

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE AGRO-ALIMENTARI

CAMPUS DI CESENA

CORSO DI LAUREA IN

Tecnologie Alimentari (Classe L-26)

TITOLO DELLA TESI

Valutazione delle caratteristiche funzionali di farina di ceci trattata con alte  
pressioni di omogeneizzazione (HPH)

Tesi in

28840 TECNOLOGIE ALIMENTARI (C.I.) –

29414 - TECNOLOGIE ALIMENTARI II E PRINCIPI DI CONFEZIONAMENTO

Relatore:

Dott.ssa Silvia Tappi

Correlatore:

Dott. Federico Drudi

Candidato: Luca Giovannini

Matricola N° 0000987503

Anno Accademico 2022/2023

Sessione unica



## Sommario

<b>1</b>	<b>Introduzione .....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>Parte generale.....</b>	<b>7</b>
<b>2.1</b>	<b>I ceci .....</b>	<b>7</b>
2.1.1	Frazione non proteica .....	8
2.1.2	Frazione proteica .....	9
2.1.3	Frazione lipidica .....	10
2.1.4	Minerali e vitamine .....	10
<b>2.2</b>	<b>Lavorazione dei prodotti ottenuti dai ceci .....</b>	<b>12</b>
2.2.1	Farina di ceci .....	13
2.2.2	Bevande vegetali a base legumi .....	15
2.2.3	Ceci in scatola .....	16
<b>2.3</b>	<b>Modificazioni della farina .....</b>	<b>17</b>
2.3.1	Modificazioni termiche .....	17
2.3.2	Modifiche chimiche.....	18
2.3.3	Modifiche enzimatiche.....	18
2.3.4	Modifiche fisiche non termiche.....	18
<b>2.4</b>	<b>Le alte pressioni di omogeneizzazione (HPH).....</b>	<b>19</b>
2.4.1	Principi di funzionamento e impianti.....	20
2.4.2	Applicazioni dell'HPH nel settore alimentare.....	23
<b>2.5</b>	<b>Modifica delle proprietà funzionali a seguito di trattamenti non termici.....</b>	<b>26</b>
<b>3</b>	<b>Materiali e metodi.....</b>	<b>29</b>
<b>3.1</b>	<b>Provenienza e stoccaggio campioni.....</b>	<b>29</b>
<b>3.2</b>	<b>Trattamento con HPH.....</b>	<b>29</b>
<b>3.3</b>	<b>Essiccazione .....</b>	<b>29</b>
<b>3.4</b>	<b>Determinazioni analitiche .....</b>	<b>30</b>
3.4.1	Umidità .....	30
3.4.2	Colore .....	30
3.4.3	Water Adsorption Index (WAI) e Water Solubility Index (WSI).....	30
3.4.4	Water Holding Capacity (WHC).....	31
3.4.5	Oil Holding Capacity (OHC).....	31
3.4.6	Capacità emulsionante.....	32
3.4.7	Proprietà termiche.....	32

3.4.8	Proprietà di impastamento .....	33
3.5	Analisi statistica .....	33
<b>4</b>	<b>Risultati e discussione .....</b>	<b>34</b>
4.1	Umidità .....	34
4.2	Colore.....	34
4.3	Water adsorption index (WAI) e water solubility index (WSI) .....	35
4.4	Water holding capacity e oil holding capacity (WHC-OHC) .....	36
4.5	Capacità emulsionante (EA-ES) .....	37
4.6	Proprietà termiche .....	38
4.7	Proprietà di impastamento.....	39
<b>5</b>	<b>Conclusioni .....</b>	<b>41</b>
<b>6</b>	<b>Bibliografia.....</b>	<b>42</b>



# 1 Introduzione

L'interesse per il consumo di farine a base di legumi è in crescita (Siddiq et al., 2010), soprattutto come fonte di proteine vegetali e per le loro proprietà funzionali come la capacità emulsionante e gelificante, e le capacità di assorbimento di acqua e olio (Adebowale & Lawal, 2004).

Tuttavia, le farine native presentano spesso caratteristiche tecnologiche non adatte a sostituire quelle animali e poco standardizzate. Pertanto, l'industria ricorre spesso ad ingredienti e farine modificate caratterizzate da proprietà ottimizzate. La modifica chimica delle farine è sicuramente la più utilizzata, tuttavia presenta svantaggi legati all'utilizzo di solventi. I trattamenti di tipo fisico possono rappresentare una valida alternativa, in particolare i trattamenti non termici. Fra questi, l'utilizzo delle alte pressioni di omogeneizzazione (HPH) ha la capacità di provocare modifiche nella struttura di proteine e amidi al fine di ottenere caratteristiche migliori nel prodotto finito. Il trattamento con HPH si ottiene applicando alte pressioni durante il processo di omogeneizzazione durante il quale viene generata cavitazione e forze di taglio in grado di provocare deformazioni e rotture nelle macromolecole (Comuzzo & Calligaris, 2019), modificandone di conseguenza le proprietà funzionali.

L'obiettivo del presente lavoro di tesi è stato quello di valutare le proprietà tecno-funzionali di farina di ceci sottoposta a trattamenti con HPH. A tal fine, una farina di ceci commerciale è stata sottoposta a pressioni da 30 a 120 MPa e ne sono state valutate le proprietà di solubilità, di legare acqua e olio, la capacità emulsionante, le proprietà di impastamento e le proprietà termiche rispetto al campione non trattato.

## 2 Parte generale

### 2.1 I ceci

I ceci (*Cicer arietinum* L.) sono una coltura erbacea appartenente alla famiglia delle *Fabaceae*, sottofamiglia *Faboideae*, tribù *Cicereae*. Esistono all'interno del genere *Cicer* nove specie annuali e 33 specie perenni, distribuite in tutte le parti del mondo.

Tra le leguminose da granella, il cece è una delle specie di più antica coltivazione. La specie è originaria dell'Asia occidentale, da cui si è poi diffusa a ovest, fino all'area Mediterranea, ma anche in altri luoghi viene molto coltivata, come in India, paesi africani come Etiopia, Australia e nelle Americhe. La forma, la dimensione e il colore dei semi di cece variano a seconda delle cultivar. In base al colore del seme e alla distribuzione geografica, i ceci sono generalmente raggruppati in due tipologie: kabuli (origine mediterranea e mediorientale) e desi (origine indiana). I primi si caratterizzano da semi di grandi dimensioni, dalla superficie liscia e di colore beige mentre i secondi da semi piccoli, rugosi e di colore scuro (Chavan et al., 1987).

Il cece è la terza leguminosa da granella per importanza, dopo fagiolo e pisello, con una superficie mondiale coltivata di circa 11 milioni di ettari. Il principale bacino di produzione del cece è l'India (circa 69% della produzione mondiale), seguita da Pakistan (8.6%) e Turchia (6.7%); in Europa il paese maggiormente produttore è la Spagna, con 66 mila tonnellate annue (0.7% sul totale mondiale, tab.2.1), mentre l'Italia segue a notevole distanza con 4 mila tonnellate annue. In Italia, nell'ultimo trentennio, si è registrata una diminuzione delle superfici coltivate con questo legume arrivando a meno di 3500 ettari coltivati. Le prospettive di sviluppo del cece nel nostro paese sono buone, anche se il prodotto importato ha una forte concorrenza sul prodotto nostrano, che deve trovare ancora un suo bacino di produzione in grado di conferire caratteristiche di qualità elevate e magari anche un consorzio che lo tuteli (Ranalli et al., 2018).

<b>Paesi</b>	<b>1990</b>	<b>2000</b>	<b>2005</b>	<b>2010</b>	<b>2015</b>	<b>2021</b>
Africa	275645	321611,68	371713,47	540415,9	749376,08	804273,51
Nord America	.	448009	152026	216252	197940	205962
Sud America	25001	8943	6686	25662,52	106819	86115,73
Asia	6047774	6793314	7630910	9357431,8	9084778,2	13397233
Europa	67683	69019,64	36947,17	51655,43	70043,81	329622,59
Oceania	190268	162000	122800	513338	593680	876468,13

*Tabella 2.1: Produzione mondiale di cece secco in tonnellate (Dati: FAOSTAT)*

I ceci sono ottime fonti di proteine, possedendone quantità pari o superiori alla carne se si considera il seme secco. È però importante notare la differente qualità e biodisponibilità di tali proteine, che tende ad essere inferiore in tutti i legumi se paragonata alla carne. Alta caratteristica che rende i ceci interessanti come prodotto alimentare è l'assenza di glutine, permettendo di ottenere prodotti derivati indicati per persone che soffrono di celiachia (Ranalli et al., 2018).

### 2.1.1 Frazione non proteica

Questa comprende principalmente carboidrati e fibre di diversa natura. I carboidrati dietetici sono classificati in due gruppi: disponibili (mono- e disaccaridi), che sono enzimaticamente digeriti nell'intestino tenue, e non disponibili (oligosaccaridi, amido resistente, polisaccaridi non cellulose, pectine, emicellulose e cellulosa), che non vengono digerite nell'intestino tenue (Wrigley et al., 2004). Il contenuto totale di carboidrati nel cece è superiore a quello di altri legumi (tab.2.2). I ceci contengono come monosaccaridi, ribosio, glucosio, galattosio e fruttosio, come disaccaridi, saccarosio e maltosio e come oligosaccaridi, stachiosio, ciceritolo, raffiniosio e verbascosio.

