznagel E. L., 2009)

E' stata osservata, poi, una correlazione positiva tra escrezione urinaria di genisteina e una diminuzione della pressione sanguigna, in particolare di quella diastolica, in soggetti ipertesi e nelle donne in menopausa. (Rivas M. et al., 2002) (Dong J.Y. et al., 2011)

Gli isoflavoni, però, possono provocare disturbi al metabolismo della tiroide, specialmente nelle donne in menopausa che sono portate a favorire il consumo di queste molecole con i prodotti a base di soia. Tuttavia, non è ancora chiaro se abbiano un effetto stimolante o di inibizione della sua funzione. (www.efsa.europa.eu, 2009)

Il contenuto totale di isoflavoni è stato studiato in 8 bevande di soia UHT ed è variato da 1805,22 a 3195,59 mg/Kg dw. Tale variabilità può dipendere dai fattori ambientali che hanno influenzato i semi di soia utilizzati, ma anche dal processo di preparazione dell'alimento. Gli isoflavoni predominanti sono i β -glucosidi, poiché i coniugati, essendo labili al calore, sono idrolizzati durante il trattamento termico. (Toro-Funes N. et al., 2012)

Nella Tabella 4 sono elencate le quantità misurate dei singoli isoflavoni e nella Figura 8 ne sono mostrate le proporzioni.

Tabella 4 – contenuto totale di isoflavoni (mg/Kg dw) in 8 campioni di bevanda a base di soia (Toro-Funes N. et al., 2012)

Isoflavones ^a	A	B	C	D	E	F	G	H
GE	77.38 ± 0.70	144.95 ± 3.37	70.88 ± 0.45	172.40 ± 2.99	79.29 ± 0.50	69.98 ± 1.46	53.19 ± 3.69	97.56 ± 0.25
DE	43.32 ± 1.65	73.08 ± 2.80	32.04 ± 1.91	137.93 ± 2.35	71.33 ± 0.57	34.43 ± 0.57	52.02 ± 0.50	75.15 ± 0.64
GLE	nd	nd	20.25 ± 0.64	10.08 ± 0.12	nd	9.32 ± 0.06	9.41 ± 0.06	9.23 ± 0.06
GI	1462.79 ± 32.33	1506.33 ± 21.38	747.95 ± 7.95	1170.95 ± 22.71	1279.85 ± 26.66	1260.54 ± 13.10	1166.90 ± 40.02	1181.07 ± 9.29
DI	1138.16 ± 11.58	832.86 ± 27.62	528.89 ± 12.66	716.54 ± 12.42	955.98 ± 30.03	900.18 ± 2.41	814.64 ± 21.44	940.41 ± 4.20
GLY	178.71 ± 0.13	57.47 ± 0.83	1.26 ± 0.15	60.39 ± 0.12	82.98 ± 1.27	118.26 ± 2.03	121.64 ± 10.11	102.96 ± 3.31
AG I	74.93 ± 1.08	100.94 ± 0.83	55.62 ± 1.40	nd	44.06 ± 0.31	49.64 ± 0.57	53.19 ± 3.69	51.44 ± 0.06
ADI	nd	nd	nq	nd	nq	nd	nq	nq
AGLY	2.61 ± 0.13	nd	0.77 ± 0.09	nd	0.23 ± 0.06	nd	1.08 ± 0.12	0.23 ± 0.06
MGI	235 ± 7.13	367.97 ± 5.41	232.26 ± 12.60	36.45 ± 0.89	43.38 ± 1.14	nd	97.29 ± 7.89	45.81 ± 0.13
MDI	100.65 ± 3.18	109.58 ± 4.65	115.38 ± 7.51	2.97 ± 0.12	8.91 ± 0.76	nd	31.50 ± 3.81	10.17 ± 0.13
MGLY	21.78 ± 0.51	2.43 ± 0.18	nd	10.08 ± 0.13	12.69 ± 0.12	nd	11.39 ± 0.06	2.25 ± 0.63
Total isoflavones	3159.95 ± 58.23	3195.59 ± 12.03	1805.22 ± 41.75	2317.77 ± 13.49	2578.68 ± 61.09	2442.33 ± 14.89	2412.23 ± 90.30	2516.27 ± 11.65

nd = non rilevato ; nq = non quantificato.

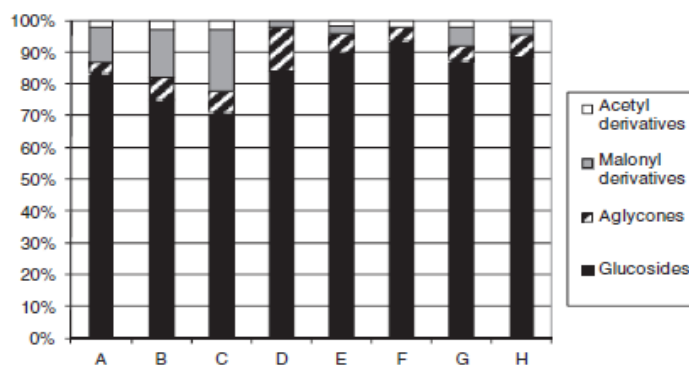


Figura 8 – proporzione delle diverse forme di isoflavoni contenute in 8 campioni di bevanda a base di soia (N. Toro-Funes et al, 2012)

Gli alimenti di soia non fermentati (bevanda a base di soia e tofu) sono caratterizzati da una maggior quantità di β -glucosidi e, al contrario, quelli fermentati (salsa di soia) sono più ricchi di agliconi. Inoltre, i derivati con un più basso contenuto di grassi sono poveri anche in isoflavoni. (Wang & Murphy, 1994)

La determinazione dell'andamento degli isoflavoni, a seguito del trattamento termico e durante i mesi di conservazione, è utile nella valutazione della shelf-life della bevanda a base di soia. Immediatamente dopo il trattamento termico UHT di una bevanda di soia studiata l'isoflavone maggiormente presente era la genistina pari a 141,7 mg/L e quello in minor concentrazione era la daidzeina pari a 2,6 mg/L poiché più termolabile.

E' stato sostenuto, inoltre, che gli isoflavoni possono reagire nella Reazione di Maillard, quindi potrebbero dar luogo a prodotti indesiderati, anche potenzialmente cancerogeni. (Eisen B. et al., 2003)

1.5.7. INIBITORI DELLA DIGESTIONE

Nel seme di soia ed in special modo nei cotiledoni sono presenti alcune molecole aventi un'azione antinutrizionale, quali gli inibitori di Kunitz (Figura 9) e di Bowman Birk (Figura 10).



Figura 9 – inibitore di Kunitz (Mosca & Barion, www.venetoagricoltura.regione.veneto.it)

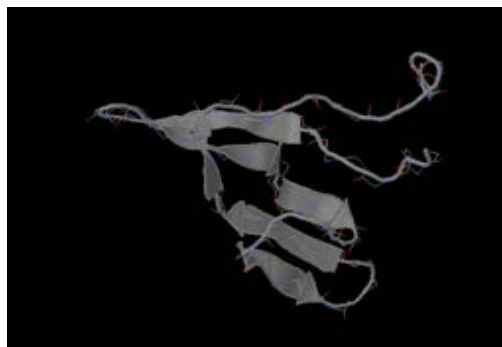


Figura 10 – inibitore di Bowman Birk (Mosca & Barion, www.venetoagricoltura.regione.veneto.it)

Questi inibitori interferiscono con la funzione della tripsina e della chimotripsina, due enzimi proteasi a serina pancreatici appartenenti alla famiglia delle idrolasi, coinvolti nella digestione proteica a livello intestinale sia nell'uomo che negli animali.

L'inibitore di Kunitz possiede pochi legami disolfuro, ha un peso molecolare di 20100 e inibisce la tripsina con forza e la chimotripsina debolmente. L'altro, al contrario, ha molti legami disolfuro, ha un peso molecolare più basso pari a 8000 e agisce decisamente su entrambe.

La percentuale di inibizione della tripsina umana per ingestione di soia è del 68%. (Mosca & Barion, www.venetoagricoltura.regione.veneto.it)

L'effetto negativo sugli enzimi è spiegato solo se i semi di soia vengono consumati crudi. Tuttavia, trattamenti termici di 30 minuti a 120°C, per esempio, sono sufficienti per disattivare l'inibitore di Bowman Birk, ma non totalmente quello di Kunitz, il cui 20% rimane in attività. (Jiao J. et al., 1992)

L'inibitore di Bowman Birk ha causato effetti molto interessanti per quel che riguarda la prevenzione della carcinogenesi e la soppressione di tumori sia in vivo che in vitro, per le sue proprietà antiossidanti e antinfiammatorie. E' stato, infatti, sperimentato come farmaco dalla FDA nell'aprile del 1992. (Kennedy A. R., 1998)

1.5.8. SAPONINE

Le saponine sono dei glucosidi terpenici con proprietà anfifiliche, spesso sfruttate come emulsionanti. Strutturalmente sono caratterizzate dall'unione di diversi residui zuccherini con una molecola non zuccherina detta sapogenina (aglicone). Si distinguono per la presenza di due tipi di nucleo, triterpenico o steroideo.

Le sementi di soia contengono da 0,6% ad un massimo di 6,2% del peso secco di saponine a seconda delle varietà, ma la concentrazione tipica è attorno all'1% del peso secco.

Sono state suddivise in gruppi A, B ed E in base alla struttura dell'aglicone.

Le saponine dei gruppi B ed E sembrano esistere nel tessuto della pianta integra sotto forma di coniugati. Durante la maggior parte dei metodi industriali di estrazione e lavorazione, essendo labili, questi coniugati sono facilmente degradati nei composti semplici di origine. (Koduo S. et al., 1993)

I sapori amari e astringenti tipici della soia possono essere dovuti in parte alla presenza di saponine del gruppo A.

E' stato dimostrato che le saponine non sono così sensibili agli stress ambientali, ma dipendono più strettamente dalla genetica. E' auspicabile, quindi, identificare e selezionare le varietà di soia carenti del gruppo A per migliorare la qualità dei prodotti derivati. Al contrario, i coniugati e i gruppi B ed E devono essere presenti, in quanto sono in grado di inibire l'infettività del virus dell'AIDS e l'antigene precoce del virus Epstein-Barr (herpes virus). (Nakashima et al., 1989) (Konoshima & kuzuka, 1991)

Le saponine agiscono come bio-tensioattivi, capaci di interagire con fosfolipidi, colesterolo e gruppi idrossilici situati nelle membrane plasmatiche delle cellule tumorali, modificandone la struttura e la crescita. Per questo motivo è stato suggerito che consumare alimenti di soia possa diminuire la mortalità per la contrazione di cancro al colon. (Tsai C.Y. et al., 2010)

Le saponine contribuiscono, inoltre, all'azione favorevole contro le malattie cardiovascolari. Interagiscono, infine, con i sali biliari e portano alla formazione di grandi micelle miste che compromettono l'assorbimento del colesterolo. (Bricarello L. P. et al., 2004)

1.5.9. LECTINE

Le lectine sono delle proteine in grado di legare specifici zuccheri (glicoproteine). Sono ritenute dei fattori antinutrizionali in quanto provocano danni morfofunzionali all'epitelio intestinale e il conseguente malassorbimento dei nutrienti. In più aumentano il catabolismo di proteine e grassi. Sono, però, termolabili.

Alla loro famiglia appartengono le emoagglutinine che possono, come suggerisce il nome stesso, causare agglutinazione delle emazie legandosi ad esse. (Mosca & Barion, www.venetoagricoltura.regione.veneto.it)

1.5.10. CENERI

I semi di soia e i loro derivati, tra cui la bevanda a base di soia, contengono forti quantità di sali minerali che si aggirano attorno al 4-6%. Il quantitativo di fosforo è maggiore rispetto a quello della carne. Invece, rispetto al latte vaccino sono poveri di calcio, per cui è necessaria una fortificazione. Contengono anche ferro, potassio, sodio, magnesio e manganese.

Il loro assorbimento dipende dalla presenza di fitati. (Cagnoni D., 1948)

1.5.11. FITATI

I fitati sono sostanze che rappresentano la principale forma di deposito di fosforo in molti semi di piante, tuberi e radici. Nei semi di soia il contenuto di fosforo fitato è compreso tra

0,505 e 0,727%. Altri composti fonti di fosforo sono i sali (Mg, Ca, K) di inositol esafosforico (o acido fitico) e l'acido fitico stesso.

I fitati sono dei fattori antinutrizionali per le loro proprietà chelanti i minerali. In tal modo vanno ad impedire l'assorbimento intestinale dei minerali, soprattutto del calcio. Possono originare complessi insolubili anche con le proteine, inibendone la digestione enzimatica. (Smith & Circle, 1972)

Alcune tecniche di lavorazione, quali la fermentazione, sembrano essere in grado di ridurre la quantità di fitati per mezzo di fitasi microbiche. (Marfo E. K. et al., 1990)

1.5.12. VITAMINE

Le vitamine sono molto importanti per la salute umana. Le più rappresentative nella soia e derivati sono la B1, la E ed i folati. Spesso per limitare le carenze gli alimenti di soia commerciali, come la bevanda a base di soia, vengono fortificati. (D. Cagnoni, 1948)

1.6. MATERIA PRIMA

La bevanda a base di soia si ottiene dalla macerazione dei semi di soia in acqua, ma alcune industrie utilizzano come materia prima la farina di soia disoleata.

Nel presente caso studio sono stati impiegati, come materia prima, i semi di soia della specie *Glycine max L. Merrill*. Si tratta di soia italiana non manipolata geneticamente.

La cernita dei semi deve essere condotta accuratamente affinché siano omogenei per forma e calibro e per limitare la presenza di semi spezzati, ammuffiti, macchiati o con colorazione anomala.

Caratteristiche fisiche:

- semi rotti o divisi <1%;
- semi estranei <1%;
- odore neutro;
- colore giallo chiaro;
- ilo chiaro;
- corpi estranei assenti.

Caratteristiche tecniche:

- umidità 10-14%;
- proteine (N x 6,25) sulla s.s. >40%;
- grassi sulla s.s. <20%.

Caratteristiche igienico-sanitarie:

- aflatossine totali 4 ppb ($\mu\text{g/Kg}$);
- pesticidi (organo clorurati, piretroidi, organo fosforati, fumiganti) entro i limiti di legge;
- metalli pesanti (Pb eCd) 0,2 mg/Kg;
- OGM $\leq 0,01\%$.

Gli LMR sono i limiti massimi di residui di composti che si possono rintracciare nelle derrate alimentari in modo tale che la dose giornaliera accettabile (ADI) non venga superata.

Il regolamento a cui fanno riferimento i limiti massimi di aflatossine e metalli pesanti è il Reg. (CE) 1881/2006. Gli LMR dei pesticidi sono, invece, stabiliti ai sensi del Reg. (CE) 396/2005.

La quantità di OGM deve essere conforme ai Reg. (CE) 1829/2003 e 1830/2003.

Caratteristiche nutrizionali

Le caratteristiche nutrizionali dei semi di soia sono mostrate nella Tabella 5.

Tabella 5 – caratteristiche nutrizionali della materia prima

	Valori rilevati (2012)	Unità di misura per 100 g
Acidi grassi saturi	14,64	% sul totale degli acidi grassi
Acidi grassi mono-insaturi	25,82	
Acidi grassi poli-insaturi	59,55	
Fibre alimentari	17,8	g/100 g
Ceneri	4,40	
Vitamina E	3,25	mg/100 g
Vitamina B1	0,82	
Isoflavonoidi totali (somma di genisteina, daidzeina, gliciteina)	190	mg/100 g
Calcio	242	mg/100 g
Fosforo	609	
Magnesio	255	
Manganese	2,32	
Potassio	1780	
Ferro	8,18	
Sodio	0,577	

Lavorazione della materia prima

La lavorazione della materia prima, che avviene in un'Azienda esterna, prevede le seguenti fasi:

- 1) **pulizia.** Consiste nella rimozione di materiale estraneo e di semi danneggiati. Eliminare i semi rotti è importante poichè gli enzimi, tra cui le lipossigenasi, agiscono soprattutto a livello della parte danneggiata, liberando composti che conferiscono aromi e sapori sgradevoli;
- 2) **decorticazione.** Prevede l'allontanamento degli scafi che contengono i batteri tipici del terreno, in particolare sporigeni. Nei tegumenti sono, inoltre, presenti polisaccaridi che, durante la lavorazione, potrebbero causare la formazione di schiuma e di sapori indesiderati. I semi decorticati favoriscono un trattamento termico della bevanda a base di soia meno intenso, diminuendo così la denaturazione proteica e la doratura del prodotto;
- 3) **reidratazione.** Si tratta dell'immersione dei cotiledoni dei semi in acqua per poterli ammorbidire e rendere adatti ai trattamenti successivi;
- 4) **macinazione.** La macinazione dei semi avviene in acqua calda in cui viene solubilizzato bicarbonato di sodio. Esso copre il sapore amaro conferito dalla formazione di esanale per opera delle lipossigenasi. Durante questo processo viene effettuato un "blanching" (scottatura) poiché la temperatura raggiunta è di 80-90°C. Il "blanching" è fondamentale per l'inattivazione delle lipasi e delle lipossigenasi, oltre che per l'eliminazione degli oligosaccaridi idrosolubili che provocano flatolenza. Inoltre, vengono inattivati parzialmente gli inibitori della digestione che diminuiscono la digeribilità delle proteine di soia nell'intestino umano. Si ottiene, perciò, una soluzione colloidale priva o quasi di attività enzimatiche indesiderate;
- 5) **decantazione e separazione.** Per ottenere un prodotto finale ottimale si può attuare una centrifugazione in un decanter con lo scopo di filtrare la parte contenente la fibra insolubile. Il sottoprodotto separato è chiamato Okara. Esso rappresenta un grosso problema per l'impatto ambientale, ma alla luce del suo elevato contenuto in fibra alimentare (55,48g / 100g di sostanza secca) viene spesso usato come ingrediente in

altri cibi. Incorporandolo negli alimenti si potrebbe eliminare la fonte di inquinamento. Inoltre, possiede altri vantaggi, quali l'assenza di colore delle sue fibre ed il gusto neutro che non andrebbero ad alterare la qualità delle derrate che lo ospiterebbero. L'Okara è anche ricco di proteine (28,52g / 100g di sostanza secca) dello stesso valore biologico di quelle di altri prodotti a base di soia (tonyu e tofu) e di acidi grassi polinsaturi (Recondo-Cuenca A. et al., 2007);

- 6) **deodorizzazione.** Questa operazione consiste nel rimuovere per mezzo del vapore (evaporazione) i composti odoranti volatili;
- 7) **standardizzazione.** Si effettua aggiungendo acqua alla soluzione colloidale per modulare il tenore di proteina che si desidera nella bevanda finale. Il tenore desiderato è vicino a quello del latte vaccino.

1.7. FORMULAZIONE DELLA RICETTA

Il prodotto derivato dalle fasi precedentemente elencate è la base per la bevanda di soia.

Aggiungendo in esso gli ingredienti previsti dalla ricetta formulata dalla Centrale del latte di Vicenza, si ottiene il semilavorato da trattare termicamente e da confezionare.

L'alimento vegetale a base di soia della Centrale del latte di Vicenza ha la particolarità di essere fortificato in calcio e vitamine B2, B12 e D2, di cui i semi di soia sono poveri.

Ingredienti: acqua, semi di soia (7,5%), zucchero di canna grezzo, calcio da alga *Lithothamnium*, sale marino, stabilizzante: gomma di gellano, emulsionanti: monogliceridi e digliceridi degli acidi grassi, aroma, correttore di acidità: fosfato monopotassico, vitamine: B2, B12, D2.

Zucchero di canna

Lo zucchero di canna grezzo, estratto dalla canna da zucchero, si presenta in cristalli dorati di 0.6-0.85 mm di diametro, dal sapore unico ed odore caratteristico. Contiene 99,9g di carboidrati (zuccheri), con un valore energetico pari a 400 Kcal.

Caratteristiche microbiologiche:

- CBT <1000 ufc/g;
- lieviti e muffe <100 ufc/g.

Fosfato monopotassico

Il KH_2PO_4 è una polvere fine bianca di granulometria >0.425 mm e di origine inorganica. Viene impiegato come additivo alimentare con lo scopo di correggere l'acidità dell'alimento in cui viene aggiunto ai sensi del Reg. (CE) 231/2012.

E' esente da OGM e non presenta allergeni.

Può contenere fino ad un massimo di 1 ppm di arsenico, piombo, cadmio, mercurio e fino a 10 ppm di fluoruri.

Una soluzione all'1% ha un pH di 4,45.

Sale marino

E' ottenuto dall'acqua di mare per evaporazione naturale e cristallizzazione frazionata con successivo lavaggio e centrifugazione.

La sua formula chimica è NaCl e consiste in cristalli bianchi di diametro ≥ 10 mm.

Contiene basse quantità di calcio, magnesio, solfati e minime percentuali di metalli pesanti.

Il pH in una soluzione acquosa di 100g/L è pari a 7,5.

L'umidità residua è del 4%.

Gomma di gellano

La gomma di gellano è un additivo alimentare impiegato come stabilizzante e addensante, ovvero serve a mantenere lo stato fisico-chimico del prodotto.

Contiene saccarosio e non presenta glutine, né OGM.

Caratteristiche microbiologiche:

- CBT <10000 ufc/g;
- muffe e lieviti < 300 ufc/g;
- E. coli assente in 25g;
- Salmonella assente in 25g.

Monogliceridi e digliceridi

I monogliceridi e i digliceridi sono costituiti da una molecola di glicerolo legata ad un acido grasso nei primi e a due acidi grassi nei secondi, attraverso un legame estere.

Sono sfruttati come emulsionanti.

Profilo microbiologico:

- CBT <5000 ufc/g;
- lieviti e muffe <100 ufc/g;
- Enterobatteri assenti in 1g;
- Salmonella assente in 25g.

Aroma

Gli ingredienti per l'aroma sono sostanze aromatiche, preparazioni aromatiche, propane-1,2-diol E1520 (54,4%), alcol etilico (41,87%) e acido acetico E260.

Nella bevanda a base di soia sono aggiunte delle sostanze che conferiscono un aroma simile al fior di latte.

Caratteristiche microbiologiche:

- CBT <100 ufc/g;
- lieviti e muffe <10 ufc/g;
- E. coli assente in 1 g;
- Salmonella assente in 25g.

Fortificazione

La Centrale del latte di Vicenza ha attuato una fortificazione con calcio e vitamine del suo prodotto vegetale in conformità al Decreto legislativo 111/1992 concernente gli alimenti destinati ad una alimentazione particolare ed al Reg. (CE) 1170/2009, che modifica il Reg. (CE) 1925/2006, dichiarante gli elenchi di vitamine e minerali che possono essere aggiunti agli alimenti, purchè biodisponibili e sicuri per l'organismo umano.

NRV (Valori Nutritivi di Riferimento)

Ai sensi del Decreto legislativo 77/1993 i dati su vitamine e sali minerali in etichetta devono essere espressi come percentuale della RDA (Dose Giornaliera Raccomandata).

Le Aziende, però, hanno già la possibilità di avvalersi della nuova modalità di etichettatura sancita dal Reg. (UE) 1169/2011, secondo cui i dati su vitamine e sali minerali in etichetta

devono essere espressi come NRV (Valori Nutritivi di Riferimento) e non più come RDA. L'espressione in questi termini può avvenire solo se l'ingrediente è presente nell'alimento per almeno il 15% della RDA o del NRV. Ciò diventerà obbligatorio per tutti i prodotti alimentari a partire dal 13 dicembre 2014 che ad oggi hanno una tabella nutrizionale.

I valori di vitamine e sali minerali nell'etichetta della bevanda a base di soia della Centrale del latte di Vicenza si riferiscono al Reg. (UE) 1169/2011.

Nella Tabella 6 si può osservare un confronto tra RDA e NRV, per quanto riguarda gli ingredienti (vitamine e calcio) aggiunti alla bevanda vegetale oggetto di studio per la sua fortificazione.

Tabella 6 – confronto tra RDA e NRV per la fortificazione della bevanda a base di soia

INGREDIENTE	RDA	NRV
Calcio	800 mg/d	800 mg/d
Vitamina D	5 µg/d	5 µg/d
Vitamina B2	1,6 mg/d	1,4 mg/d
Vitamina B12	1 µg/d	2,5 µg/d

Dalla Tabella 6 si possono osservare delle differenze tra la RDA e il NRV stabiliti per la vitamina B12 e per la vitamina B2. Nel caso di calcio e vitamina D le due espressioni, invece, coincidono.

CLAIMS

L'etichettatura dei prodotti ai quali sono stati aggiunti vitamine e minerali può contenere una dicitura che evidenzia come CLAIM tale aggiunta in conformità al Reg. (CE) 1924/2006. Questo regolamento ha lo scopo di garantire che le indicazioni relative agli alimenti siano chiare, corrette e supportate da evidenze scientifiche.

In virtù di questo regolamento le indicazioni sulla salute riportate sui prodotti alimentari sono state autorizzate dalla Commissione europea con il Reg. (CE) 432/2012.

La Centrale del latte di Vicenza ha scelto di utilizzare i CLAIMS relativi agli ingredienti (calcio e vitamine) per la fortificazione del suo prodotto come riportato in etichetta (Figura 11), nel rispetto della normativa vigente (Reg. (CE) 432/2012).

Minerali e Vitamine: una fonte preziosa dove il **calcio** è necessario per il mantenimento di ossa normali. La **Vitamina B2** contribuisce al normale funzionamento del sistema nervoso, la **Vitamina B12** alla riduzione della stanchezza e dell'affaticamento, la **Vitamina D2** al normale funzionamento del sistema immunitario.

Figura 11 – CLAIMS nell’etichetta della bevanda a base di soia della Centrale del latte di Vicenza

Vitamina D2

La vitamina D2, detta ergocalciferolo, viene aggiunta alla bevanda a base di soia sotto forma di polvere microincapsulata solubile in acqua tiepida.

CLAIMS: la vitamina D2 ha un ruolo nel processo di divisione cellulare, nel normale funzionamento del sistema immunitario, nel mantenimento della normale funzione muscolare, nel mantenimento dei normali livelli ematici di calcio, nel normale assorbimento/utilizzazione di calcio e di fosforo e nel normale funzionamento delle ossa e dei denti.

Vitamina B2

La vitamina B2, chiamata riboflavina, è aggiunta come polvere granulare gialla/arancione dotata di un odore leggero, ma di un persistente sapore amaro. E’ solubile in acqua.

CLAIMS: la vitamina B2 ha un ruolo nel normale metabolismo energetico, nella normale funzione cardiaca, nel normale funzionamento del sistema nervoso e nelle normali funzioni psicologiche.

Vitamina B12

La vitamina B12, come cianocobalamina, si presenta sotto forma di polvere rosa con un caratteristico odore delicato.

Nella polvere si trovano anche maltodestrine, citrato trisodico e acido citrico.

CLAIMS: la vitamina B12 ha un ruolo nelle normali funzioni dei sistemi nervoso e immunitario, nelle normali funzioni psicologiche, nel normale metabolismo

dell'omocisteina, nella riduzione della stanchezza e della fatica, nella normale divisione cellulare e nella normale formazione dei globuli rossi.

Calcio

Il calcio con cui viene fortificata la bevanda a base di soia deriva dall'alga marina *Lithothamnion calcareum*. Quest'alga ha una concentrazione di carbonato di calcio molto elevata pari a 34% in media. La biodisponibilità del calcio dipende dal grado di solubilità nell'ambiente gastrico. A pH acidi (~2) la solubilità è del 96%.

L'ingrediente aggiunto alla bevanda di soia si presenta come una polvere di colore bianco sporco, inodore e con un sapore neutro. Le particelle hanno un diametro di 25µm.

La polvere contiene minime quantità di metalli pesanti ed un 32% di calcio. Le ceneri costituiscono il 90% dell'ingrediente, in basse concentrazioni ci sono anche grassi, proteine e carboidrati ed un 5% di umidità.

Il valore energetico è di 30 Kcal ed il pH di una soluzione acquosa all'1% è di 9,5-10,5.

Profilo microbiologico:

- CBT <10000 ufc/g;
- lieviti e muffe <100 ufc/g;
- E. coli assente in 1g;
- Salmonella assente in 25g.

CLAIMS: il calcio ha un ruolo nel mantenimento di ossa e denti, nel normale funzionamento dei muscoli e della neuro-trasmissione, nella normale coagulazione del sangue, nel metabolismo energetico, nel normale funzionamento degli enzimi digestivi e nella regolazione della normale divisione e differenziazione cellulare.

1.8. SEMILAVORATO DELLA BEVANDA A BASE DI SOIA

Caratteristiche chimico-fisiche

Le caratteristiche chimico-fisiche del semilavorato che arriva presso la Centrale del latte di Vicenza sono mostrate in Tabella 7.

Tabella 7 – caratteristiche chimico-fisiche del semilavorato

PARAMETRI	UDM	VALORE OBIETTIVO	RIFERIMENTO	
			Min	Max
pH	mV	7,2	6,7	7,9
Densità	g/ml	1,025	1,01	1,04
Grado rifrattometrico	°Bx	9,5	8	11
Proteine	%	3,3	2,8	3,8
Grassi	%	1,8	1,3	2,3
Calcio	mg	160	120	200
Vitamina B2	mg	0,21	0,105	0,315
Vitamina B12	mcg	0,375	0,1875	0,5625
Vitamina D2	mcg	1,5	0,75	2,25

Caratteristiche microbiologiche

Le caratteristiche microbiologiche del semilavorato sono mostrate in Tabella 8.