La quantità di queste frazioni varia, anche se non in maniera importante, tra le varie cultivar e areali di produzione. Nella tabella sottostante sono messe a confronto le principali componenti non proteiche di differenti legumi.

Crops	Carbohydrate	Fat	TDF	Total sugars
Chickpea ( <i>Cicer arietinum</i> L.)	60.7	6.0	17.4	10.7
Pigeon pea ( <i>Cajanus cajan</i> L.)	23.8	1.6	5.1	3.0
Bean ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.)	7.0	0.2	2.7	3.3
Mung bean ( <i>Vigna radiata</i> L.)	62.6	1.2	16.3	6.6
Peas ( <i>Pisum sativum</i> L.)	14.5	0.4	5.1	5.7
Faba bean ( <i>Vicia faba</i> L.)	58.3	1.5	25.0	5.7

TDF, total dietary fibre.

Tabella 2.2: composizione (g/100g) principali leguminose (Jukanti et al., 2012)

La fibra alimentare (o DF, *dietary fiber*) è la frazione indigeribile per l'intestino umano. È composta da poli/oligosaccaridi, lignina e altre sostanze di origine vegetale (Tiishetso Maswanganye et al., 2021). Questa può essere classificata in fibre solubili e insolubili. La fibra solubile viene digerita lentamente nel colon, mentre la fibra insolubile è metabolicamente inerte e aiuta nel movimento intestinale. La fibra insolubile subisce fermentazione favorendo la crescita dei batteri del colon (Tosh & Yada, 2010).

### 2.1.2 Frazione proteica

I legumi forniscono una quota importante di proteine ed energia nelle diete, in particolar modo in quelle di paesi poveri. Tra i diversi legumi spicca il cece, nel quale si è riscontrata una proprietà particolarmente favorevole per quanto riguarda una maggiore biodisponibilità negli isolati proteici (Sánchez-Vioque et al., 1999). Questo fenomeno è migliorato grazie al fatto che durante il processo di isolamento, gli inibitori della tripsina e della chimotripsina utilizzate durante la digestione, vengono rimosse (albumine).

Il contenuto proteico nei ceci varia significativamente in percentuale della massa totale di semi secchi prima (17–22%) e dopo (25,3–28,9%) la decorticazione (Singh & Singh, 1992). Le differenze di concentrazione di proteina grezza varia in base ai vari tipi del genere *Cicer*, da un minimo di 168 g/kg in *Cicer cuneatum* a 268 g/kg in *Cicer pinnatifidum*, con una media che si attesta intorno a 207 g/kg, prendendo in riferimento le otto specie selvatiche (Ocampo et al., 1998).

La frazione proteica dei ceci si compone principalmente da:

- Legumine, sono le principali proteine di riserva nei semi e appartengono alla famiglia delle globuline e sono responsabili della maggior parte delle proprietà funzionali dei ceci.

- Albumine, queste proteine sono solubili in acqua e contribuiscono alla viscosità e all'elasticità degli impasti e costituiscono circa il 10-15% delle proteine totali.

I principali aminoacidi presenti risultano essere lisina e metionina classificati come AA essenziali, mentre gli altri sono leucina, valina, isoleucina, fenilalanina, tirosina, triptofano, cisteina, treonina, arginina, acido aspartico, acido glutammico, glicina, istidina, alanina, prolina e serina (Sánchez-Vioque et al., 1999). In generale, gli aminoacidi ricchi di zolfo (metionina e cisteina) sono limitanti nei legumi e quindi il profilo amminoacidico non risulta completo, in quanto devono essere apportati nella dieta tramite altri alimenti.

### 2.1.3 Frazione lipidica

Se confrontato con altri importanti legumi oleosi come la soia o l'arachide il cece non può essere considerato una coltura oleosa poiché il suo contenuto di olio è relativamente basso (3,8–10%) (Singh, 1985). Tuttavia, l'olio di ceci ha proprietà nutrizionali importanti, grazie ai tocoferoli, steroli e tocotrienoli presenti al suo interno (Zia-Ul-Haq et al., 2007). Il sitosterolo solitamente è presente in quantità di circa 72,52–76,10 % e questo lo rende lo sterolo dominante nell'olio di ceci seguito dal campesterolo. Il contenuto di  $\alpha$ -tocoferolo nel cece è relativamente più alto (8,2 mg/100 g) rispetto ad altri legumi come lenticchie (4,9 mg/100 g), piselli verdi (1,3 mg/100 g), fagioli rossi (2,1 mg/100 g) e fagiolo mungo (5,1 mg/100 g). Grazie alla combinazione di alto contenuto di  $\alpha$ -tocoferolo e alla presenza di d-tocoferolo l'olio di ceci ha una potente azione antiossidante (Tsaknis, 1998).

### 2.1.4 Minerali e vitamine

Il cece come altri legumi oltre ad apportare carboidrati, proteine e grassi, apporta anche vitamine e minerali essenziali alla dieta di milioni di persone in Asia e Africa (Cabrera et al., 2003). I minerali che sono presenti al suo interno sono diversi e i principali sono Cu, Fe, Zn, Mn, Ca, Mg, Na, K, P e Cr, il loro contenuto varia in funzione del genotipo e alla varietà di cece impiegato. Nella tab.2.3 sottostante è indicata la composizione della frazione minerale delle due principali varietà di ceci (desi e kabuli).

Minerals	Rao & Deosthale <sup>(189)*</sup>	Ibáñez <i>et al.</i> <sup>(70)</sup>		Wang & Daun <sup>(56)</sup>				USDA <sup>(32)</sup>
		D	K	D	Range	K	Range	K
Cu	1.18	1.25	1.20	1.00	0.5–1.40	1.00	0.7–1.40	0.847
Fe	4.60	4.51	4.46	5.90	4.6–7.00	5.50	4.3–7.60	6.24
Zn	6.11	3.57	3.50	3.60	2.8–5.10	4.40	3.6–5.60	3.43
Mn	1.21	1.72	1.65	3.40	2.8–4.10	3.90	2.3–4.80	2.20
Ca	220.0	210.0	154.0	161.70	115–226.5	106.60	80.5–144.3	105.0
Mg	119.0	128.0	122.0	169.10	143.7–188.6	177.80	153–212.8	115.0
Na	–	22.9	21.07	–	–	–	–	24.0
K	–	878.0	926.0	1215.70	1027.6–1479	1127.20	816–1580	875.0
P	398.0	–	–	377.30	276.2–518.6	505.1	294–828.8	366.0
Cr	0.08†	–	–	–	–	–	–	–

D, Desi; K, Kabuli; USDA, United States Department of Agriculture.

† Expressed as  $\mu\text{g/g}$ .

\* The type of chickpea is not specified.

Tabella 2.3: Contenuto di minerali ( $\mu\text{g/g}$ ) nei ceci (Jukanti *et al.*, 2012)

Per la dieta le vitamine sono necessarie in piccole quantità; questo requisito è soddisfatto attraverso un'alimentazione quotidiana ben bilanciata di cereali, legumi, verdure, frutta, carne e latticini. I legumi sono una buona fonte di vitamine, in quanto possono essere assunti in maniera complementare ad altri alimenti per poter soddisfare il fabbisogno vitaminico di un individuo. Il cece è relativamente poco costoso, ed è una fonte relativamente buona di acido folico, oltre a contenere quantità più discrete di vitamine idrosolubili come riboflavina (B2), acido pantotenico (B5) e piridossina (B6) (Çiftçi *et al.*, 2010), come riportato nella tab.2.4. Il contenuto vitaminico dei ceci è simile o superiore a quello osservato in altri legumi (Lebiedzińska & Szefer, 2006).

Vitamins	Chavan <i>et al.</i> <sup>(12)*†</sup>	Wang & Daun <sup>(56)*†</sup>		Ciftci <i>et al.</i> <sup>(72)†‡</sup>	USDA <sup>(32)*†</sup>
		K	D		K
Retinol (A)	–	ND	ND	–	ND
Vitamin C	2.15–6.00	1.34	1.65	–	4.0
Vitamin (D <sub>2</sub> + D <sub>3</sub> )	–	ND	ND	115.4	ND
Thiamin (B <sub>1</sub> )	0.028–0.40	0.4	0.29	–	0.477
Riboflavin (B <sub>2</sub> )	0.15–0.30	0.26	0.21	–	0.212
Niacin (B <sub>3</sub> )	1.6–2.90	1.22	1.72	–	1.541
Pantothenic acid (B <sub>5</sub> )	–	1.02	1.09	–	1.588
Pyridoxine (B <sub>6</sub> )	0.55	0.38	0.30	–	ND
Cyanocobalamin (B <sub>12</sub> )	–	ND	ND	–	0.535
Biotin	–	ND	ND	–	–
γ-Tocopherol	–	10.68	9.33	6.9	–
α-Tocopherol (vitamin E)	–	2.24	1.91	22.0	0.820
Choline, total (in µg/100g)	–	–	–	–	95.20
Folic acid	150.0	299.21	206.48	–	557.00
Vitamin A, Retinol activity equivalent (RAE)	–	–	–	–	3.00
β-Carotene	–	–	–	46.3	40.00
Vitamin K (phylloquinone)	120.0	–	–	23.2	9.00

K, Kabuli; D, Desi; USDA, United States Department of Agriculture; ND, measured but not detected.