Tabella 8 – caratteristiche microbiologiche del semilavorato

TIPOLOGIA ANALISI	UDM	VALORE OBIETTIVO	RIFERIMENTO
Carica batterica totale	Ufc/g	≤10000	<500000
Enterobatteriacee	Ufc/g	< 10	<1000
Stafilococchi coag.+	Ufc/g	<10	<1000
Listeria monocytogenes	Ufc/25g	0	<1

1.9. OPERAZIONI UNITARIE DAL RICEVIMENTO DEL SEMILAVORATO AL CONFEZIONAMENTO DEL PRODOTTO FINITO

1.9.1. DIAGRAMMA DI FLUSSO (Figure 12 e 13)

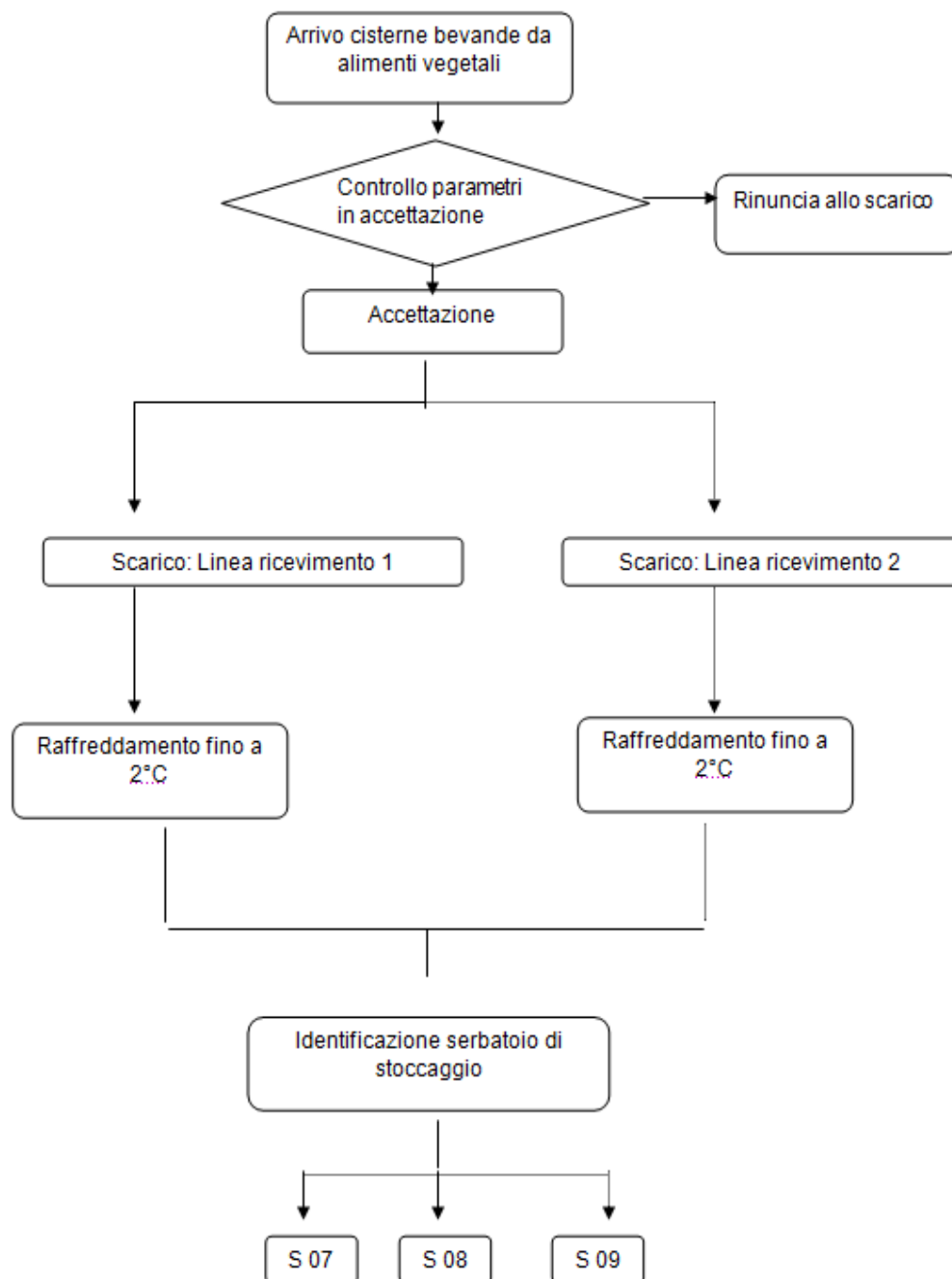


Figura 12 – ricevimento in Azienda del semilavorato

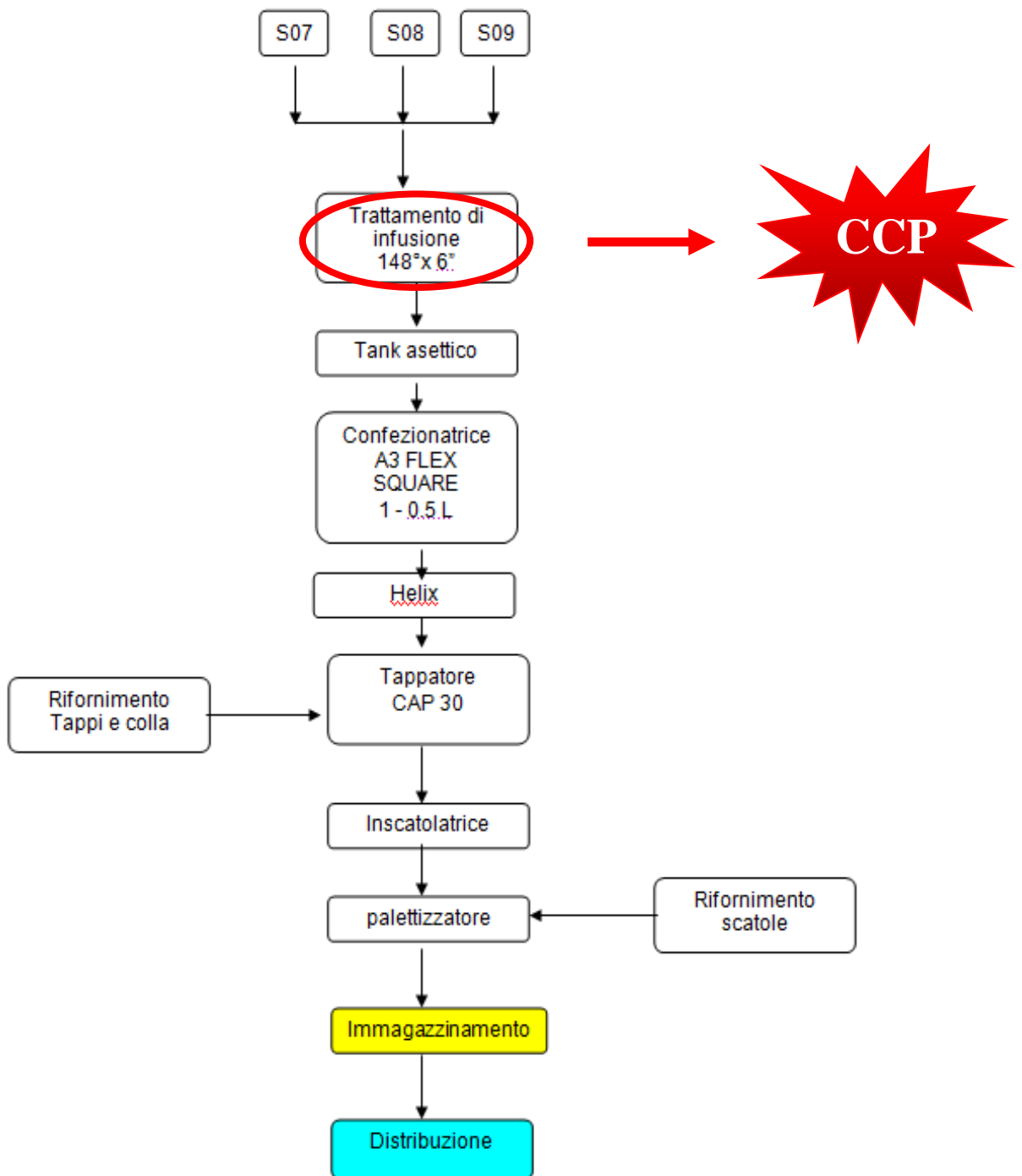


Figura 13 – trattamento termico del semilavorato e confezionamento del prodotto finito

Di seguito sono elencate le fasi dal ricevimento del semilavorato fino al confezionamento del prodotto finito presso la Centrale del latte di Vicenza, che poi verrà commercializzato.

- 1- **Trasporto.** Il semilavorato, proveniente da un'Azienda esterna, viene trasportato in autocisterne autorizzate. E' d'obbligo il mantenimento in regime della temperatura che non deve superare i 4°C. Durante il trasporto gli scomparti degli automezzi devono rimanere sigillati;

- 2- **ricevimento.** Il ricevimento avviene in 2 linee. Dopo la pesata dell'autocisterna viene effettuato il controllo in accettazione. Se il prodotto è conforme si autorizza lo scarico. Le analisi in accettazione sono:
 - misurazione della temperatura;
 - rilevazione del tenore in grasso e proteine;
 - rilevazione dei gradi Brix, importante poiché uno degli ingredienti è lo zucchero di canna;
 - misurazione del pH;
 - analisi microbiologiche per la CBT e per le Enterobacteriaceae.

- 3- **stoccaggio.** Il semilavorato scaricato viene inviato negli appositi serbatoi coibentati da 35000L, dal numero S07 al numero S09. Per mezzo di piastre con circolazione di acqua gelida sarà attuata la refrigerazione a 2°C. Il trattamento ed il confezionamento del prodotto deve avvenire entro 48 ore dalla spedizione. Prima di inviare l'alimento all'infusore, per il trattamento di sterilizzazione, è utile controllarlo eseguendo le stesse analisi precedentemente elencate;

- 4- **trattamento termico UHT (Ultra High Temperature) diretto (uperizzazione)** (Figura 14). La miscela viene inviata dai serbatoi di stoccaggio ad uno scambiatore a piastre, in cui avviene un preriscaldamento a 75-80°C. Da qui arriva alla camera di infusione dove raggiunge istantaneamente, per mezzo del vapore iniettato ad elevate pressioni, la temperatura di 148°C, alla quale viene sottoposta per 6 secondi. Il metodo di sterilizzazione utilizzato si chiama *Infusion technology*. La bevanda non entra mai in contatto con l'acciaio dell'impianto grazie all'azione del vapore e per questo motivo ne viene limitata la caramellizzazione;

UHT Infusion Plant (schematic)

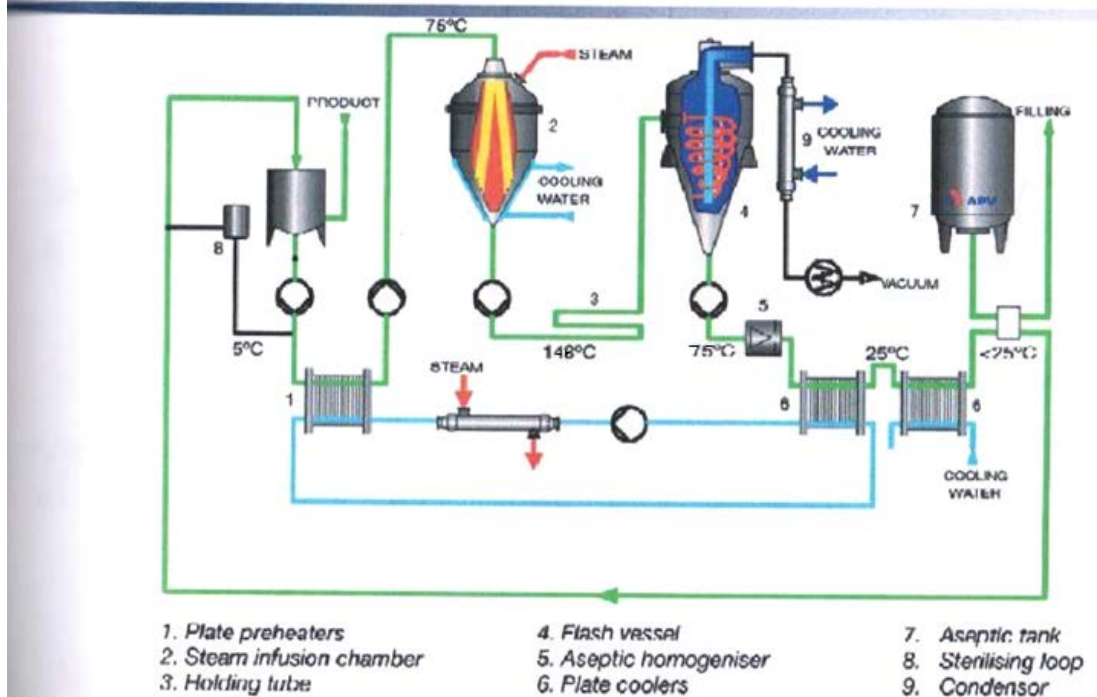


Figura 14 – schema del trattamento UHT

- 5- **degaser.** Successivamente il prodotto sterilizzato passa alla camera di espansione sottovuoto a 75°C. Questa fase, caratterizzata da un'evaporazione flash, è necessaria per togliere l'acqua in eccesso dovuta alla condensazione del vapore introdotto durante l'infusione e per eliminare i composti volatili formati durante il trattamento termico stesso;
- 6- **omogeneizzazione.** L'alimento a questo punto viene omogeneizzato asetticamente ad elevata pressione, compresa tra 40 e 120 bar. Questa operazione interessa i globuli di grasso che, venendo rotti, rimarranno in sospensione colloidale.

- 7- **confezionamento.** Per stabilizzare l'alimentazione della macchina confezionatrice la bevanda a 25°C viene caricata in un tank asettico da 5000L. Il confezionamento avviene con Tetra A3 Flex. Tutta la procedura è condotta in sterilità.
- La carta per le confezioni in tetra pak entra nel macchinario dalla bobina e viene sterilizzata con una soluzione di acqua ossigenata al 35%, poi strizzata ed asciugata con una lama d'aria. I contenitori tetra square da 1L prendono così la forma e vengono riempiti e tagliati grazie alla presenza di una fotocellula, direttamente nella macchina. Sono poi saldati, chiusi ermeticamente per mezzo dell'applicazione di una fettuccia, datati, tappati con un sistema di centraggio del tappo a raggi infrarossi e raggruppati in scatole da 12, quindi pallettizzati in bancali da 65 scatole;
- 8- **immagazzinamento.** La gestione dei pallets è garantita da navette a guida laser e avviene in un magazzino dinamico per prodotti UHT;
- 9- **liberalizzazione.** Dopo 7 giorni di stoccaggio vengono effettuate le analisi che consentono la liberalizzazione del prodotto;
- 10- **distribuzione e vendita.**

1.9.2. CIP

Tutti gli impianti, serbatoi e macchinari sono serviti di sistemi di lavaggio in automatico o semiautomatico secondo il sistema CIP.

La validazione delle operazioni di lavaggio è effettuata in funzione della prevenzione delle contaminazioni crociate.

Come detergenti sono utilizzati la soda e l'acido nitrico.

La sequenza delle operazioni di lavaggio è la seguente:

- risciacquo iniziale;
- soluzione basica (soda);
- risciacquo intermedio;
- soluzione acida (acido nitrico);
- risciacquo finale con sanificazione a temperatura elevata.

Le attività di sanificazione sono così suddivise:

- preoperative prima di iniziare le lavorazioni (sterilizzazione di impianti e macchinari con acqua calda).

Una serie di valvole pneumatiche sanitarie regolano, oltre le funzioni di ricevimento e svuotamento delle linee e dei serbatoi, anche i loro lavaggi.

Per quanto riguarda gli impianti che precedono il confezionamento, viene attuata una sterilizzazione sia dell'infusore per il trattamento UHT, che del tank asettico, con i seguenti rapporti temperatura/tempo:

- infusore a 150°C per 1800 secondi (tutto ad acqua);
- tank asettico a 125°C per 1800 secondi (sterilizzazione a vapore, raffreddamento ad aria sterile);
- operative in caso di fermata degli impianti per interventi di manutenzione straordinaria o per blocchi imprevisti dell'energia elettrica;
- di routine. Al termine del processo produttivo, entro le prime due ore, si eseguono per ciascun impianto, macchinario e serbatoio i rispettivi lavaggi controllando le temperature previste per ogni detergente e le concentrazioni.

Le operazioni di lavaggio sono ancora più importanti quando viene lavorata la bevanda vegetale. Le contaminazioni crociate con allergeni del latte sono, infatti, molto rischiose. Lo stesso procedimento è fondamentale anche alla fine del trattamento e del confezionamento della bevanda per evitare la contaminazione del latte con allergeni di soia.

Le procedure sono condotte da un personale qualificato e sono gestite da un sistema di supervisione computerizzato che fornisce in tempo reale tutte le informazioni in merito allo stato dell'impianto e delle variabili di processo (temperature, portate, pressioni, concentrazioni delle soluzioni).

1.10. PRODOTTO FINITO CONFEZIONATO

Etichetta

L'etichetta dell'alimento vegetale confezionato dalla Centrale del latte di Vicenza pronto per la vendita è mostrata in Figura 15.

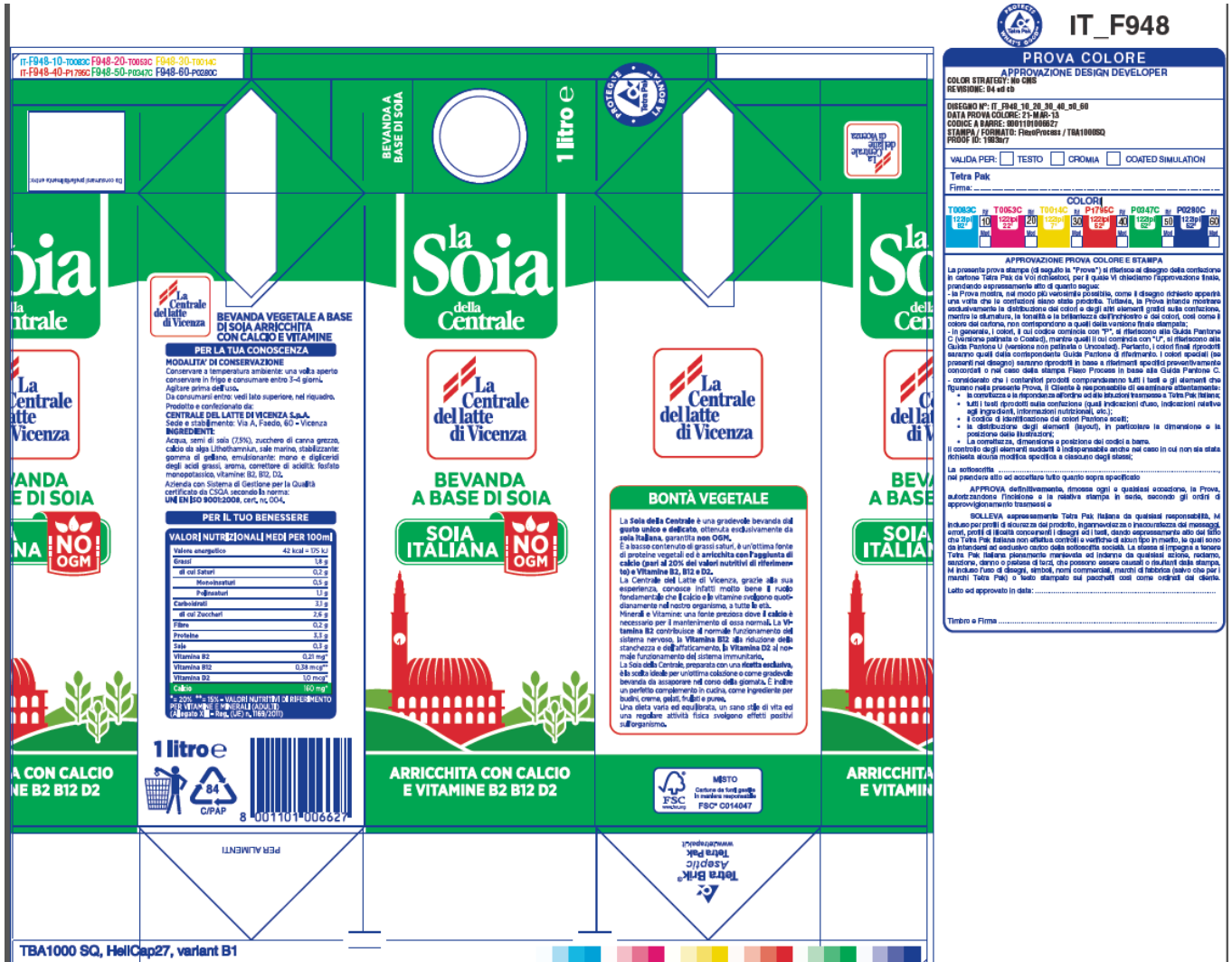


Figura 15 – etichetta della bevanda a base di soia della Centrale di latte di Vicenza

Informazioni nutrizionali (valori medi per 100 g):

energia	42 Kcal
grassi	1,80 g
di cui saturi	0,20 g
di cui monoinsaturi	0,50 g
di cui polinsaturi	1,10 g
carboidrati	3,10 g
di cui zuccheri	2,6 g
fibre	0,20 g
proteine	3,30 g
sale	0,30 g
vitamina B2	0,21 mg *
vitamina B12	0,38 µg **
vitamina D2	1,0 µg *
calcio	160 mg *

*= 20% **= 15% - valori nutritivi di riferimento per vitamine e minerali (adulti) (allegato XIII del Reg. (UE) 1169/2011)

Il Reg. (UE) 1169/2011 prevede le seguenti indicazioni obbligatorie nell'etichetta dei prodotti alimentari:

- valore energetico;
- quantità di grassi di cui acidi grassi saturi, carboidrati di cui zuccheri, proteine e sale.

La Centrale del latte di Vicenza, al fine di dare un'informazione più completa al consumatore, ha deciso di aggiungere nell'etichetta della bevanda a base di soia, oltre alle indicazioni obbligatorie, anche alcune facoltative, quali acidi grassi monoinsaturi, acidi grassi polinsaturi e fibre, in conformità al Reg. (UE) 1169/2011.

Caratteristiche chimiche:

- o pH a T ambiente 7,6 – 8,16
- o proteine 2,8 – 3,8 %
- o grassi 1 – 2,3 %

Caratteristiche fisiche:

- colore crema, caratteristico della bevanda
- odore tipico della bevanda a base di soia
- sapore tipico della bevanda a base di soia
- consistenza liquida con una leggera viscosità

Caratteristiche microbiologiche:

- tenore in germi obiettivo a 30°C <10 ufc/ml
- tenore in germi di riferimento a 30°C < 100 ufc/ml

Packaging e formato

La confezione (Figura 16) è in Tetra Brik Aseptic da 1 litro con tappo a vite. Il packaging è costituito da carta, alluminio e polietilene. Il prodotto è a contatto con il polietilene.

L'operatore, durante il confezionamento, provvede al controllo della tenuta delle confezioni, del loro peso e della data di scadenza.

Esegue, inoltre, la prova di saldatura aprendo alcune confezioni ed iniettando nella loro superficie interna una soluzione di alcol isopropilico ed eritrosina nei punti critici di taglio per valutare la presenza di eventuali punti di discontinuità del polietilene.

Se i pacchetti non sono saldati accuratamente possono contaminarsi e causare alterazione dell'alimento.

Conservazione

La bevanda a base di soia UHT, nella sua confezione originale chiusa, viene conservata a temperatura ambiente poiché è garantita la sua sterilità industriale. Il termine minimo di conservazione del prodotto in commercio, scelto dall'Azienda, è di 9 mesi. Una volta aperto l'alimento deve essere consumato entro 3-4 giorni e mantenuto in frigorifero.



Figura 16 – confezione della bevanda a base di soia UHT della Centrale del latte di Vicenza

2. SCOPO DELLO STUDIO

Lo scopo del presente studio è analizzare il processo produttivo e valutare la shelf-life di una bevanda a base di soia confezionata dalla Centrale del latte di Vicenza.

La Centrale del latte di Vicenza (Figura 17) è un'Azienda alimentare che tratta alimenti di origine animale.



Figura 17 – Centrale del latte di Vicenza

Nell'anno 2012 ha avviato il confezionamento di una bevanda vegetale a base di soia UHT. E' evidente che la convivenza di prodotti di origine differente nei medesimi impianti possa essere problematico, soprattutto per le contaminazioni crociate. L'Azienda è autorizzata a trasformare alimenti vegetali ai sensi del Reg. (CE) 852/2004.

La scelta di confezionare e vendere la bevanda a base di soia è stata determinata dal cambiamento dello stile di vita del consumatore. Il consumatore attuale ha una miglior attesa di vita e sta incrementando, dunque, l'interesse verso quegli alimenti che possono essere potenzialmente benefici per la salute.

Inoltre, sono in aumento le allergie e le intolleranze alimentari, specialmente nei confronti del latte vaccino e la bevanda a base di soia ne è un valido sostituto.

Poi sono sempre di più i consumatori vegetariani e vegani.

Per shelf-life o "vita di scaffale" si intende l'intervallo di tempo in cui, in determinate condizioni di conservazione del prodotto, il progredire degli eventi reattivi determina modificazioni impercettibili sul piano sensoriale o, comunque, ancora accettabili in termini di sicurezza d'uso. Determinare la shelf-life è fondamentale per definire il termine minimo di conservazione o data di scadenza dell'alimento e per migliorare eventualmente la tecnologia produttiva ed il packaging.

Per un'azienda alimentare è, quindi, molto importante conoscere quando la propria merce raggiungerà il livello di non accettabilità per il consumatore.

L'OSA (operatore del settore alimentare) è il responsabile primario della sicurezza igienico-sanitaria ed è tenuto a disporre di piani analisi per la valutazione della stabilità di ciò che produce, trasforma e distribuisce. (Reg. (CE) 178/2002)

Le analisi generalmente prevedono prove in condizioni normali o in condizioni più critiche rispetto a quelle reali, così da accelerare il processo di invecchiamento.

3. MATERIALI E METODI

3.1. PROGRAMMA DI PREREQUISITI OPERATIVI (PRPo) E PIANO HACCP

L'adozione di un programma di PRPo e di un sistema HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) aziendali è fondamentale per garantire la tutela dei pericoli che possono insorgere durante il processo produttivo di un alimento nelle diverse fasi.

I pericoli da considerare sono selezionati sulla base di due parametri di valutazione:

- gravità, ovvero l'entità del danno provocato al consumatore;
- probabilità con la quale il danno si può verificare, ovvero il rischio connesso alla presenza di un determinato pericolo nell'alimento.

Nelle seguenti Tabelle 9 e 10 sono indicati i pericoli che si possono presentare in ogni fase della lavorazione della bevanda a base di soia all'interno della Centrale del latte di Vicenza ed i relativi causa, limiti critici e azioni di controllo.

Tabella 9 – PRPo e CCP

TAPPA	PERICOLO	POSSIBILE CAUSA	AZIONI DI CONTROLLO / LIMITE CRITICO O LIMITE DI PROCESSO	PRPo e CCP
Sterilizzazione infusore	Inquinamento microbiologico Proliferazione di microrganismi indesiderati	Temperatura e tempo di sterilizzazione insufficiente	Rispetto delle specifiche di temperatura > 150°C e di tempo > 30 min	PRPo
Sterilizzazione TKA+linea			Rispetto delle specifiche di temperatura > 125°C	PRPo
Sterilizzazione confezionatrice		Temperatura di sterilizzazione insufficiente	Rispetto delle specifiche di temperatura T° > 280°C	PRPo
Trattamento di infusione	Inquinamento microbiologico	Non raggiungimento della temperatura di sterilizzazione	Rispetto specifiche di temperatura LIMITI CRITICI Temperatura inferiore a 148°C	CCP

Tabella 10 – PRPo e CCP

TAPPA	PERICOLO	POSSIBILE CAUSA	AZIONI DI CONTROLLO / LIMITE CRITICO O LIMITE DI PROCESSO	PRPo e CCP
Tank aseptico	Inquinamento microbiologico	Non mantenimento sterilità interna per problemi ai filtri	Verifica sterilizzazione filtri Rispetto specifiche di sterilizzazione filtri	PRPo
Preparazione macchina	Inquinamento microbiologico	Lavaggio/sterilizzazione non efficace	Verifica allarme in macchina	PRPo
Confezionamento	Inquinamento microbiologico	Confezioni saldate male fettuccia, longitudinalmente, trasversalmente.	Manuale, con pressione sulla confezione	PRPo
Confezionamento	Presenza H ₂ O ₂	Mal funzionamento macchina	Verifica pacchetti inizio confezionamento con stick	PRPo

3.2. PIANO DI CONTROLLO DELLA SHELF-LIFE

Il piano delle analisi da eseguire per il controllo per lo studio della shelf-life della bevanda a base di soia è stato esteso dopo l'esecuzione dell'analisi del rischio e l'individuazione dei punti critici di controllo durante il processo, come previsto dal sistema HACCP (Tabella 11 e 12).

Tabella 11 – piano di controllo della shelf-life della bevanda a base di soia

PIANO DI CONTROLLO DELLA BEVANDA A BASE DI SOIA							
	campione	pH	grasso e proteine	stabilità al calore	esame organolettico		CBT
					controllo visivo	assaggio	
ANALISI a 7 giorni		n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI
	<i>bancale 1</i>	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	2 a 30°C + 1 a 55°C
	<i>bancale 2</i>	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	2 a 30°C + 1 a 55°C
	<i>bancale 3</i>	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	2 a 30°C + 1 a 55°C
	<i>bancale 4</i>	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	2 a 30°C + 1 a 55°C
	<i>bancale 5</i>	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	2 a 30°C + 1 a 55°C
	<i>bancale 6</i>	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	12 TA + 2 a 30°C + 1 a 55°C	1 a T amb	2 a 30°C + 1 a 55°C
ANALISI a 15 giorni		n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI
	<i>bancale 1</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 2</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 3</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 4</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 5</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 6</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
ANALISI a 30 giorni		n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI
	<i>bancale 1</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 2</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 3</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 4</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 5</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
	<i>bancale 6</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C
ANALISI a 2 mesi		n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI	n° PEZZI
	<i>bancale 1</i>	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	12 TA+ 2 a 30°C	12 TA+ 2 a 30°C	1 a T amb	2 a 30°C

Il piano di campionamento è stato esteso su una produzione test di bevanda a base di soia di 6 bancali con 5000 confezioni ciascuno. Nel presente studio viene esaminata una shelf-life di 12 mesi. Per le analisi sono state raccolte oltre 1100 confezioni di bevanda a base di soia con lo scopo di rendere il campionamento rappresentativo.

In particolare, come si evince dalla Tabella 11, dopo 7 giorni dal confezionamento sono presi in considerazione 12 campioni a temperatura ambiente per bancale, 2 campioni a 30°C per bancale e 1 campione a 55°C per bancale su cui eseguire la misurazione del pH, la verifica della stabilità termica ed il controllo visivo. In un campione a temperatura ambiente per bancale vanno anche effettuati la rilevazione dei tenori in grasso e proteine e l'assaggio. In 2 campioni a 30°C per bancale e in un campione a 55°C per bancale va ricercata anche la CBT.

A 15 e 30 giorni e a 2, 3 e 4 mesi di stoccaggio sono presi in considerazione 12 campioni a temperatura ambiente per bancale e 2 campioni a 30°C per bancale su cui eseguire la misurazione del pH, la verifica della stabilità termica ed il controllo visivo. In un campione a temperatura ambiente per bancale vanno anche effettuati la rilevazione dei tenori in grasso e proteine e l'assaggio. In 2 campioni a 30°C per bancale va ricercata anche la CBT.

Da 5 a 12 mesi di conservazione, a differenza dei mesi precedenti, per il conteggio della carica batterica totale sono presi in considerazione anche 2 campioni a temperatura ambiente per bancale, oltre a 2 campioni a 30°C per bancale.

L'esame organolettico prevede sia il controllo visivo che l'assaggio. Per controllo visivo si intende l'osservazione del colore, l'individuazione di eventuali depositi e affioramenti e la percezione di odori indesiderati o anomali.

Tabella 12 – ulteriori analisi della bevanda a base di soia

ULTERIORI ANALISI DELLA BEVANDA A BASE DI SOIA	
inizio confezionamento	calcio + allergeni del latte (caseine e lattosio)
fine confezionamento	calcio + allergeni del latte (caseine e lattosio)
15 giorni	microrganismi patogeni e indicatori di igiene di processo
2 mesi	calcio + vitamine D2, B2 e B12
5 mesi	calcio + vitamine D2, B2 e B12
7 mesi	microrganismi patogeni e indicatori di igiene di processo

3.3. METODICHE DI ANALISI

3.3.1. RICERCA DELLA CARICA BATTERICA MESOFILA AEROBICA TOTALE (CBT) IN PETRIFILM

Il principio del metodo è il conteggio delle colonie mesofile aerobiche totali dopo l'inoculo di diluizioni decimali o di 1ml tal quale di campione, seguito da un'incubazione in condizioni aerobiche per 72h a 30°C.

Viene prelevato, con una pipetta sterile da 2 ml, 1 ml di campione di bevanda a base di soia. L'analisi è stata eseguita sia sul campione diluito, che sul campione tal quale. Le diluizioni seriali sono condotte in provette con la Ringer solution, come mostrato in Figura 18. Ciascuna provetta viene poi passata su un vortex orbitale per il mescolamento del campione diluito.