\* Expressed as mg/100g.

† The type of chickpea is not specified.

‡ Expressed as µg/100g.

Tabella 2.4: Contenuto di vitamine (mg/100g) nei ceci (Jukanti *et al.*, 2012)

Il cece svolge un ruolo importante nel migliorare la nutrizione, integrandolo con alimenti a base di cereali. Il cece sta guadagnando importanza come alimento funzionale grazie ai suoi numerosi benefici per la salute come il controllo del colesterolo, prevenzione del diabete di tipo 2, attività anticancro e perdita di peso (R. Kaur & Prasad, 2021).

Negli ultimi anni si è tornati ad utilizzare maggiori quantità di ceci secchi anche nei paesi sviluppati, impiegandoli per preparazioni culinarie o fonti di cibo tal quali. La farina integrale e l'utilizzo parziale di diversi legumi ha suscitato un crescente interesse di ricerca, infatti studiare le loro funzionalità e proprietà è fondamentale per utilizzare in modo efficiente le farine prodotte dai legumi e aiutare i consumatori ad accettarli facilmente all'interno delle loro diete. Precedentemente gli studi si sono sempre concentrati sulle proprietà funzionali della farina dei legumi comunemente coltivati nei paesi sviluppati, mentre più recentemente iniziano ad essere disponibili maggiori studi sui legumi come prodotti alimentari (Du *et al.*, 2014).

## 2.2 Lavorazione dei prodotti ottenuti dai ceci

Il cece viene principalmente impiegato nelle cucine di paesi meno industrializzati, dato il suo basso costo in relazione alle proteine contenute. Il cece secco solitamente non viene mangiato tal

quale, ma necessita di essere processato tramite tostatura o ammollo per far reidrattare i tessuti e preparare diverse tipologie di pietanze; dal condimento della pasta a prodotti un po' più elaborati come humus di ceci che è senza dubbio la ricetta più famosa, tipica dei paesi del Medioriente, dove i ceci sono schiacciati o mischiati con pasta di semi di sesamo e sempre accostati a spezie e conditi con aglio, limone e olio, oppure utilizzati per preparazioni tipiche italiane come la farinata di ceci caratteristica delle zone di Liguria e Toscana. A livello industriale le preparazioni a base di cece sono più standardizzate e devono seguire parametri predefiniti di qualità per poter essere trasformati nel prodotto che poi andrà ad essere commercializzato sul mercato.

### 2.2.1 Farina di ceci

L'arte della macinazione è molto più antica di quanto si possa pensare. Probabilmente è stato il primo processo di trasformazione e produzione del mondo (Walker & Eustace, 2016). Fin dall'antichità l'uomo ha usato le pietre per rompere noci, bacche, cereali e ossa in modo da produrre sostanze di cui nutrirsi che fossero in primis edibili, ma anche più semplici da masticare.

La farina di ceci è il frutto della macinazione particolarmente fine dei semi secchi anche se, in genere, le varietà coinvolte non sono le stesse destinate al consumo intero. Infatti, per la farina di ceci vengono macinate prevalentemente le varietà orientali o d'oltreoceano; tale predilezione non ha motivi legati alle caratteristiche chimiche del seme, ma è il frutto di ragionamenti commerciali ed economici. I ceci esteri, per numerose ragioni come resa per ettaro, superfici da coltivare, costo della manodopera, valutazione della moneta ecc., sono infatti tendenzialmente più economici, pertanto si prestano maggiormente alla macinazione (Borgacci, 2020).

Il metodo di produzione della farina si è modificato nel tempo, fino ad arrivare ai nostri giorni; ora gli impianti sono molto più produttivi e performanti rispetto al passato, le caratteristiche del prodotto che si ottiene sono standardizzate e durante la macinatura vengono tenuti sotto controlli vari indici di processo per ottenere una farina con le caratteristiche desiderate dal consumatore. Principalmente esistono due tipologie di impianti per la produzione di farina.

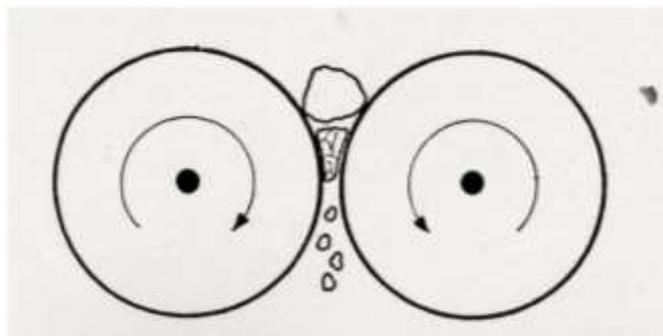
1. Mulino a pietra (fig.2.1), è il metodo più tradizionale, e ancora oggi largamente utilizzato in tutto il mondo per produrre farina e sfarinati. Sfrutta contemporaneamente diverse forze fisiche come taglio, compressione e abrasione, macinando i semi tra due pietre, una mobile e una fissa, con una resa teorica molto vicina al 100% (Kihlberg et al., 2004), i moderni mulini utilizzano macine composite fissate a piastre in metallo (A. Cappelli et al., 2020). Per ottenere un prodotto rispondente alle caratteristiche volute, è importante porre attenzione a molteplici

aspetti riguardanti le macine a pietra; tra i più importanti abbiamo la rabbigliatura senza difetti, ovvero la creazione di scanalature sulla pietra delle macine, la corretta direzione e posizione dei canali e un'attenta selezione dei materiali (A. Cappelli, 2020).



*Fig. 2.1: Scanalature presenti sulle macine (A. Cappelli, 2020)*

2. Mulino a rulli (fig.2.2), a differenza di quello a pietra è basato sulla separazione dell'endosperma dalla crusca e dal germe, attraverso dei primi passi volti a rimuovere la maggior quantità possibile di tegumenti esterni, seguita poi da una graduale riduzione dell'endosperma in farina con dimensioni delle particelle desiderata (A. Cappelli et al., 2020). Durante le fasi operative del processo di macinazione, il seme passa attraverso coppie di rulli e ogni fase è seguita dal setacciamento del materiale macinato, prima di proseguire con la successiva. I rulli possono essere lisci o scanalati, a seconda della fase di processo. L'efficienza del mulino a rulli dipende da molti fattori, come la qualità del prodotto da macinare, le caratteristiche del cece, dal tipo e caratteristiche dei rulli, dalla loro velocità e da tanti altri aspetti (A. Cappelli, 2020).



*Fig. 2.2: Funzionamento mulino a rulli (A. Cappelli, 2020)*

## 2.2.2 Bevande vegetali a base legumi

La produzione e la commercializzazione di bevande vegetali sono cresciute esponenzialmente in tutto il mondo (Sethi et al., 2016). In Europa, il mercato di queste bevande è cresciuto del 9% nel 2015 con una varietà di 138 tipi.

La produzione di queste bevande vegetali presenta numerosi vantaggi, come un più limitato impatto ambientale, dato da un ridotto sfruttamento di suolo e materie prime rispetto alla produzione del latte vaccino e utilizzando le piante si va ad eliminare la presenza di allergeni, e quindi ci saranno più persone che possono alimentarsi con questo prodotto senza avere ripercussioni negative sulla propria salute.

Inoltre, la maggior parte delle bevande vegetali industriali, viene fortificato con calcio e vitamina D, per sopperire alla carenza di questi micronutrienti, ma la biodisponibilità di questi nutrienti nei prodotti fortificati non è stata ancora sufficientemente studiata (Singhal et al., 2017).

In questo senso, i legumi sono un'opzione versatile e attraente nello sviluppo di nuovi prodotti, poiché sono noti per essere ricchi di proteine, in particolare il cece (*Cicer arietinum* L.) è un legume consumato in tutto il mondo e ricco di proteine, fibre e minerali, nel quale non ci sono ancora allergeni ufficialmente registrati, al contrario di soia e arachidi.

Per sviluppare un alimento *plant-based* che piaccia ai consumatori, gli elementi su cui è indispensabile puntare sono il miglioramento della consistenza, del sapore e del profilo aromatico.