E' sufficiente, nel caso della bevanda a base di soia, la prima diluizione, ovvero alla -1 (1ml di campione + 9ml di Ringer solution).

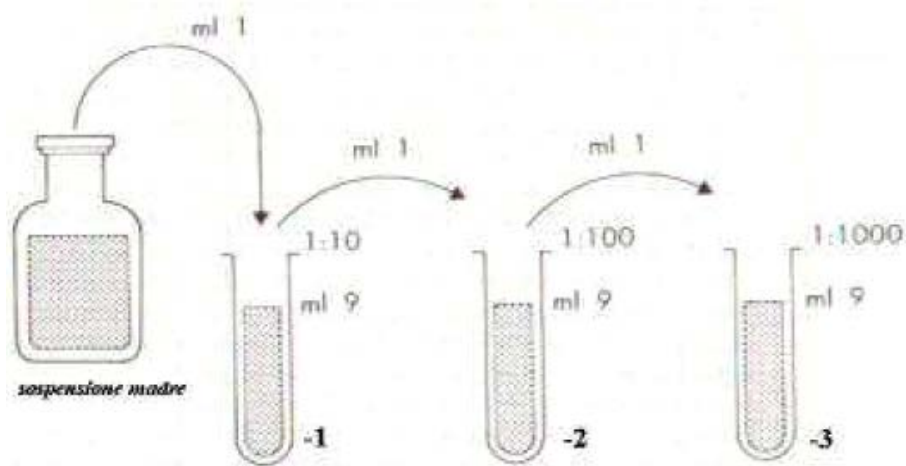


Figura 18 – diluizioni seriali

Il campione tal quale o diluito viene iniettato al centro di una piastra petrifilm per la conta della carica mesofila aerobica totale. (Figura 19)



Figura 19 – petrifilm per la conta della CBT

Le piastre vengono, quindi, lasciate indisturbate per 1 minuto ed, infine, vengono incubate in posizione orizzontale, con la faccia trasparente rivolta verso l'alto, in pile di non più di 20, in un ambiente termostato per 72h a 30°C.

Andranno contate dopo l'incubazione le colonie rosa/rosse cresciute (un esempio in Figura 20). (AFNOR 01/01-09/89)

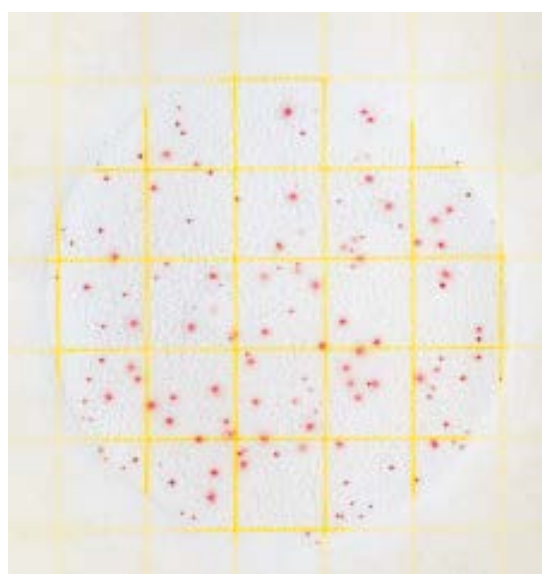


Figura 20 – CBT in petrifilm

3.3.2. RICERCA DELLA CARICA BATTERICA MESOFILA AEROBICA TOTALE IN PIASTRA PETRI CON TERRENO PCA

Il principio del metodo è il conteggio di colonie di microrganismi mesofili aerobi mediante terreno di coltura in piastra per inclusione e successiva incubazione a 30°C per 72h.

Viene prelevato 1ml di campione diluito alla -1 che successivamente viene iniettato in una piastra Petri ventilata da 90 mm. Vengono, quindi, versati in ogni piastra 15-20 ml di terreno PCA (Figura 21).



Figura 21 – piastra Petri con PCA

Si mescola uniformemente il campione con movimenti rotatori ed, infine, le piastre, una volta solidificate ed in pile di massimo 3, vengono incubate a 30°C per 72h in un ambiente aerobico termostato.

Dopo tre giorni si contano tutte le colonie cresciute con morfologia rotonda, margini definiti e di colore chiaro. (metodo interno aziendale in riferimento alla norma UNI EN ISO 4833:2004)

3.3.3. PROVA DELLA STABILITA' AL CALORE (PROVA DI BOLLITURA O DI SEDIMENTAZIONE)

Il principio del metodo è la valutazione della stabilità della bevanda di soia all'ebollizione prolungata.

Vengono prelevati da ogni confezione precedentemente aperta con una micropipetta 10 ml di campione, erogati poi in provette di vetro pulite (Figura 22). Le provette vengono riscaldate per 1 minuto all'interno di un forno a microonde (800-1000 W) fino all'ebollizione.

Viene verificato, infine, lo stato dei campioni all'interno delle provette. (metodo interno aziendale)



Figura 22 – provette contenenti campioni di bevanda a base di soia per la prova di stabilità termica

3.3.4. MISURAZIONE DEL pH

Il principio del metodo è misurare l'acidità o l'alcalinità della bevanda di soia in riferimento agli ioni presenti.

L'elettrodo del pH-metro, lo strumento usato per la misurazione del pH, una volta calibrato, viene sciacquato con acqua demineralizzata ed asciugato delicatamente con carta assorbente. Viene, quindi, immerso nel campione da analizzare sotto continua agitazione per migliorare la precisione ed il tempo di risposta.

Il numero stabile che si legge sul display dello strumento riporta come valore assoluto l'indice di pH con espressione alla seconda cifra decimale. (metodo interno aziendale)

3.3.5. ESAME ORGANOLETTICO

L'esame organolettico prevede il controllo visivo e l'assaggio del prodotto.

Tutti i campioni devono essere aperti, tagliando trasversalmente il pack nella parte apicale e non svitando semplicemente il tappo, così da poter osservare al meglio il colore della bevanda ed il suo aspetto fisico (depositi e affioramenti).

Si deve, inoltre, percepire eventuali sviluppi di odori indesiderati o anomali ed, infine, assaggiare il prodotto. (metodo interno aziendale)

3.3.6. RILEVAZIONE DEI TENORI IN GRASSO E PROTEINE

Viene effettuata mediante uno strumento chiamato Milko Scan FT 120 (Figura 23) che funziona per mezzo di un sistema a raggi infrarossi.

L'elettrodo dello strumento viene inserito all'interno del campione in esame. Lo strumento viene avviato e si attende per 30 secondi l'esito dell'analisi che verrà restituito, sotto forma di dati digitalizzati, nel computer collegato. (metodo MA08c226 in riferimento alla norma FIL-IDF 141:C 2000)



Figura 23 – Milko Scan FT 120

3.3.7. RILEVAZIONE DELLE QUANTITA' DI CALCIO E VITAMINE

Questa analisi è di competenza di un Laboratorio esterno qualificato e viene condotta secondo metodi interni per le vitamine B12 e D2 e secondo metodi interni accreditati per la vitamina B2 e per il calcio.

3.3.8. RILEVAZIONE DI ALLERGENI DEL LATTE VACCINO

L'analisi viene effettuata in riferimento ad un metodo interno (ELISA).

3.3.9. RICERCA DEI MICRORGANISMI PATOGENI E DEGLI INDICATORI DI IGIENE DI PROCESSO

L'analisi sui microrganismi patogeni e sugli indicatori di igiene di processo è stata eseguita a 15 giorni nel Laboratorio aziendale da un personale qualificato e da un Laboratorio esterno accreditato a 7 mesi.

(Metodo di prova per *Salmonella* in riferimento alla norma ISO 6579:2002; metodo di prova per *Listeria monocytogenes* in riferimento alla norma UNI EN ISO 11290-1:2005; metodo di prova per *Staphylococchi coagulasi positivi* in riferimento alla norma ISO 6888-1:1999; metodo di prova per *E. coli* in riferimento alla norma ISO 16649-2:2001; metodo di prova per *Enterobatteri* in riferimento alla norma ISO 21528-2:2004)

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

I risultati illustrati nelle Tabelle dalla numero 13 alla 26 sono relativi alla misurazione del pH, alla rilevazione del tenore in grasso e proteine e alle analisi microbiologiche a partire da 7 giorni di conservazione dopo il confezionamento.

Tabella 13 – analisi a 7 giorni

ANALISI A 7 GIORNI

campione	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C	1 55°C
bancale 1	pH	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	8,16	7,78	7,78	7,6
	grasso/proteine	1,13/3,38														
	CBT													<1	<1	<1
campione	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C	1 55°C
bancale 2	pH	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	7,78	7,78	7,6
	grasso/proteine	1,12/3,38														
	CBT													<1	<1	<1
campione	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C	1 55°C
bancale 3	pH	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	7,78	7,78	7,6
	grasso/proteine	1,13/3,38														
	CBT													<1	<1	<1
campione	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C	1 55°C
bancale 4	pH	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	7,78	7,78	7,6
	grasso/proteine	1,13/3,39														
	CBT													<1	<1	<1
campione	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C	1 55°C
bancale 5	pH	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	8,15	7,78	7,78	7,6
	grasso/proteine	1,13/3,39														
	CBT													<1	<1	<1
campione	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C	1 55°C
bancale 6	pH	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,13	8,13	7,78	7,78	7,6
	grasso/proteine	1,13/3,39														
	CBT													<1	<1	<1

Tabella 14 – analisi a 15 giorni

ANALISI A 15 GIORNI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	7,76	7,76
	grasso/proteine	1,12/3,36													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	7,76	7,76
	grasso/proteine	1,12/3,36													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	7,76	7,76
	grasso/proteine	1,12/3,36													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	8,14	7,76	7,76
	grasso/proteine	1,12/3,36													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	7,76	7,76
	grasso/proteine	1,12/3,36													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	8,13	7,76	7,76
	grasso/proteine	1,12/3,36													
	CBT													<10	<10

Tabella 15 – analisi a 30 giorni

ANALISI A 30 GIORNI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	7,75	7,75
	grasso/proteine	1,10/3,43													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	7,75	7,75
	grasso/proteine	1,09/3,40													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	7,74	7,74
	grasso /proteine	1,09/3,42													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	7,75	7,75
	grasso/proteine	1,09/3,41													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	8,06	7,74	7,74
	grasso/proteine	1,09/3,42													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	8,08	7,75	7,75
	grasso/proteine	1,09/3,41													
	CBT													<10	<10

Tabella 16 – analisi a 2 mesi

ANALISI A 2 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	7,75	7,75
	grasso/proteine	1,14/3,39													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	7,75	7,75
	grasso/proteine	1,15/3,38													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7,75	7,75
	grasso/proteine	1,17/3,38													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7,74	7,74
	grasso/proteine	1,17/3,38													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,74	7,74
	grasso/proteine	1,17/3,38													
	CBT													<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	7,75	7,75
	grasso/proteine	1,15/3,38													
	CBT													<10	<10

Tabella 17 – analisi a 3 mesi

ANALISI A 3 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	7,73	7,73
	grasso/proteine	1,13/3,39													
	CBT													<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7,73	7,73
	grasso/proteine	1,14/3,38													
	CBT													<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	7,73	7,73
	grasso/proteine	1,14/3,38													
	CBT													<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,98	7,73	7,73
	grasso/proteine	1,14/3,38													
	CBT													<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	7,73	7,73
	grasso/proteine	1,13/3,39													
	CBT													<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	8,04	7,73	7,73
	grasso/proteine	1,13/3,39													
	CBT													<10	<10

Tabella 18 – analisi a 4 mesi

ANALISI A 4 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,71	7,71
	grasso/proteine	1,12/3,40													
	CBT													< 10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,7	7,7
	grasso/proteine	1,13/3,40													
	CBT													< 10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,89	7,69	7,69
	grasso/proteine	1,13/3,39													
	CBT													10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,71	7,71
	grasso/proteine	1,14/3,40													
	CBT													< 10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,71	7,71
	grasso/proteine	1,14/3,39													
	CBT													< 10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,85	7,71	7,71
	grasso/proteine	1,14/3,40													
	CBT													< 10	<10

Tabella 19 – analisi a 5 mesi

ANALISI A 5 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,7	7,7
	grasso/proteine	1,13/3,40													
	CBT	30	<10											<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,69	7,69
	grasso/proteine	1,12/3,41													
	CBT	<10	<10											<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,83	7,67	7,67
	grasso/proteine	1,13/3,41													
	CBT	<10	<10											<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,68	7,68
	grasso/proteine	1,13/3,40													
	CBT	<10	<10											<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,68	7,68
	grasso/proteine	1,13/3,41													
	CBT	<10	<10											<10	<10

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,81	7,68	7,68
	grasso/proteine	1,13/3,41													
	CBT	<10	<10											<10	<10

Tabella 20 – analisi a 6 mesi

ANALISI A 6 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	7,79	7,79	7,79	7,79	7,79	7,79	7,79	7,79	7,79	7,79	7,79	7,79	7,66	7,66
	grasso/proteine	1,11/3,39													
	CBT	<10	<10											<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,66	7,66
	grasso/proteine	1,12/3,4													
	CBT	20	<10											10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,65	7,65
	grasso/proteine	1,12/3,4													
	CBT	<10	<10											<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,66	7,66
	grasso/proteine	1,11/3,4													
	CBT	<10	<10											<10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,76	7,65	7,65
	grasso/proteine	1,12/3,41													
	CBT	<10	<10											10	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,77	7,64	7,64
	grasso/proteine	1,12/3,41													
	CBT	<10	<10											<10	<10

Tabella 21 - analisi a 7 mesi

ANALISI A 7 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,64	7,64
	grasso/proteine	1,12/3,42													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,75	7,64	7,64
	grasso/proteine	1,13/3,42													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,63	7,63
	grasso/proteine	1,12/3,41													
	CBT	<1	<1											1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,63	7,63
	grasso/proteine	1,13/3,43													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,64	7,64
	grasso/proteine	1,11/3,42													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	7,64	7,64
	grasso/proteine	1,12/3,42													
	CBT	<1	<1											<1	<1

Tabella 22 – analisi a 8 mesi

ANALISI A 8 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,61	7,61
	grasso/proteine	1,1/3,4													
	CBT	<1	<10											<1	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,61	7,61
	grasso/proteine	1,09/3,41													
	CBT	1	<10											<1	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,61	7,61
	grasso/proteine	1,1/3,41													
	CBT	<1	<10											<1	10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,61	7,61
	grasso/proteine	1,12/3,42													
	CBT	<1	<10											<1	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,71	7,62	7,62
	grasso/proteine	1,11/3,42													
	CBT	<1	<10											<1	<10
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,72	7,61	7,61
	grasso/proteine	1,11/3,42													
	CBT	<1	<10											<1	<10

Tabella 23 – analisi a 9 mesi

ANALISI A 9 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,59	7,59
	grasso/proteine	1,88/3,41													
	CBT	1	<1											1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,6	7,6
	grasso/proteine	1,66/3,42													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,59	7,59
	grasso/proteine	1,75/3,42													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,6	7,6
	grasso/proteine	1,75/3,42													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,58	7,58
	grasso/proteine	1,73/3,41													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7	7,58	7,58
	grasso/proteine	1,73/3,41													
	CBT	<1	<1											<1	<1

Tabella 24 – analisi a 10 mesi

ANALISI A 10 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,57	7,57
	grasso/proteine	1,67/3,44													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,56	7,56
	grasso/proteine	1,68/3,44													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,56	7,56
	grasso/proteine	1,69/3,42													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,56	7,56
	grasso/proteine	1,66/3,47													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,69	7,56	7,56
	grasso/proteine	1,67/3,46													
	CBT	<1	<1											<1	<1

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,57	7,57
	grasso/proteine	1,67/3,46													
	CBT	<1	<1											<1	<1

Tabella 25 – analisi a 11 mesi

ANALISI A 11 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 1</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,55	7,55
	grasso/proteine	1,65/3,43													
	CBT	<1	<1											<1	<1
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 2</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,55	7,55
	grasso/proteine	1,63/3,44													
	CBT	1	<1											<1	<1
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 3</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,54	7,54
	grasso/proteine	1,64/3,42													
	CBT	1	<1											<1	<1
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 4</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,54	7,54
	grasso/proteine	1,61/3,44													
	CBT	1	<1											1	<1
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 5</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,55	7,55
	grasso/proteine	1,63/3,42													
	CBT	1	<1											1	<1
<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1 30°C	2 30°C
<i>bancale 6</i>	pH	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,68	7,55	7,55
	grasso/proteine	1,64/3,42													
	CBT	<1	<1											<1	1

Tabella 26 – analisi a 12 mesi

ANALISI A 12 MESI

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>bancale 1</i>	pH	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
	grasso/proteine	1,65/3,41											
	CBT	<1	<1										

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>bancale 2</i>	pH	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
	grasso/proteine	1,65/3,41											
	CBT	1	<1										

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>bancale 3</i>	pH	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
	grasso/proteine	1,65/3,41											
	CBT	<1	<1										

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>bancale 4</i>	pH	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
	grasso/proteine	1,65/3,41											
	CBT	1	<1										

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>bancale 5</i>	pH	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
	grasso/proteine	1,67/3,45											
	CBT	<1	<1										

<i>campione</i>	T°C AMBIENTE	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>bancale 6</i>	pH	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
	grasso/proteine	1,66/3,45											
	CBT	<1	<1										

I risultati presentati nelle seguenti Tabelle 27 e 28 riguardano le analisi per la ricerca dei microrganismi patogeni condotte, rispettivamente, dopo 15 giorni e 7 mesi dal confezionamento.