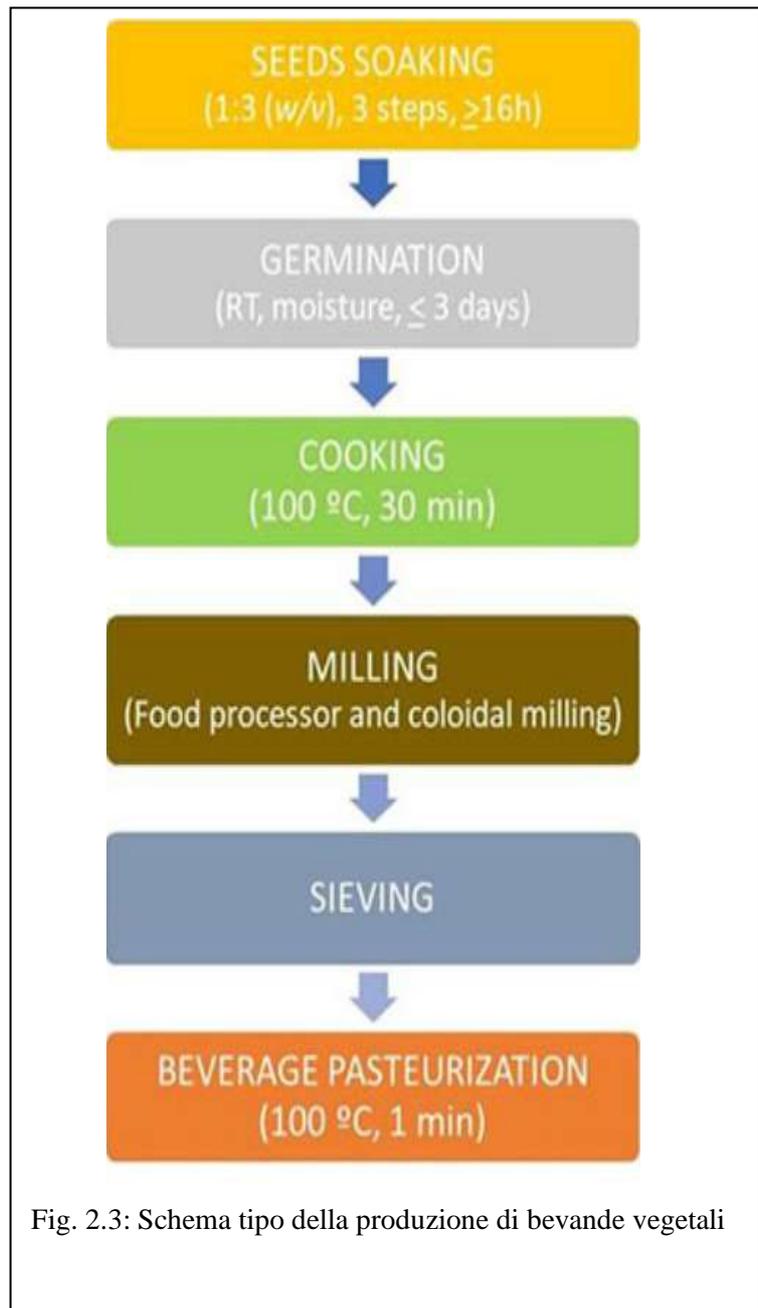


Fig. 2.3: Schema tipo della produzione di bevande vegetali

L'industria utilizza tecniche di trasformazione che sono riportate nello schema tipo in fig.2.3. Infatti, questi prodotti vengono solitamente ottenuti a partire da un ammollo in acqua, seguito da una fase di germinazione dei semi utilizzati, una cottura o tostatura, l'allontanamento delle parti non necessarie e una setacciatura del prodotto ottenuto, il tutto viene poi frullato e filtrato e in base alle caratteristiche che si vogliono ottenere. Il prodotto ottenuto presenta caratteristiche sensoriali della materia prima unite a caratteristiche ricercate che lo rendono più simile ad un alimento ex novo, con texture e aroma tipici.

Alcune bevande contenenti ceci sono già in commercio, ma si ipotizza che in futuro ce ne saranno molte di più, infatti si stanno studiando caratteristiche e composizioni per alimenti funzionali e *plant-based* con ingrediente principale cece, oppure altri prodotti ottenuti dalla miscela di due specie vegetali diverse, come cece e soia o cece e cocco, questi alimenti presentano già da ora un buon valore nutrizionale con caratteristiche di aroma, sapore e colore desiderabili (Jaekel et al., 2010). Esistono già bevande che puntano sulla sostenibilità della produzione, affiancata all'utilizzo di cece biologico come materia prima. I risultati sul mercato sono incoraggianti per queste tipologie di prodotto, il consumatore vede in questi alimenti sotto un'ottica salutistica e per sostituire il latte tradizionale (Rincon et al., 2020).

### 2.2.3 Ceci in scatola

Questo è forse il più comune utilizzo dei ceci, specialmente in Europa. Per la produzione degli inscatolati i legumi essiccati vengono messi all'interno di vasche, dove vengono reidratati per 14-15 ore a contatto diretto con l'acqua, e tramite assorbimento arrivano ad un peso circa doppio di quello iniziale. Il prodotto inumidito viene cernito e vengono allontanati i corpi estranei (pietre, residui organici) e successivamente scottato fino a temperatura di 90°C per 30-60 secondi. La scottatura o *blanching*, consente l'inattivazione delle sostanze mucillaginose e l'allontanamento di parte dell'ossigeno dai tessuti. Una seconda cernita seleziona i legumi idonei da quelli difettosi, per poi arrivare alla riempitrice. Il prodotto viene immesso nelle scatole vuote, ad alte temperature (80-92°C), alle quali viene aggiunto il liquido di colmatura o di governo composto di acqua e sale. Nella fase successiva le scatole piene vengono aggraffate e chiuse ermeticamente prima di arrivare alle autoclavi, la sterilizzazione sottopone il prodotto a una temperatura di circa 115° per 50-55 minuti. Segue un raffreddate a temperatura di 40-50°C, e poi vengono pallettizzati e stoccate nei magazzini (fig.2.4). A una distanza di tempo non inferiore ai 14 giorni, vengono sottoposte agli ultimi controlli di idoneità al consumo. I lotti di produzione che hanno superato gli ultimi test sono pronti per essere etichettati e raggiungere i punti vendita.

I ceci in scatola sono composti da ceci, acqua e sale, risultano essere una valida alternativa a quelli secchi perché sono subito pronti all'uso; mediamente 100 grammi di ceci contengono 120 kcal, fornite per il 21% da lipidi, 52% da glucidi e 27% da protidi. Inoltre, sono presenti le vitamine E, C, A, B1, B2, B3 e molti minerali, fra i quali sodio, potassio, zinco fosforo, magnesio e selenio.



Fig. 2.4: Processo di produzione dei ceci in scatola

## 2.3 Modificazioni della farina

Le modificazioni delle farine possono essere di molteplici tipologie, dalla combinazione con altre sostanze, l'aggiunta di sostanze benefiche, oppure tramite l'utilizzo di trattamenti termici, non termici, chimici, enzimatici e innovativi.

Sulla base del meccanismo di modificazione utilizzato si possono identificare 4 gruppi principali di tecniche di modificazione: termiche, chimiche, biologiche e fisiche.

### 2.3.1 Modificazioni termiche

Il trattamento termico convenzionale è uno dei metodi più comuni per modificare fisicamente le proprietà strutturali e funzionali delle proteine vegetali, in quanto funziona bene e hanno un costo moderato.

Il trattamento termico estremo provoca cambiamenti irreversibili nelle strutture proteiche, con conseguente denaturazione e aggregazione attraverso diversi tipi legame, come disolfuro, idrofobo ed elettrostatico, portando a una diminuzione delle loro proprietà funzionali, mentre si è visto che un blando preriscaldamento delle proteine vegetali può aumentare la loro stabilità termica.

Le principali caratteristiche che vanno a modificare questa tipologia di trattamento riguardano l'aumento della capacità schiumogena, ma non tutti gli studi effettuati sono d'accordo, in quanto alcuni hanno evidenziato risultati opposti. Le proprietà gelificanti risultano migliorate dopo il trattamento termico, in quanto viene migliorata la capacità delle proteine a formare un gel. Buoni

risultati sono stati registrati a seguito di trattamento termico per quanto riguarda la riduzione o l'eliminazione degli effetti avversi dei composti anti nutrizionali (Nikbakht Nasrabadi et al., 2021). Il trattamento termico può anche migliorare la digeribilità e le proprietà nutrizionali delle proteine vegetali, è stata documentata una migliore digeribilità sull'isolato proteico di albume.

### 2.3.2 Modifiche chimiche

Le modificazioni chimiche delle proteine alimentari sono state ampiamente utilizzate grazie all'alta efficienza, basso costo e facilità d'ottenimento. La modificazione chimica delle proteine può essere ottenuta mediante l'aggiunta di nuovi gruppi funzionali o l'eliminazione di componenti dalla struttura proteica della farina. La maggior parte dei metodi di modifica chimica ha problemi di regolamentazione e di etichetta, poiché utilizzando questi trattamenti risulta necessaria un'etichettatura particolare del prodotto, che acquista quindi una connotazione negativa agli occhi del consumatore.

Inoltre, alcuni di questi metodi non sono utilizzabili per le applicazioni alimentari (Zhang et al., 2019), per motivi di tossicità, in quanto la modifica chimica può fare inglobare alla proteina uno o più gruppi funzionali, sia come parte integrante della loro struttura ma anche come impurità (Nikbakht Nasrabadi et al., 2021).

### 2.3.3 Modifiche enzimatiche

La modifica enzimatica è uno dei metodi più popolari di modifica delle proteine, in particolare per la loro incorporazione nei sistemi alimentari, poiché i reagenti e i sottoprodotti non sono tossici, e inoltre agisce con tempi rapidi di reazione e con specificità elevata fra enzima e zona di attacco. Rispetto alla modificazione chimica, quindi si riesce ad avere una maggiore specificità di azione e si riduce il problema dell'accumulo di residui potenzialmente tossici a seguito del trattamento.

La modifica enzimatica viene maggiormente utilizzata nell'industria alimentare poiché viene ritenuto come un processo più 'light' rispetto alla modificazione chimica, ma come contro ha un elevato costo dovuto all'utilizzo di enzimi (Nikbakht Nasrabadi et al., 2021).

### 2.3.4 Modifiche fisiche non termiche

Sono molti i possibili trattamenti non termici che possono essere applicati per la modifica delle farine, alcuni esempi riguardano i trattamenti con alte pressioni di omogeneizzazione (HPH), alte

pressioni idrostatiche (HPP), campi elettrici pulsati (PEF), ultrasuoni (US), plasma freddo (CP) e raggi gamma. Questi metodi consentono di modificare le proprietà del prodotto utilizzando strategie differenti.

Il trattamento ad alta pressione idrostatica (HPP) consiste in un processo che applica alte pressioni (fino a 1000 MPa) ai prodotti confezionati attraverso un mezzo liquido che solitamente è acqua. Questa tecnica è stata inizialmente utilizzata per l'inattivazione microbica, ma attualmente sta ricevendo maggiore attenzione da diversi settori, tra cui la modifica delle proteine. Il meccanismo alla base del suo funzionamento si basa sul principio di Le Chatelier, che afferma che l'equilibrio che determina la struttura di una molecola si sposta verso il volume più piccolo possibile quando viene applicata pressione. Da studi effettuati sulle proteine si è vista la distruzione della struttura quaternaria con pressioni di 100-200 MPa, mentre a pressioni superiori di 400 MPa si osserva la denaturazione completa della proteina (Nowacka et al., 2023).

I trattamenti con campi elettrici pulsati (PEF) operano con campi elettrici brevi ( $\mu\text{s}$ - $\text{ms}$ ) e ripetuti all'interno di una camera di trattamento che può polarizzare il prodotto senza riscaldarlo. L'utilizzo di questa tecnologia per la modifica delle proteine deve essere compreso a fondo, gli studi finora presenti si concentrano sull'inattivazione degli enzimi piuttosto che sulla funzionalizzazione delle proteine; inoltre, il meccanismo di modifica delle proteine che si verifica è ancora poco chiaro.

Gli ultrasuoni (US) sono onde sonore al di sopra dei 20 kHz che vengono utilizzate per il trattamento degli alimenti in quanto sono in grado di trasmettere energia. Utilizzando questo processo, i principi fondamentali che influenzano la struttura proteica sono la cavitazione e le forze di taglio, entrambe capaci di rompere legami idrogeno e legami disolfuro, mentre la struttura primaria della proteina rimane generalmente invariata (Nowacka et al., 2023).

Il plasma a freddo (CP) è costituito da gas ionizzati a bassa temperatura, ottenuti mediante l'applicazione di un campo elettrico. Questa tecnologia è stata utilizzata nel settore alimentare per diversi utilizzi. Per la modifica delle proteine, i trattamenti con CP sono efficaci a tutti e quattro i livelli della struttura proteica, rendendolo una delle uniche tecniche fisiche in grado di alterare anche la struttura degli aminoacidi (Thirumdas et al., 2015). Le forti capacità ossidative di molte specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto (ROS e RNS) possono causare idrossilazione dei nuclei aromatici, ossidazione dei gruppi tiolo e amidazione dell'istidina e della prolina.

## 2.4 Le alte pressioni di omogeneizzazione (HPH)

L'omogeneizzazione ad alta pressione (*High Pressure Homogenization* - HPH) è una tecnologia che utilizza l'alta pressione per frammentare eventuali particelle disperse in un liquido alimentare e

creare una dispersione omogenea con la frazione solida caratterizzata da ridotte dimensioni e una maggior stabilità. In particolare, l'HPH viene molto utilizzato per omogeneizzare il grasso presente nel latte ma può essere anche applicato per modificare le proprietà funzionali di alimenti come succhi di frutta, yogurt, miele, oli vegetali, prodotti a base di frutta secca e in particolar modo.

Inoltre, l'HPH è un processo non termico, il che significa che non viene utilizzato alcun calore, il che aiuta a preservare le proprietà nutrizionali e organolettiche del prodotto.

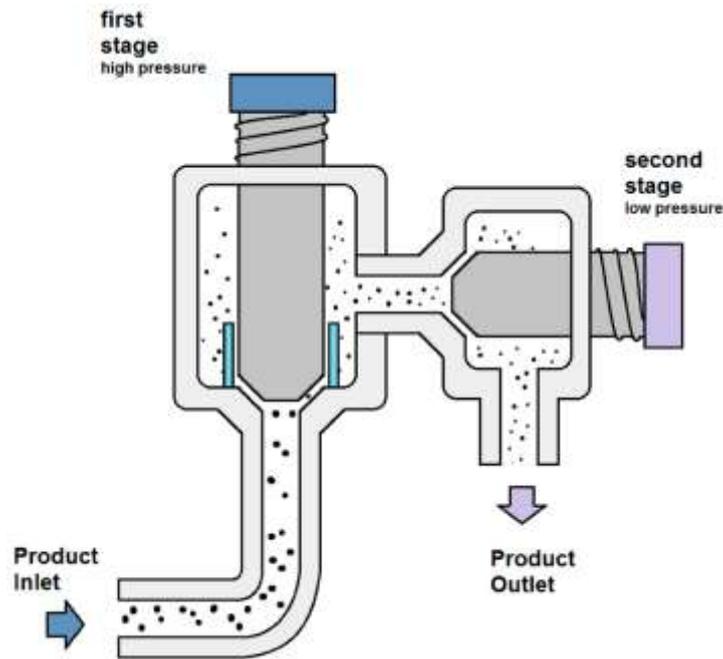
L'HPH è una tecnologia che ha dimostrato di migliorare la qualità e la stabilità degli alimenti. Ad esempio, il processo di HPH può migliorare la solubilità delle proteine del latte, la consistenza del succo di frutta, la cremosità del miele e la stabilità degli oli vegetali. Inoltre, l'HPH può essere utilizzato per rimuovere gli allergeni dal latte e dalle proteine del latte. L'alta pressione può causare la denaturazione delle proteine, il che può ridurre la loro reattività allergenica (Comuzzo & Calligaris, 2019). L'HPH è una tecnologia ancora relativamente nuova, ma sta attirando sempre più interesse da parte dei produttori di alimenti e dei consumatori.

#### 2.4.1 Principi di funzionamento e impianti

Durante il processo HPH, il fluido è pompato ad alta pressione attraverso uno stretto interstizio nella valvola dell'omogeneizzatore, dove è sottoposto ad una rapida accelerazione. I materiali sospesi nel fluido sono soggetti a grandi forze meccaniche e sollecitazioni, cavitazione, turbolenze e forze di taglio che rompono le goccioline del fluido e le disperdono uniformemente (Comuzzo & Calligaris, 2019).

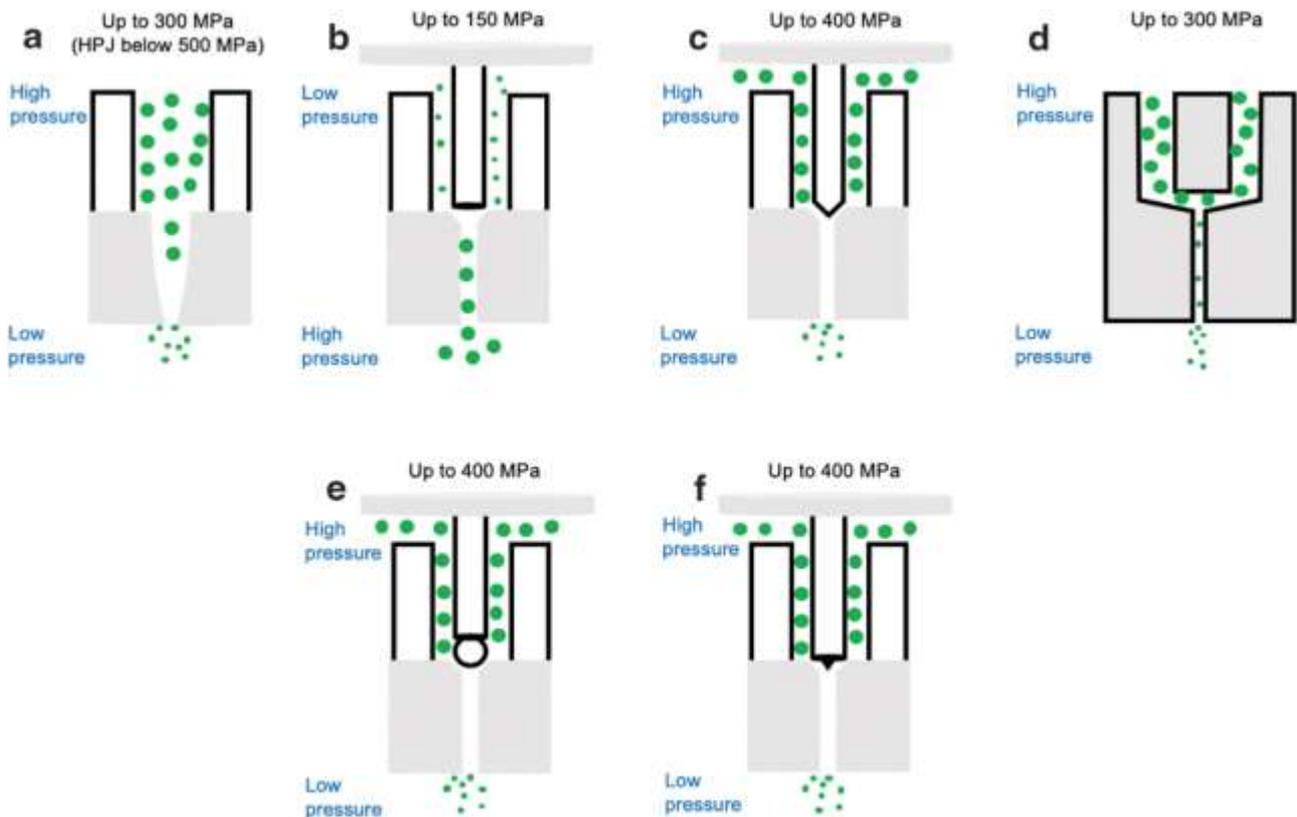
Il design dell'omogeneizzatore ad alta pressione di solito consiste in uno o due stadi che limitano il flusso del fluido, e vengono scelti in base alle proprietà del prodotto finale desiderato. La scelta della tipologia di omogeneizzatore è influenzata dai prodotti da trattare, solitamente si utilizzano quelli a doppio stadio per il trattamento di matrici grasse e sono specifici per prevenire la ri-aggregazione delle particelle grasse dopo la prima fase del trattamento.