Tabella 27 – risultati dell’analisi su microrganismi patogeni e indicatori di igiene di processo dopo 15 giorni dal confezionamento

ANALISI	RISULTATO
<i>Salmonella spp</i>	assente in 25 grammi
<i>Listeria monocytogenes</i>	assente in 25 grammi
<i>Staphylococcus aureus</i>	<10
<i>CBT</i>	<10
<i>Coliformi fecali</i>	<1
<i>Escherichia coli</i>	<10
<i>Coliformi totali</i>	<10
<i>Enterobacteriaceae</i>	<1

Tabella 28 – risultati dell’analisi su microrganismi patogeni e indicatori di igiene di processo dopo 7 mesi dal confezionamento

ANALISI	RISULTATO
<i>Salmonella spp</i>	assente in 25 grammi
<i>Listeria monocytogenes</i>	assente in 25 grammi
<i>Staphylococchi coagulasi positivi</i>	N.R.
<i>E. coli</i>	N.R.
<i>Enterobatteri</i>	N.R.

4.1.CBT E MICRORGANISMI PATOGENI

La temperatura è il fattore più utilizzato per il controllo dello sviluppo dei microrganismi negli alimenti. Il trattamento UHT della bevanda a base di soia è l'unico punto critico di controllo del sistema HACCP aziendale. Necessario, oltre al corretto rapporto tempo/temperatura durante l'infusione, è il mantenimento delle condizioni di sterilità a seguito del trattamento termico fino alla fine del confezionamento dell'alimento.

La bevanda a base di soia è un ottimo terreno di coltura per i microrganismi in quanto ha un pH debolmente basico e contiene un'elevata quantità d'acqua. Per questo motivo non si può tenere in considerazione significativamente il parametro Aw (attività dell'acqua) come fattore di conservazione. Il rimedio, quindi, contro lo sviluppo microbico nella bevanda è la sterilizzazione.

Il trattamento termico UHT determina una distruzione di tutte le forme vegetative e della gran parte delle forme sporigene. Si parla, perciò, di "sterilizzazione commerciale", ovvero quel trattamento che garantisce che non vi sia uno sviluppo di carica tale da provocare alterazione dell'alimento durante la sua conservazione.

Importante è il controllo continuo dell'impianto; si è osservato che con temperature <142°C potrebbe non essere garantita la sterilità del processo.

Il prodotto, affinché possa essere definito accettabile, deve rispettare anche il criterio di sicurezza alimentare ed il criterio di igiene di processo sanciti dal Reg. (CE) 2073/2005.

La analisi microbiologiche hanno avuto lo scopo di enumerare la carica batterica aerobica mesofila totale, i microrganismi patogeni e gli indicatori di igiene di processo per valutare l'aspetto igienico-sanitario, le problematiche di processo e l'avvenuto trattamento termico della bevanda a base di soia UHT.

Il tenore in germi (CBT) a 30°C ha come obiettivo <10 ufc/ml, tenendo conto che il valore limite di riferimento è <100 ufc/ml.

La CBT è stata contata sia in petrifilm, che in piastra Petri con terreno PCA.

Sono stati presi in considerazione campioni tenuti a 30°C, a 55°C e campioni mantenuti a temperatura ambiente. Stressando il prodotto in un ambiente termostato, viene accelerata la crescita microbica eventualmente presente.

L'analisi in piastra Petri è stata eseguita su 100µl di campione. La lettura della piastra è purtroppo risultata abbastanza difficoltosa nell'interpretazione. La bevanda campionata lascia nella piastra residui chiari facilmente confondibili con le colonie batteriche che, nel terreno PCA, si presentano con un colore molto simile. Focalizzarsi sulla forma, sulla

dimensione e sulla regolarità dei margini delle colonie cresciute aiuterebbe nella lettura, ma, dal momento che la sterilità è il requisito principale per il mantenimento della stabilità dell'alimento, è stato meglio eseguire una valutazione più sicura in petrifilm.

Nei petrifilm i campioni sono stati inoculati sia diluiti, che tal quale. La carica presente è risultata talmente bassa o assente da non esservi la stretta necessità di applicare diluizioni seriali del campione per migliorare il conteggio delle colonie.

Dalle analisi è emerso che:

- dopo 7 giorni a 55°C non è cresciuta alcuna colonia;
- per i primi 3 mesi a 30°C non è cresciuta alcuna colonia;
- in un campione a 30°C a 4 mesi è stata evidenziata una carica di 10 ufc/ml;
- in due campioni a temperatura ambiente, uno a 5 mesi e l'altro a 6 mesi, le cariche hanno superato il limite obiettivo, essendo rispettivamente pari a 30 ufc/ml e 20 ufc/ml, ma sono comunque conformi poiché il limite accettabile di riferimento è <100 ufc/ml;
- tre campioni a 30°C, due a 6 mesi ed uno a 8 mesi, hanno una carica di 10 ufc/ml;
- otto campioni conservati a temperatura ambiente, uno a 8 mesi, uno a 9 mesi, quattro a 11 mesi e due a 12 mesi e cinque campioni stoccati a 30°C, uno a 7 mesi, uno a 9 mesi e tre a 11 mesi, hanno presentato una carica di 1 ufc/ml, rispettando comunque il limite obiettivo.

A fronte di 258 campioni totali analizzati aver trovato solo 5 campioni con carica superiore o uguale a 10 ufc/ml, ma sempre inferiore a 100, fa ritenere, dopo un'attenta valutazione, questa non conformità più legata alla manipolazione e all'apertura dei campioni in sede di analisi che considerare che il processo produttivo sia avvenuto in situazione di non conformità. E' stato necessario proseguire con le analisi per confermare tale ipotesi.

Bisogna anche considerare che i campioni che hanno presentato una carica superiore al limite stabilito non hanno presentato alcuna alterazione né fisica, né organolettica; ciò rafforza l'ipotesi che la contaminazione sia avvenuta durante l'analisi.

L'apertura delle confezioni, a causa della numerosità dei campioni, non è avvenuta sotto cappa, né dopo un lavaggio accurato del pacchetto con alcool iodato, ma davanti ad un becco bunsen per creare una zona limitrofa di sterilità (Figura 24) e dopo aver tolto la polvere depositatasi sulla parte apicale della confezione. La modalità di apertura è stata attraverso il tappo che potrebbe esso stesso aver provocato contaminazione del campione.

Non ci sono state differenze significative tra i risultati ottenuti da campioni conservati a temperature diverse.



Figura 24 – analisi CBT

Il piano di controllo prevede, inoltre, la ricerca dei batteri patogeni e degli indicatori di igiene di processo. I batteri patogeni sono importanti per la sicurezza dell'alimento verso il consumatore.

Le attività di sanificazione di linee, serbatoi, impianti, tank asettico e macchinari sono importanti per garantire una corretta sterilizzazione di essi prima della produzione della bevanda a base di soia. Dopo l'infusione si rilevano due punti critici, quali la fase di omogeneizzazione che deve avvenire in sterilità ed il tank asettico che viene caricato per alimentare la macchina confezionatrice. Durante il confezionamento i punti critici individuati sono l'inizio della produzione, la giuntura della carta, la giuntura della fettuccia, la ripartenza, il cambio di serbatoio e la fine della produzione.

E' da considerare anche che tutto il processo della bevanda a base di soia non prevede l'intervento dell'uomo, che pertanto non entra mai in contatto con essa. L'unica manovra che spetta all'operatore è l'inserimento della bobina che viene poi immediatamente sterilizzata prima di incontrare l'alimento.

Dalle analisi è emerso che i batteri patogeni e gli indicatori di igiene di processo rientrano nei limiti prefissati a dimostrazione del fatto che il trattamento termico è avvenuto correttamente e che non vi sono state contaminazioni dopo l'infusione, né durante il confezionamento del prodotto.

Si può dunque affermare che, nel complesso, la bevanda a base di soia studiata abbia rispettato i requisiti per la “sterilità commerciale”.

4.2.CONTAMINAZIONI CROCIATE

Lo scopo dell’analisi è l’individuazione di eventuali contaminazioni crociate con residui del latte, quindi, con allergeni del latte.

Le analisi sugli allergeni sono obbligatorie per garantire la sicurezza dell’alimento a fronte del fatto che il trattamento ed il confezionamento della bevanda vegetale avvengono in uno stabilimento che per il 99% è dedicato alla lavorazione del latte e derivati. In verità nello stesso impianto in un giorno viene lavorata la bevanda a base di soia ed il giorno successivo, solo dopo accurati lavaggi (CIP) e controlli, viene lavorato il latte. Il sistema di gestione della Centrale del latte di Vicenza mantiene traccia di questi lavaggi in termini di tempi di lavaggio, temperature di lavaggio e concentrazioni usate per le soluzioni di lavaggio. Questo aspetto tecnico e di sicurezza è stato approfondito dall’ULSS 6 di Vicenza in sede di autorizzazione. L’ULSS 6 di Vicenza effettuerà prossimamente un audit alla Centrale del latte di Vicenza per verificare se i requisiti richiesti in fase di autorizzazione sono mantenuti anche in fase di produzione della bevanda a base di soia.

Per verificare la possibile presenza di residui del latte vaccino nell’alimento vegetale la ricerca è stata indirizzata verso il lattosio e la caseina. Dalle analisi effettuate non è stata rilevata la presenza né di lattosio, né di caseina, sia all’inizio (la fase più critica) che alla fine del confezionamento.

Se si presentassero allergeni del latte sarebbe negata la conformità della bevanda a base di soia, in quanto potrebbe provocare danni, anche gravi, alla salute di quegli individui allergici alle proteine del latte o intolleranti al lattosio, che la consumano come sostituto del latte vaccino.

4.3. pH

Il pH rappresenta l'indice di rilievo dello stato di acidità, neutralità o alcalinità di un mezzo e, relativamente alla bevanda a base di soia, lo stato di conservazione.

Lo strumento utilizzato per la rilevazione del pH è il pH-metro, che viene calibrato con soluzioni tampone standard a pH 4,01 e 7,01.

La calibrazione può essere associata ad eventuali errori di misurazione ed è fondamentale che venga effettuata subito prima dell'analisi. Gli standards non devono essere mescolati tra loro o contaminati con residui di alimenti, pertanto è utile sciacquare ed asciugare l'elettrodo dopo ogni lettura.

Inoltre, il pH è influenzato dalla temperatura del mezzo con una correlazione inversa; a temperature più elevate corrisponde un pH più basso.

La bevanda a base di soia, oggetto di studio, è caratterizzata da un pH debolmente basico che si è mantenuto a temperatura ambiente tra un massimo di 8,16 dopo 7 giorni di stoccaggio ed un minimo di 7,60 a 12 mesi. Nei campioni a 30°C il pH iniziale a 7 giorni è stato di 7,78 e si è modificato fino ad un minimo di 7,54 all'undicesimo mese. Nei campioni mantenuti a 55°C per 7 giorni il pH riscontrato è stato di 7,60.

Dalle analisi non è emerso alcun campione con un pH acido. pH acidi attorno al 4,6 favoriscono la coagulazione delle proteine di soia, dunque, la separazione di fase del prodotto. (Pathomrungsiyonggul et al., 2010) Tuttavia, il problema può presentarsi già a pH 6. (Lu et al., 1980)

Abbassamenti significativi del pH potrebbero essere dovuti alla presenza di microrganismi alteranti per un trattamento termico non avvenuto correttamente, per contaminazioni dopo il trattamento termico stesso o per difetti di chiusura dei pacchetti.

Le diminuzioni che si sono verificate nel nostro studio non sono significative per la sicurezza del prodotto. Il calcio presente nella bevanda a base di soia influenza, a seconda del suo grado di solubilità, un leggero abbassamento del pH. Per i campioni conservati a 30°C e a 55°C è da considerare anche lo stress termico.

Complessivamente, quindi, si può assumere che il pH della bevanda vegetale sia rimasto nella norma.

4.4. STABILITÀ TERMICA

L'analisi sulla stabilità termica ha lo scopo di individuare eventuali campioni di bevanda a base di soia non conforme che mal sopportano la bollitura.

Interpretazione dei risultati dopo la bollitura:

- nessuna modifica, assenza di grumi e precipitato → bevanda conforme;
- formazione di grumi e precipitato, odore da vecchio o acido → bevanda non conforme.

Nella valutazione della qualità della bevanda a base di soia l'Azienda ha previsto l'analisi sulla stabilità termica, anche pensando che il consumatore possa consumarla come il latte, dunque bollita. La stabilità termica deve essere garantita per tutta la vita del prodotto.

La bevanda a base di soia della Centrale del latte di Vicenza si è dimostrata essere sempre stabile al calore durante la sua conservazione. Nelle provette i campioni di bevanda stressati in forno a microonde non hanno mostrato coagulazione proteica; ciò significa che non si sono verificate reazioni enzimatiche o microbiche che se presenti avrebbero causato un'acidificazione del prodotto. Questo risultato, infatti, è in accordo con i pH debolmente basici misurati. Se l'alimento avesse avuto un pH acido (<6 ed in particolare attorno a 4,6), vicino al punto isoelettrico delle proteine di soia, sarebbe stata evidente una coagulazione proteica già a temperatura ambiente ed ancor di più dopo la bollitura.

4.5. TENORI IN GRASSO E PROTEINE

Lo scopo dell'analisi è la valutazione di eventuali variazioni sui tenori in grasso e proteine dopo il trattamento termico e la verifica dello stato di omogeneità della bevanda durante la sua conservazione.

Nel presente studio non è stata rilevata una perdita o una modificazione significativa di proteine e di grasso dopo il trattamento termico, mentre la modificazione della composizione aminoacidica non è stata esaminata.

Il rapporto tempo/temperatura che viene studiato e fissato per l'infusione deve garantire allo stesso tempo la sterilità commerciale del prodotto ed il minor danno termico.

Durante la conservazione possono germinare spore di microrganismi alteranti, sopravvissuti allo stress termico, dotati di enzimi proteolitici e di lipasi in grado di idrolizzare le proteine ed i grassi. Le analisi microbiologiche hanno, però, dimostrato che la bevanda prodotta è conforme al requisito di sterilità commerciale.

Altri fenomeni di idrolisi proteica e lipidica possono avvenire per opera di enzimi non inattivati dal trattamento UHT, ma non sono stati rilevati in questo studio.