Il processo HPH si svolge in una camera di omogeneizzazione (fig.2.5), dove il prodotto viene sottoposto a pressioni elevate, fino a 400 MPa. La pressione elevata porta alla frattura delle pareti cellulari, alla riduzione delle dimensioni delle particelle e alla modifica della struttura molecolare del prodotto.



*Fig. 2.5: Schema di funzionamento del sistema HPH (Comuzzo & Calligaris, 2019)*

Alcuni emulsionatori ad alta pressione possono lavorare a più cicli, con lo scopo di creare emulsioni stabili combinando più fasi di omogeneizzazione ad alta pressione, utilizzando una serie di valvole e camere di omogeneizzazione per ripetere il processo più volte, migliorando la stabilità dell'emulsione finale. I principali vantaggi di questa metodologia risultano essere avere emulsioni più stabili, elevata efficienza e controllo dei parametri di processo, mentre i principali svantaggi sono dati dagli elevati costi di impianto, complessità operativa e aumento dei tempi di processo. I recenti sviluppi di design (intensificatori, valvole diverse e geometrie della camera di omogeneizzazione) e vari materiali resistenti alle alte pressioni (ad es. ceramica, diamante, zaffiro) consentono livelli di pressione elevate e temperature di processo fino a 140–150 °C. È stato riportato che il design e la geometria della valvola (fig.2.6) è in grado di influenzare l'inattivazione dei microrganismi vegetativi e la formazione di nanoemulsioni anche quando viene utilizzata la stessa pressione (Levy et al., 2021).



*Fig. 2.6: Rappresentazione schematica delle comuni valvole ad alta pressione **a** Nozzle. **b** Needle and seat **c** Conical piston. **d** Microfluidics. **e** Ball and seat. **f** Sharp angle. (Disegno non in scala) (Levy et al., 2021)*

I parametri di processo che possono essere variati in funzione delle esigenze di processo sono pressione e temperatura, questi due fattori vengono modificati per aumentare o diminuire l'effetto che si ottiene sul prodotto trattato, è importante essere a conoscenza della correlazione tra i due perché spesso la modifica di uno dei due può alterare l'altro.

Il trattamento HPH viene considerato non termico, ma in realtà un aumento della temperatura del prodotto è inevitabile, si tratta di valori inferiori a quelli di trattamenti convenzionali, ma comunque un piccolo riscaldamento avviene; soprattutto quando si opera a pressioni elevate (fig.2.7). È per questo motivo che sono necessari scambiatori di calore in grado di abbassare rapidamente la temperatura quando termina il trattamento.

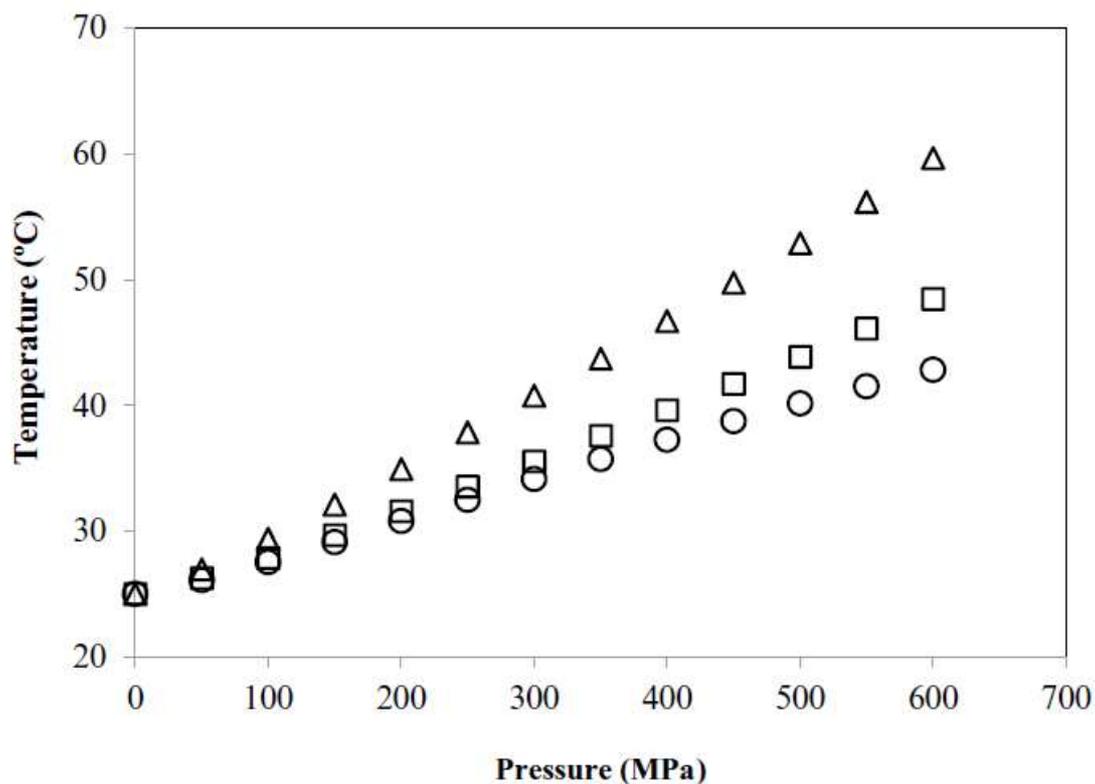


Fig. 2.7: Stime teoriche dell'aumento della temperatura basate su dati di proprietà pubblicati in situ di calore specifico e densità. '○' acqua, '□' miele, '△' olio di soia (Balasubramaniam et al., 2016)

## 2.4.2 Applicazioni dell'HPH nel settore alimentare

L'HPH o alte pressioni di omogeneizzazione è una metodologia non termica il cui scopo principale è quello di creare un'emulsione del prodotto, che consiste nell'aumento del numero di particelle più piccole ottenute dalla disgregazione di altre più grandi, pertanto la superficie totale delle particelle di nuova formazione aumenta, apportando un significativo miglioramento della stabilità fisica del prodotto.

L'omogeneizzazione standard a livelli di pressione intorno a 20-50 MPa è ampiamente utilizzata nelle industrie chimiche, biotecnologiche, farmaceutiche e alimentari, principalmente per ridurre la dimensione delle particelle delle dispersioni liquide, prevenendo la separazione di fase durante lo stoccaggio (Comuzzo & Calligaris, 2019).

Negli ultimi anni si è assistito ad un aumento delle sue applicazioni per diversi scopi grazie alla sua versatilità di processo, si è infatti diffuso l'utilizzo come tecnologia non termica per ottenere prodotti con minor danno termico e dove le caratteristiche nutrizionali risultano essere più conservate.

Di seguito vengono riportate le principali applicazioni di HPH su alimenti e bevande fluidi.

- Emulsione e Nanoemulsificazione

Il principale utilizzo di questo trattamento risulta essere l'emulsione, ovvero la riduzione delle dimensioni in gocce più piccole di sostanze come grassi, presenti all'interno della matrice alimentare trattata. Il processo risulta essere fondamentale nella produzione di emulsioni stabili e per ottenere la qualità desiderata del prodotto finale. La possibilità di aumentare il livello di pressione dall'omogeneizzazione convenzionale a pressioni più elevate ha favorito l'applicazione di questa tecnologia per produrre nanoemulsioni che sono sistemi eterogenei contenenti particelle con diametro delle gocce inferiore a 200 nm. Tuttavia, l'incremento della pressione utilizzata in tali processi presenta delle limitazioni, date soprattutto dall'impianto utilizzato e da come questo è stato progettato. Alla fine, vengono applicati passaggi multipli attraverso l'omogeneizzatore per ridurre ulteriormente non solo il diametro medio delle particelle ma anche l'ampiezza della distribuzione granulometrica, migliorando la stabilità dell'emulsione contro la coalescenza (Comuzzo & Calligaris, 2019).

- Inattivazione microbica

La maggior parte degli studi riguarda la possibilità di utilizzare HPH per distruggere le cellule microbiche e quindi come tecnologia alternativa ai trattamenti termici convenzionali. Buoni risultati sono stati ottenuti per l'inattivazione HPH di microrganismi e patogeni di origine alimentare presenti in diversi substrati alimentari (fig.2.8).

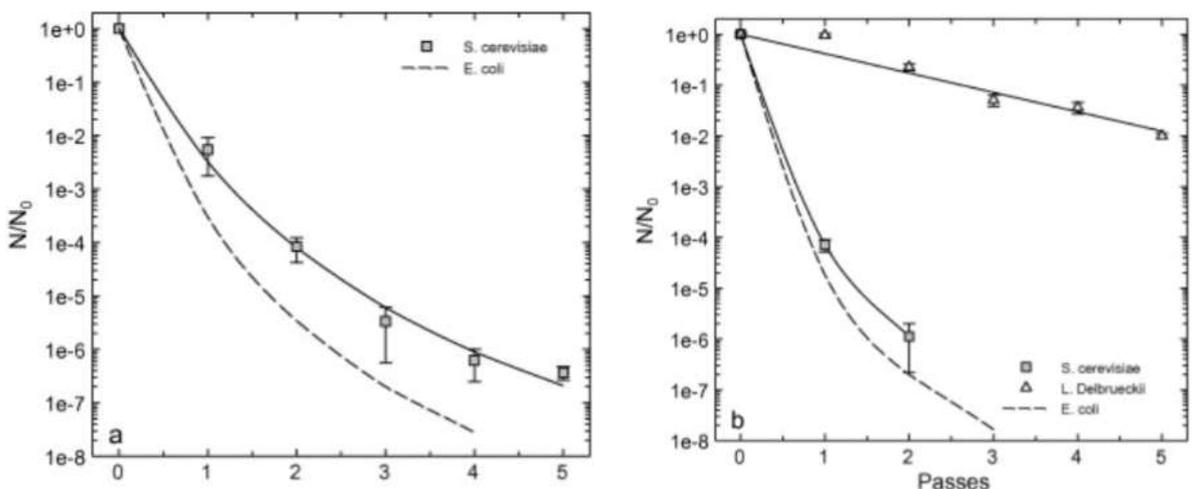


Fig. 2.8: Frazione di sopravvissuti di *S. cerevisiae*, *E. coli* e *L. delbrueckii*,  $N/N_0$ , riportata su scala logaritmica, come funzione del numero di passaggi di omogeneizzazione a 100 MPa (a) e 150 MPa (b) e temperatura di ingresso costante ( $2^\circ\text{C}$ ). (Maresca et al., 2011)

La capacità dell'HPH di indurre l'inattivazione microbica è stata attribuita all'elevata pressione, ai gradienti di velocità, agli sforzi di taglio, alla turbolenza, agli urti e ai fenomeni di cavitazione che si verificano durante il passaggio attraverso la valvola di omogeneizzazione. Queste sollecitazioni inducono la permeabilizzazione della membrana cellulare, seguita dalla deformazione della struttura cellulare; effetti addizionali o sinergici tra forze meccaniche e calore sono stati descritti da diversi autori a temperature superiori a 60 °C. È stato osservato che i microrganismi più sensibili alle alte pressioni sono lieviti, muffe e Gram-negativi, mentre le spore sono le più resistenti. (P. Cappelli & Vannucchi, 2016).

Secondo la letteratura l'HPH può essere applicato in modo affidabile per l'inattivazione microbica, ed è stato proposto come alternativa alla pastorizzazione degli alimenti o, in alcuni casi, alla sterilizzazione. Risultati promettenti sono stati ottenuti con latte vaccino, latti vegetali e succhi di frutta (Comuzzo & Calligaris, 2019).

- Distruzione cellulare e recupero dei componenti intracellulari

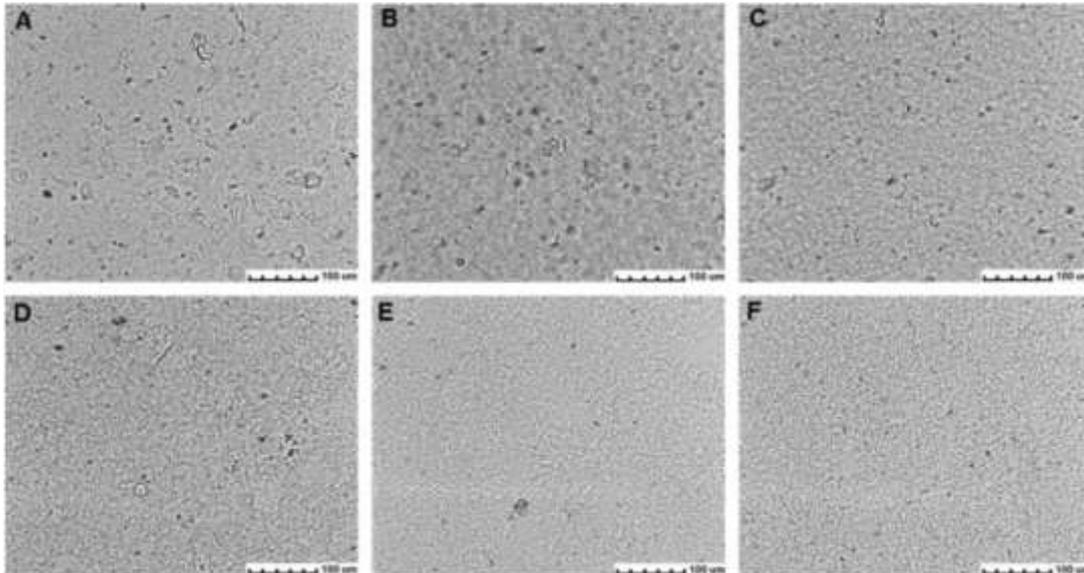
La disgregazione cellulare meccanica da HPH è abitualmente sfruttata nelle industrie farmaceutiche e biotecnologiche per distruggere batteri e lieviti nel tentativo di recuperare endo metaboliti. Ad oggi, questa tecnologia risulta un metodo efficiente per la distruzione cellulare anche nel settore alimentare e può essere potenzialmente sfruttato come pretrattamento per facilitare il recupero di componenti preziosi da materiale di scarto vegetale o da microalghe. Il grado di rottura cellulare è fortemente dipendente dalle caratteristiche della matrice e dall'intensità del trattamento applicato (Comuzzo & Calligaris, 2019).

- Modifiche fisiche e fisico-chimiche dei biopolimeri alimentari

Si possono applicare trattamenti HPH per modificare le caratteristiche fisiche e fisico-chimiche di alcuni componenti di alimenti, principalmente proteine e polisaccaridi.

Per quanto riguarda le proteine, è stato riportato che la struttura proteica può essere modificata durante le intense sollecitazioni meccaniche subite dal prodotto che passa attraverso la valvola di omogeneizzazione. A causa dei cambiamenti conformazionali delle proteine provocati dal processo, le funzionalità proteiche come solubilità, capacità emulsionante, schiumogena o gelificante, potrebbero cambiare profondamente. I trattamenti HPH sono stati in grado di influenzare le proprietà fisico-chimiche di una serie di proteine, comprese le proteine del latte, le proteine miofibrillari, le proteine delle arachidi, le proteine delle cozze e l'albume d'uovo (Comuzzo & Calligaris, 2019).

Nel caso di trattamenti su amidi, per i risultati ottenuti a valori  $\geq 100$  MPa si osserva una gelatinizzazione parziale, l'aumento della dimensione delle particelle (a causa del rigonfiamento e/o dell'aggregazione dei granuli di amido, fig.2.9), la diminuzione della temperatura di gelatinizzazione, senza cambiamenti significativi nella retrogradazione. Tuttavia, negli amidi resistenti come l'amido ad alto contenuto di amilosio, il rigonfiamento e la gelatinizzazione parziale non sono stati segnalati (Maniglia et al., 2021).



*Fig. 2.9: Micrografie dei gel di amido di mais ad alto contenuto di amilosio (o HMS) al 4,0%, mediante trattamento con alcali: Gel non omogeneizzato (A); gel ottenuto dopo omogeneizzazione a 25 MPa (B), 50 MPa (C), 75 MPa (D), 100 MPa (E) e 125 MPa (F). (Wang et al., 2012)*

Inoltre, nelle sospensioni di amido precedentemente gelatinizzate, l'HPH aumentava l'uniformità delle paste di amido, diminuiva la viscosità apparente e aumentava la limpidezza. Tra i risultati riportati, l'HPH promuove il rilascio di amilosio, il riarrangiamento e l'aggregazione dell'amido degradato, la formazione di nuove regioni semicristalline e la compattezza degli aggregati formati. Queste modificazioni prodotte da HPH nella struttura dei complessi hanno mostrato resistenza alla digestione enzimatica riducendo la velocità digestiva dei complessi formati.