Anche i processi ossidativi dei grassi sono abbastanza improbabili, in quanto l'alimento contiene polifenoli antiossidanti e nella sua confezione integra è protetto dalla luce e dall'aria, nonostante una quota di ossigeno sia stata inglobata durante il confezionamento.

Tali reazioni avrebbero provocato, infatti, un'alterazione fisica ed organolettica della bevanda a base di soia che non è stata riscontrata in alcun campione.

La bevanda a base di soia è un alimento che tende a separarsi in fasi. Può succedere, pertanto, che una zona contenga una quantità più elevata di proteine e di grasso rispetto ad un'altra.

Per garantire la rappresentatività dei campioni di bevanda di soia è bene attuare un mescolamento prima di effettuare l'analisi, così da limitare il margine di errore. Non si utilizzano particolari sistemi di mescolamento del prodotto; l'agitazione viene eseguita manualmente come farebbe qualunque consumatore prima di usufruire del prodotto, data l'avvertenza in etichetta: "Agitare prima dell'uso".

La rilevazione di grasso e proteine è stata eseguita mediante il Milko Scan FT 120. Esso è uno strumento a raggio medio infrarosso molto sfruttato per le analisi chimiche del latte e viene calibrato secondo dati di riferimento. In base all'equazione di calibrazione il dato restituito può essere diverso. Dal nono mese i valori di grasso ottenuti sono più elevati poiché è stata cambiata la curva di calibrazione dello strumento.

Dai risultati si può osservare un andamento pressochè costante di entrambi i nutrienti lungo tutto il corso della conservazione del prodotto. Tali dati sono a supporto di una buona stabilità del prodotto che non presenta separazioni di fase significative.

4.6. QUANTITA' DI VITAMINE E CALCIO

La rilevazione di calcio e vitamine ha avuto lo scopo di verificare eventuali perdite dopo l'infusione e lo stato di omogeneità della bevanda nel corso della conservazione.

Il trattamento termico ha effetto anche sulle vitamine. In particolare le vitamine del gruppo B sono termolabili. Il rapporto tempo/temperatura durante il trattamento UHT è stato studiato affinché non venisse provocato danno termico.

I risultati mostrati nella successiva Tabella 26 riguardano le analisi per la rilevazione delle concentrazioni di calcio e vitamine nella bevanda a base di soia oggetto di studio.

Tabella 26 – risultati delle analisi per la rilevazione di calcio e vitamine nella bevanda a base di soia

ANALITA	INIZIO CONFEZIONAMENTO	FINE CONFEZIONAMENTO	2 MESI	5 MESI
Calcio	195 mg/100g	219 mg/100g	192 mg/100g	183 mg/100g
Vitamina D2	–	–	2,17 µg/100g	1,82 µg/100g
Vitamina B2	–	–	0,21 mg/100g	0,25 mg/100g
Vitamina B12	–	–	0,44 µg/100g	0,42 µg/100g

Non sono state osservate perdite rilevanti dopo l'infusione.

Le differenze, comunque non significative, che sono state riscontrate sono dovute alla disomogeneità fisica della bevanda a base di soia che richiede una sufficiente agitazione prima di effettuare le analisi, in modo da rendere il campione rappresentativo.

4.7. ESAME ORGANOLETTICO

Lo scopo di questa analisi è la percezione sensoriale di eventuali modificazioni nel tempo in termini di sapore, odore, colore ed aspetto della bevanda di soia.

Un gruppo di 4 analisti del Laboratorio della Centrale del latte di Vicenza hanno eseguito i panel test aziendali.

Trattamenti ad elevate temperature provocano generalmente ripercussioni sulle caratteristiche organolettiche degli alimenti.

La denaturazione enzimatica è un processo di rilevanza nella bevanda a base di soia, in quanto enzimi, come la lipossigenasi che produce l'aldeide insatura esanale, sono in grado di conferire aromi sgradevoli. L'inibizione di essi viene già parzialmente effettuata con il "blanching" durante il processo di estrazione e di preparazione della materia prima.

Tuttavia, con l'azione del calore, possono formarsi nuovi composti volatili indesiderati che possono essere controllati e/o mascherati con l'aggiunta di aromatizzanti e con processi tecnologici.

In letteratura sono stati rilevati composti solforati, composti aromatici derivati dalla decomposizione termica degli idroperossidi degli acidi grassi linoleico e linolenico, composti dal sapore dolce e composti con aroma tostato. (Lozano P. R. et al., 2007)

L'aroma conferito da questi composti volatili nella bevanda a base di soia della Centrale del latte di Vicenza è controllato dal processo di degaser nella camera ad espansione, che deve essere regolato in maniera ottimale e dall'aggiunta di sostanze aromatiche che ricordano la crema di latte. Il degaser dà garanzia di un prodotto buono dal punto di vista sensoriale.

L'aggiunta di aromi che ricordano la crema di latte può risultare fuorviante per il consumatore. Un consumatore vegano, infatti, di recente si è informato presso l'Azienda riguardo al significato di "aroma simile alla crema di latte". E' bene, quindi, specificare che tali sostanze aromatiche non sono degli estratti del latte, ma sono dei composti che conferiscono solo un'idea di percezione simile alla crema di latte.

Sono ritenuti parzialmente responsabili dei caratteri organolettici negativi delle bevande a base di soia anche saponine (gruppo A), isoflavoni e altri fenoli già presenti nei semi prima della lavorazione del prodotto.

Eseguire una valutazione sensoriale corretta delle bevande a base di soia non è scontato. Occorre utilizzare una terminologia appropriata e non è sempre semplice comprendere al meglio il carattere organolettico corrispondente.

Beany e *beaniness* sono i termini più specifici per il sapore e l'aroma tipici conferiti dalla presenza di esanale, dei quali non è facile un'esemplificazione. Altri attributi impiegati sono verde, erboso, rancido, astringente, metallico e amaro.

L'aroma di una bevanda di soia commerciale è stato descritto in uno studio da "amido come farina" e da "dolce come il latte caramellato". Evidente è stata l'assenza di sapori metallici, di astringenza e di amarezza. (Torres-Penaranda & Reitmeier, 2001)

Il gruppo aziendale ha effettuato una valutazione sensoriale della bevanda di soia conservata a temperatura ambiente nel tempo, dal tempo zero. Non essendo formato da esperti panelisti, non è stato in grado di giudicare con termini specifici l'aroma ed il sapore dell'alimento vegetale, ma ha cercato di percepire eventuali modificazioni rispetto alle caratteristiche organolettiche del prodotto di partenza.

Il sapore è rimasto costantemente gradevole e dolce nel tempo.

L'odore si è mantenuto per tutta la conservazione quello tipico della bevanda a base di soia. Non sono stati avvertiti difetti di rancido o di vecchio; a fronte di questo risultato si può affermare che i grassi non abbiano subito irrancidimento ossidativo.

Un altro carattere preso in considerazione durante l'analisi sensoriale è il colore.

Con l'*Infusion technology* viene limitata la reazione di Maillard nel prodotto. La reazione di Maillard è una reazione che avviene in presenza di zuccheri riducenti e di proteine quando vi è l'esposizione dell'alimento al calore. Le bevande vegetali contengono un'elevata quantità di xilosio che con i trattamenti termici può reagire con le proteine e produrre idrossimetilfurfurale, il composto responsabile dell'imbrunimento non enzimatico.

Il colore della bevanda a base di soia della Centrale del latte di Vicenza è tipo crema e non è mutato nei campioni a temperatura ambiente per l'intera vita dell'alimento. Si è notato, invece, un leggero imbrunimento a partire da 9 mesi di shelf-life nei campioni conservati a 30°C. Il viraggio del colore è di tipo non enzimatico ed è dovuto allo stress causato dalla temperatura di conservazione.

Spesso le Aziende fanno un uso improprio delle immagini nell'etichetta delle loro bevande vegetali con un colore bianco anziché giallo, fuorviando così il consumatore che è convinto di assumere un alimento simile al latte, quando in realtà è completamente diverso. Le bevande di soia, dal momento che derivano da semi di soia prevalentemente di colore giallo, non possono essere caratterizzate da un colore bianco.

Per questa ragione la Centrale del latte di Vicenza ha scelto di non usare alcuna immagine in etichetta.

Infine, è importante osservare anche l'aspetto strutturale della bevanda a base di soia durante la valutazione organolettica.

L'alimento è molto complesso ed alcuni ingredienti hanno difficoltà a rimanere in soluzione. Ciò provoca una separazione reversibile osservata anche nei campioni testati sin dai primi mesi di conservazione ed è stata più accentuata con il passare del tempo visto che l'alimento è rimasto sempre fermo.

In laboratorio, aprendo le confezioni mai agitate, né movimentate in superficie è stata individuata una lieve pellicola determinata da un leggero affioramento del grasso (Figura 25). Svuotando poi le confezioni, senza aver ancora attuato un mescolamento dell'alimento all'interno, è stata osservata una prima fase liquida e ad un certo punto è stata notata una disomogeneità del prodotto con leggeri addensamenti (Figura 26).

Questo fenomeno è stato evidenziato sia nei campioni conservati a temperatura ambiente, che in quelli conservati a 30°C.



Figura 25 – pellicola di grasso superficiale nella bevanda a base di soia a 12 mesi mai sottoposta ad agitazione, né a movimentazione



Figura 26 – addensamenti disomogenei nella bevanda a base di soia a 12 mesi mai sottoposta ad agitazione, né a movimentazione

Quanto riscontrato svuotando le confezioni non agitate non si presenta nel caso in cui venga effettuata un'agitazione manuale (2 o 3 volte) del pacchetto. Questo recupero di omogeneità potrebbe derivare dalla tecnologia di produzione dell'Azienda che prevede l'omogeneizzazione della bevanda di soia dopo il trattamento termico. Attuare un'omogeneizzazione prima del trattamento termico probabilmente non renderebbero il fenomeno facilmente reversibile.

Una maggiore instabilità è stata osservata in letteratura per le bevande vegetali fortificate in calcio. (Hirotsuka et al., 1984) (Bourne, 2002)

Il carbonato di calcio nella bevanda a base di soia tenderebbe a dissociarsi in ioni. Gli ioni positivi Ca^{2+} si legherebbero alle proteine di soia causandone un'aggregazione. Questo fenomeno determinerebbe un aumento della viscosità del mezzo ed un abbassamento del pH. Uno dei requisiti di qualità della bevanda a base di soia è la solubilità delle proteine. La probabile formazione di sedimenti potrebbe essere risolta con la fase di omogeneizzazione che favorirebbe la reversibilità del fenomeno con l'agitazione manuale della confezione e diminuendo il calcio ionico per mezzo di agenti chelanti. L'agente chelante nella bevanda oggetto di studio è il fosfato monopotassico che agisce anche da correttore dell'acidità.

Alla luce della valutazione sensoriale si può affermare che la bevanda sia rimasta conforme nel tempo.

5. CONCLUSIONE

Lo scopo dello studio presentato era l'analisi del processo produttivo e la valutazione della shelf-life della bevanda a base di soia formulata dalla Centrale del latte di Vicenza.

L'adozione di un sistema HACCP, come previsto dal Reg. (CE) 852/2004 e la messa a punto di un piano di controllo per garantire la sicurezza del prodotto dopo la lavorazione sono la chiave per la tutela del consumatore.

Dal punto di vista microbiologico il trattamento UHT ed il successivo confezionamento in asettico hanno garantito una carica microbica entro il limite stabilito ed il rispetto del Reg. (CE) 2073/2005.

Il sistema di lavaggio e di controllo degli impianti è stato adeguato poiché non sono state evidenziate contaminazioni crociate con allergeni del latte.

L'alimento non ha presentato pH acido ed instabilità all'ebollizione prolungata.

Le quantità di grasso, proteine, vitamine e calcio non hanno subito particolari variazioni, rimanendo pressoché costanti lungo tutta la vita di scaffale studiata della bevanda di soia. La disomogeneità fisica del prodotto spiegherebbe queste differenze non significative osservate. L'analista deve pertanto attuare un mescolamento dell'alimento prima di effettuare le analisi; il consumatore deve agitarlo prima dell'uso per ottenere una distribuzione più omogenea dei nutrienti.

Le caratteristiche organolettiche non sono mutate nel tempo, ma sono rimaste simili a quelle del prodotto appena confezionato. La bevanda potrebbe ben adattarsi al palato della popolazione occidentale perché gradevolmente dolce.

Le analisi su campioni conservati a 30°C erano previste, come riportato nel piano di controllo (Tabella 11), fino a 12 mesi compresi; per la mancanza di altri campioni a 30°C nell'ultimo mese di shelf-life sono state effettuate le analisi solo su campioni conservati a temperatura ambiente.

Complessivamente, la tecnologia di produzione, il packaging, le condizioni di conservazione e i dati sulla shelf-life raccolti fino a 12 mesi hanno confermato la sicurezza d'uso della bevanda a base di soia UHT della Centrale del latte di Vicenza.

Conoscere la shelf-life di un alimento è fondamentale per poter stabilire il suo TMC e questa è una responsabilità dell'OSA che deve essere in grado di dimostrare a qualsiasi organo di controllo ufficiale che lo richieda.

Nel primo periodo, l'Azienda sulla base delle informazioni ricevute dal fornitore del semilavorato, dei dati forniti ed elaborati con il costruttore degli impianti e dei risultati dei

test di shelf-life accelerata effettuati conservando i campioni di bevanda vegetale in abuso termico a 30°C e a 55°C per 5 mesi, ha deciso di commercializzare il prodotto con un TMC di 9 mesi con conservazione a temperatura ambiente.

La produzione adibita a test è caratterizzata da un packaging bianco anonimo con la data di confezionamento e con la dicitura “prodotto non destinato al consumo”.

La Centrale del latte di Vicenza ha voluto, quindi, tutelare se stessa e prima ancora il consumatore prima di immettere nel mercato il suo nuovo prodotto.

L’obiettivo dell’Azienda è comunque quello di prolungare il TMC del prodotto in commercio a 12 mesi; per questa ragione continuerà con lo studio ulteriore di shelf-life fino a 15-16 mesi.

Il presente studio, che ho preso in carico dal quinto mese, ha permesso quindi di dimostrare la stabilità del prodotto fino ad almeno 12 mesi a conferma di quanto ipotizzato dall’Azienda in fase di progettazione.

Bibliografia

1. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. (1995). Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Engl J Med*, 333: 276-82.
2. Bourne M. C. (2002). *Food texture and viscosity: Concept and measurement*. UK: Academic Press.
3. Bricarello L. P., MSc, Kasinski N., Bertolami M. C., Faludi A., Pinto L. A., Revals W. G. M., Izar M. C. O., Ihara S. S. M., Tufik S. & Fonseca F. A. H. (2004). Comparison between the effects of soy milk and non-fat cow milk on lipid profile and lipid peroxidation in patients with primary hypercholesterolemia. *Nutrition*, 20: 200-204.
4. Cagnoni D. (1948). *Per il riconoscimento ufficiale del centro Studi per la coltura ed industria della soia sorto in Provincia di Padova*. Padova: Tip. Messagero
5. Carrol KK. & Kurowska EM. (1995). Soy consumption and cholesterol reduction. Review of animal and human studies. *Nutr*, 125: 5594-7.
6. Cheftel JC. & Lorient D. (1985). Proteines du soja. In: *Proteines alimentaires*, Tech & Doc. Lavoisier: 223-239.
7. Dombos D. L., Jr. & Mullen R. E. (1992). Soybean seed protein and oil contents and fatty acid composition adjustments by drought and temperature. *JAOCS*, Vol. 69, no. 3.
8. Dong J.Y., Tong X., Wu Z.W., Xun P.C., He K. & Qin L.Q. (2011). Effect of soya protein on blood pressure: a meta-analysis of randomised controlled trials. In: *British Journal of Nutrition*, 106: 317-326.
9. Dubois C., Cara L., Armand M., Borel P., Senft M., Portugal H., Pauli AM., Bernard PM., Lafont H. & Lairon D. (1993). Effects of pea and soybean fibre on postprandial lipaemia and lipoproteins in healthy adults. In: *Eur J Clin Nutr.*, 47 (7): 508-20.

10. Eisen B., Ungar Y. & Shimoni E. (2003). Stability of isoflavones in soy milk stored at elevated and ambient temperatures. In: *J. Agric. Food Chem.*, 51: 2212-2215.
11. Fournier L. R., Ryan-Borchers T. A., Robinson L. M., Wiediger M., Park J. S., Chew B. P., McGuire M. K., Sclar D. A., Skaer T. L. & Beerman K. A. (2007). The effects of soy milk and isoflavone supplements on cognitive performance in healthy, postmenopausal women. In: *Journal of Nutrition, Health & Aging*, 11, No. 2.
12. Giuzio A. 2011. Soia una guida sui costi e sui rischi da affrontare.
13. Hammond E. G., Johnson L. A., Caiping Su, Tong Wang & White P. J. (2005). Soybean oil. In: *Bailey's industrial oil and fat products, Sixth Edition, Six Volume Set*.
14. Hirotsuka M., Taniguchi H., Narita H. & Kito M. (1984). Calcium fortification of soy milk with calcium-lecithin liposome system. In: *Journal of Food Science*, 49: 1111-1112, 1127.
15. Jiao J., Yee B. C., Kobrehel K. & Buchanan B. B. (1992). Effect of thioredoxin-linked reduction on the activity and stability of the Kunitz and Bowman-Birk soybean trypsin inhibitor proteins. In: *J. Am. Food Chem.*, 40: 2330-2333.
16. Kattan J. D., Cocco R. R. & Järvinen K. M. (2011). Milk and soy allergy. *Pediatr Clin North Am*, 58(2): 407-426.
17. Kennedy A. R. (1998). The Bowman-Birk inhibitor from soybeans a san anticarcinogenic agent. In: *Am J Clin Nutr.*, 68: 1406-12.
18. Konoshima T. & Kozuka M. (1991). Constitutions of leguminous plants. In: *J. Nutr. Prod.*, 54: 830-836.
19. Kudo S., Tonomura M., Tsukamoto C., Uchida T., Sakabe T., Tamura N. & Okubo K. (1993). Isolation and structural elucidation of DMPP-conjugated soyasaponins as genuine saponins from soybean seeds. In: *Biosci Biotech Bio-chem*, 57: 546-550.

20. Liu Z., Chen Y. & Ho S. C. (2011). Effects of soy intake on glycemic control: a meta-analysis of randomized controlled trials. In: *Am J Clin Nutr.*, 93: 1092-101.
21. Liu Z., Chang S.K.C., Li L. & Tatsumi E. (2004). Effect of selective thermal denaturation of soybean proteins on soymilk viscosity and tofu's physical properties. In: *Food research International*, 37: 815-822.
22. Lozano P. R., Drake M., Benitez D. & Cadwallader K. R. (2007). Instrumental and sensory characterization of heat-induced odorants in aseptically packaged soy milk. In: *J. Agric. Food Chem.*, 55: 3018-3026.
23. Lu J. Y., Carter E. & Chung R. A. (1980). Use of calcium salts for soybean curd preparation. In: *Journal of food science*, 45: 32-34.
24. Marfo E. K., Simpson B. K., Idow J. S. & Oke O. L. (1990). Effect of local food processing phytate levels in cassava, cocoyam, yam, maize, sorghum, rice, cowpea and soybean. In: *J Agric. Food Chem.*, 38: 1580-1585.
25. Moran J. F., Klucas R. V., Grayer R. e J., Abian J. & Becana M. (1996) Complex of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissue: prooxidant and antioxidant properties. In: *Free Radical Biology & Medicine* (1997), 22 (5): 861-870.
26. Mosca G. & Barion G. Progetto "Piano sementiero sementi certificate": Recupero di risorse genetiche e produzione di seme.
<http://www.venetoagricoltura.regione.veneto.it/>
27. Nakashima H., Okubo K., Honda Y., Tamura T., Matsuda S. & Yamamoto N. (1989). Inhibitor effect of glycodides like saponin from soybean on the infectivity of HIV in vitro. In: *AIDS*, 3: 655-658.
28. Nelson D. L. & Cox M. M. (2003). *Introduzione alla biochimica di Lehninger*. Bologna: Zanichelli editore S.p.a.

29. Palou E., Hernandez-Salgado C., Lopez-Malo A., Barbosa-Canovas G. V., Swanson B. G. & Welti J. (2000). High pressure-processed guacamole. In: Innovative food science & emerging technologies, 1: 69-75.
30. Pathormrungsiyounggul O., Grandison A. S. & Lewis M. J. (2007). Effect of calcium chloride and sodium heametaphosphate on certain chemical and physical properties of soymilk. In: Journal of food science, 72: 428-434.
31. Pratt D. E. & Birac P. M. (1979). Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. In: Journal of food science, 44 (6): 1720-1722.
32. Redondo-Cuenca A., Villanueva-Suarez M. J. & Mateos-A Paricio I. (2007). Soybean seeds and its by-product okara as source of dietary fibre. Measurement by AOAC and Englyst methods. In: Food Chemistry (2008), 108: 1099-1105.
33. Rivas M., Garay R. P., Escanero J. F., Cia P., Jr & Alda J. O. (2002). Soy milk lowers blood pressure in men and women with mild to moderate essential hypertension. In: American society for nutritional sciences.
34. Rodriguez Niño M. R., Carrera Sanchez C., Pizones Ruiz-Henestrosa V. & Rodriguez Patino J. M. (2005). Milk and soy protein films at air-water interface. In: Food Hydrocolloids, 19: 417-428.
35. Setchell K. DR. & Olsen E. L. (2003). Dietary phytoestrogens and their effect on bone: evidence from in vitro and in vivo, human observational and dietary intervention studies. In: Am J Clin Nutr., 78: 593-609.
36. Shu X. O., Zheng Y., Cai H., Gu K., Chen Z., Zheng W. & Lu W. (2009). Soy food intake and breast cancer serviva. In: JAMA, 302, No. 22.
37. Smith A. K. & Circle S. J. (1972). Soybean: chemistry and technology. USA: The Avi Publishing Company, Inc.

38. Snidaro M., Signor M., Baret R., Cadel G., Danelon I. (2001). Buoni risultati con l'impiego di soia a basso contenuto di fattori antinutrizionali. <http://www.ersa.fvg.it/>
39. Sorgentini D. A., Wagner J. R. & Añón M. C. (1995). Effects of thermal treatment of soy protein isolate on the characteristics and structure-function relationship of soluble and insoluble fractions. In: *J. Agric. Food Chem.*, 43: 2471-2479.
40. Streeter J. G. (1980). Carbohydrates in soybean nodules. In: *Plant physiol.*, 66: 471-476.
41. Toniolo L. & Mosca G. (1986). *La soia come si coltiva*. Roma: REDA.
42. Toro-Funes N., Odriozola-Serrano I., Bosch-Fuste J., Latorre-Moratalla M. L., Veciana-Nogues M. T., Izquierdo-Pulido M. & Vidal-Carou M. C. (2012). Fast simultaneous determination of free and conjugated isoflavones in soy milk by UHPLC-UV. In: *Food Chemistry*, 135: 2832-2838.
43. Torres-Penaranda A. V. & Reitmeier C. A. (2001). Sensory descriptive analysis of soymilk. In: *Journal of food science*, 66, No. 2.
44. Tsai C.Y., Chen Y.H., Chien Y.W. Huang W.H. & Lin S.H. (2010). Effect of soy saponin on the growth of human colon cancer cells. In: *World J Gastroenterol*, 16 (27): 3371-3376.
45. Tsukamoto C., Shimada S., Igita K., Kudou S., Kokubun M., Okubo K. & Kitamura K. (1995). Factors affecting isoflavone content in soybean seeds: changes in isoflavones, saponins and composition of fatty acids at different temperatures during seed development. In: *J. Agric. Food Chem.*, 43: 1184-1192.
46. Wang R., Xing Zhou & Zhengxing Chen. (2007). High pressure inactivation of lipoxygenase in soy milk and crude soybean extract. In: *Food Chemistry* (2008), 106: 603-611.

47. Wang H. & Murphy P. A. (1994). Isoflavone content in commercial soybean foods. In: *J. Agric. Food. Chem.*, 42: 1666-1673.
48. Xu B. & Chang S. K. C. (2009). Isoflavones, flavan-3-ols, phenolic acids, total phenolic profiles and antioxidant capacities of soy milk as affected by ultra-temperature and traditional processing methods. In: *J. Agric. Food Chem.*, 57: 4706-4717.
49. Yan L. & Spitznagel E. L. (2009). Soy consumption and prostate cancer risk in men: a revisit of a meta-analysis. In: *Am J Clin Nutr.*, 89: 1155-63.
50. Yang W.S., Va P., Wong M.Y., Zhang H.L. & Xiang Y.B. (2011). Soy intake is associated with lower lung cancer risk: results from a meta-analysis of epidemiologic studies. In: *Am J Clin Nutr.*, 94: 1575-83.
51. Yazici F., Alvarez V. B., Mangino M. E. & Hansen P. M. T. (1997). Formulation and processing of a heat stable calcium-fortified soy milk. In: *Journal of food science*, 62 (3): 535-538.
52. 2012/2013. Analisi ANAS sul mercato di cereali e soia. <http://www.anas.it/>
53. Decisione di esecuzione 2012/347/UE della Commissione del 28 giugno 2012 che autorizza l'immissione in commercio di prodotti contenenti, costituiti o ottenuti a partire da soia geneticamente modificata MON 87701 x MON 89788 (MON-877Ø1-2 x MON-89788-1) a norma del regolamento (CE) n. 1829/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio.
54. Regolamento (UE) n. 432 del 2012 DELLA COMMISSIONE del 26 maggio 2012 relativo alla compilazione di un elenco di indicazioni sulla salute consentite sui prodotti alimentari, diverse da quelle facenti riferimento alla riduzione dei rischi di malattia e allo sviluppo e alla salute dei bambini. *Gazzetta Ufficiale* n. 136 del 25-05-2012, pag. 0001-0040.

55. Regolamento (UE) n. 231 del 2012 DELLA COMMISSIONE del 9 marzo 2012 che stabilisce le specifiche degli additivi alimentari elencati negli allegati II e III del regolamento n. 1333/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio.
56. Regolamento (UE) 1169 del 2011 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 25 ottobre 2011 relativo alla fornitura di informazioni sugli alimenti ai consumatori, che modifica i regolamenti (CE) n. 1924/2006 e (CE) n. 1925/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio e abroga la direttiva 87/250/CEE della Commissione, la direttiva 90/496/CEE del Consiglio, la direttiva 1999/10/CE della Commissione, la direttiva 2000/13/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, le direttive 2002/67/CE e 2008/5/CE della Commissione e il regolamento (CE) n. 608/2004 della Commissione.
57. Regolamento (CE) n. 1170 del 2009 DELLA COMMISSIONE del 30 novembre 2009 che modifica la direttiva 2002/46/CE del Parlamento europeo e del Consiglio e il regolamento (CE) n. 1925/2006 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda gli elenchi di vitamine e minerali e le loro forme che possono essere aggiunti agli alimenti, compresi gli integratori alimentari.
58. Regolamento (CE) n. 1924/2006 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 20 dicembre 2006 relativo alle indicazioni nutrizionali e sulla salute fornite sui prodotti alimentari.
59. Regolamento (CE) n. 1925/2006 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 20 dicembre 2006 sull'aggiunta di vitamine e minerali e di talune altre sostanze agli alimenti.
60. Regolamento (CE) n. 1881 del 2006 DELLA COMMISSIONE del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari.
61. Regolamento (CE) n. 2073 del 2005 DELLA COMMISSIONE del 15 novembre 2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari.

62. Regolamento (CE) n. 396 del 2005 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 23 febbraio 2005 concernente i livelli massimi di residui di antiparassitari nei o sui prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale e che modifica la direttiva 91/414/CEE del Consiglio.
63. Regolamento (CE) n. 852 del 2004 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 29 aprile 2004 sull'igiene dei prodotti alimentari.
64. Regolamento (CE) n. 1830 del 2003 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 22 settembre 2003 concernente la tracciabilità e l'etichettatura di organismi geneticamente modificati e la tracciabilità di alimenti e mangimi ottenuti da organismi geneticamente modificati, nonché recante modifica della direttiva 2001/18/CE.
65. Regolamento (CE) n. 1829 del 2003 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 22 settembre 2003 relativo agli alimenti e ai mangimi geneticamente modificati. Gazzetta Ufficiale n. 268 del 28-10-2003, pag. 1.
66. Regolamento (CE) n. 178 del 2002 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 28 gennaio 2002 che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare.
67. Decreto legislativo n. 77 del 16/02/1993 del Governo che attua la direttiva 90/496/CEE del Consiglio del 24 settembre 1990 relativa all'etichettatura nutrizionale dei prodotti alimentari. Gazzetta Ufficiale n. 69 del 24 marzo 1993.
68. Decreto legislativo n. 111 del 27 gennaio 1992 che attua la direttiva n. 89/398/CEE concernente i prodotti alimentari destinati ad una alimentazione particolare. Gazzetta Ufficiale Serie Generale n. 39 del 17 febbraio 1992.

69. Regolamento (CEE) n. 1898 del Consiglio del 2 luglio 1987 relativo alla protezione della denominazione del latte e dei prodotti lattiero-caseari all'atto della loro commercializzazione. Gazzetta Ufficiale delle Comunità europee n. L. 182 del 3 luglio 1987.
70. R.D. n. 994 del 9 maggio del 1929 per l'approvazione del regolamento sulla vigilanza igienica del latte destinato al consumo diretto. Gazzetta Ufficiale n. 146 del 24 giugno 1929.
71. 2011. Alimenti di origine vegetale, polifenoli ed effetto sulle difese antiossidanti nell'uomo. <http://www.inran.it>
72. 2009. The use of dietary isoflavones and isolated isoflavones from soy or red clover in food and food supplements. <http://www.efsa.europa.eu/>
73. 1992. Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. <http://www.fao.org/>
74. Soia - Glycine Max L.: Atlante delle coltivazioni erbacee - Piante industriali.
75. Metodo di prova in riferimento alla norma UNI EN ISO 11290-1:2005.
76. Metodo di prova in riferimento alla norma ISO 21528-2:2004.
77. Metodo interno aziendale in riferimento alla norma UNI EN ISO 4833:2004.
78. Metodo di prova in riferimento alla norma ISO 6579:2002.
79. Metodo di prova in riferimento alla norma ISO 16649-2:2001.
80. Metodo MA08c226 in riferimento alla norma FIL-IDF 141:C 2000.
81. Metodo di prova in riferimento alla norma ISO 6888-1:1999.

82. Metodo ELISA.
83. Metodi interni accreditati.
84. Metodi interni non accreditati.
85. <http://www.agraria.org/>
86. www.efsa.europa.eu
87. www.ensa.eu.org
88. www.deagostinigeografia.it
89. www.fao.org
90. www.faostat.fao.org
91. www.fas.usda.gov
92. www.fad.gov
93. www.inran.it
94. www.sipcamitalia.it
95. www.valsoia.it

RINGRAZIAMENTI

E' mio desiderio ringraziare la mia Professoressa relatrice Anna Lante per il prezioso insegnamento durante il mio percorso di studi e per avermi supportata (e sopportata) durante la stesura di questo elaborato.

Ringrazio, inoltre, il mio correlatore aziendale Marco Bellamio per i consigli datimi per scegliere l'argomento della mia tesi e per il continuo sostegno profuso in questi mesi.

Vorrei ringraziare anche Emiliano Feller ed i miei colleghi di laboratorio, in particolare Valeria Scolaro, per la loro disponibilità, per l'attenzione prestatami durante le analisi e per tutto il tempo che mi hanno dedicato.

Un sentito ringraziamento va, infine, alla Centrale del latte di Vicenza per avermi dato la grande opportunità di condurre questa tesi presso il suo Stabilimento.