## 2.5 Modifica delle proprietà funzionali a seguito di trattamenti non termici

Sono presenti diversi articoli scientifici riguardanti la modificazione di farine tramite l'utilizzo di tecnologie non termiche, ai fini del miglioramento del prodotto alimentare.

Bashir e Aggarwal (2016) nel loro articolo espongono il loro studio sulla farina di ceci trattata, in questo caso, tramite irradiazione con raggi gamma a diverse intensità. Quasi in tutti i parametri analizzati nello studio si notano differenze significative rispetto al controllo, che tendono a variare proporzionalmente alla dose di radiazioni ionizzanti. Nello specifico le *pasting properties* subiscono una graduale diminuzione all'aumentare dell'intensità dell'irradiazione; passando da 1175.33 cP a 266.63cP come viscosità massima raggiunta. Al contrario i parametri che migliorano risultano essere la capacità di assorbimento di acqua (WAC), dove l'aumento segue una tendenza positiva fino ad un massimo per il trattamento a 10kGy, probabilmente dovuto alla formazione di zuccheri semplici come destrine, maltosio, glucosio ecc., i quali hanno maggiore affinità per l'acqua; situazione simile per la capacità di assorbimento di olio (OAC).

Huang et al. (2022) nel loro studio sulle proteine di ceci trattate con alte pressioni di omogeneizzazione, hanno osservato che con trattamenti fino a 150MPa alcune proprietà come la viscosità e la solubilità variano significativamente. La solubilità aumentava all'aumentare dell'intensità del trattamento fino a 90MPa per poi diminuire con trattamenti maggiori (fig.2.10); probabilmente il fenomeno è dovuto ad una progressiva denaturazione che modifica la struttura proteica fino alla denaturazione completa seguita da una fase di aggregazione, responsabile del peggioramento delle *performance* tecnologiche.

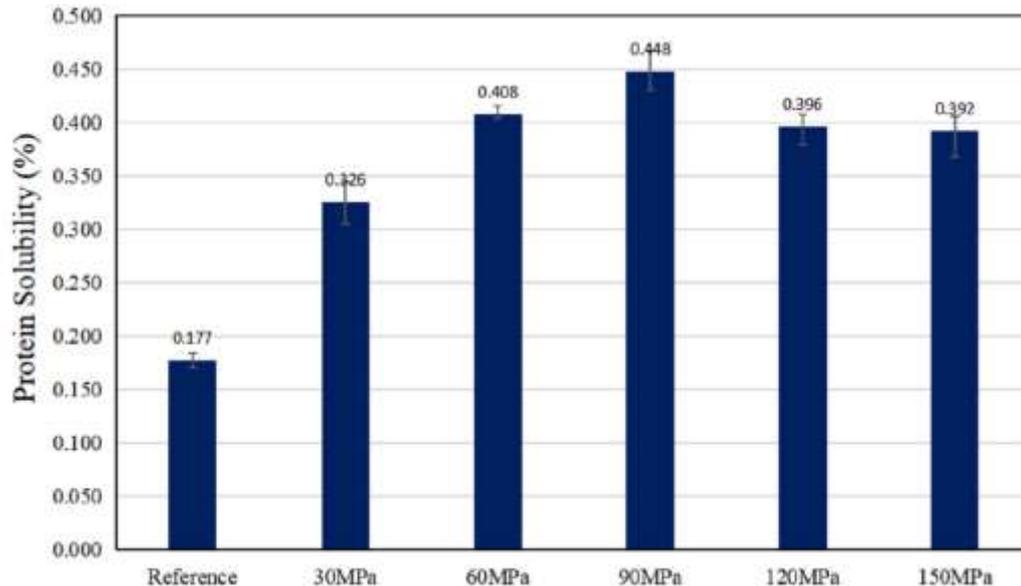


Fig. 2.10: Effetto delle pressioni di omogeneizzazione sulla solubilità delle proteine di ceci trattate con HP

Saricaoglu (2020) nel suo studio si focalizza sulle proprietà funzionali, di struttura e reologiche delle sospensioni di isolati proteici di lenticchie (LPI), che hanno subito l'effetto dell'omogeneizzazione ad alta pressione. Dai risultati si osserva come la solubilità, le proprietà

emulsionanti e schiumogene delle sospensioni di LPI sono state migliorate significativamente con l'aumento della pressione di omogeneizzazione fino a 100 MPa, per poi diminuire, questo effetto viene attribuito alla riduzione delle dimensioni delle particelle, dovuto al trattamento HPH e di conseguenza, le proprietà funzionali delle sospensioni sono migliorate. Utilizzando pressioni maggiori (150 MPa) si è assistito ad un ulteriore dispiegamento della struttura secondaria delle proteine. Inoltre, l'aumento della pressione ha comportato una diminuzione della viscosità apparente e i risultati dei test di taglio dinamico ottenuti con reometro, hanno chiaramente rivelato che le sospensioni di LPI trattate con HPH mostravano un comportamento simile a un gel debole.

Ma et al. (2023) nel loro articolo hanno investigato gli effetti delle alte pressioni di omogeneizzazione (0-150 MPa) sulle proteine di ceci utilizzando diversi cicli (1-3) durante il processo, per studiare le proprietà fisico-chimiche e funzionali a seguito del trattamento. Si è osservato come il trattamento HPH non abbia avuto effetto evidente sul peso molecolare delle proteine, ma è stato in grado di ridurre in maniera significativa la torbidità e le dimensioni delle particelle delle proteine di ceci. Inoltre, ha indotto la dissociazione e il dispiegamento della loro struttura molecolare, che a sua volta ha portato a una diminuzione del contenuto totale di gruppi sulfidrilici (sia esposti sulla superficie, sia all'interno) e ad un aumento dell'idrofobicità superficiale. Per valutare l'effetto di più cicli gli autori hanno trattato con 90 MPa per 1-3 cicli, e si è visto come all'aumentare dei cicli sono stati registrati miglioramenti significativi su solubilità (peggiora con trattamenti maggiori a 100 MPa), proprietà schiumogene ed emulsionanti delle proteine di ceci.

## 3 Materiali e metodi

### 3.1 Provenienza e stoccaggio campioni

La farina di ceci (var. pascià rugoso) utilizzata per la sperimentazione è stata acquistata da Molino Maraldi (Cesena) e conservata a temperatura ambiente. In tab. 4.1 si riporta la composizione in macronutrienti della farina prima del trattamento, che risulta essere in accordo con letteratura (Chavan et al., 1987). Prima delle prove si è provveduto a setacciare la farina (mesh da 100) per uniformarne la granulometria.

Energia [Kcal]	Carboidrati [g/100g]	Proteine [g/100g]	Fibre [g/100g]	Sale [g/100g]	Grassi [g/100g]
360	47	21	13.6	0.015	6.3

*Tabella 4.1: Composizione della farina di ceci non trattata, espressa per 100g di prodotto, come indicato nell'etichetta.*

### 3.2 Trattamento con HPH

Per il trattamento con HPH sono stati miscelati assieme 100 g di farina e 300 ml di acqua (rapporto 1:3). Per evitare la comparsa di grumi si è omogeneizzata la miscela per 1 min a 8000 rpm (T18 Digital Ultra Turrax, IKA, Germania). Il prodotto così ottenuto è stato trattato con HPH tramite un omogeneizzatore Panda (GEA Nitro soavi, Italia) a 30, 60, 90 e 120 MPa con un singolo passaggio. All'uscita dallo strumento i campioni sono stati mantenuti in ghiaccio (5min) per minimizzare l'effetto termico. Come controllo è stata utilizzata una miscela ma non trattata.

### 3.3 Essiccazione

Dopo il trattamento, tutti i campioni sono stati congelati a  $-40^{\circ}\text{C}$  e liofilizzati (DPC-420, Spascal, Italia). La farina così processata è stata velocemente rimacinata (M20, IKA, Germania) e setacciata con mesh da 100, in attesa delle successive analisi il prodotto si è conservato in contenitori chiusi ermeticamente.

## 3.4 Determinazioni analitiche

### 3.4.1 Umidità

L'umidità è stata misurata con metodo gravimetrico, si sono pesati 3 g di farina (Bilancia ABJ-NM/ABS-N, Kern, Germania) all'interno di capsule in alluminio tarate e riposti in stufa (UF110, Memmert, Germania) a 105°C per 24 ore. Successivamente è stata calcolata la variazione di peso, così da ottenere l'umidità in percentuale sul peso iniziale del campione.

### 3.4.2 Colore

I parametri L, a\* e b\* sono stati misurati con un colorimetro (Colorflex, Hunterlab, USA) calibrato con mattonelle standard, la differenza totale di colore ( $\Delta E$ ), la Hue (H) e croma (C) sono stati calcolati partendo dai valori L, a\*, b\* con le seguenti formule, come svolto da Bashir e Aggarwal (2016).

$$\text{Hue} = \frac{\tan^{-1}(b^*/a^*)}{2\pi} * 360$$

$$\text{Croma} = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

### 3.4.3 Water Adsorption Index (WAI) e Water Solubility Index (WSI)

Il *Water Adsorption Index* (WAI) e il *Water Solubility Index* (WSI) dei campioni sono stati determinati secondo il metodo di Wani et al. (2014), con leggere modifiche. Provette falcon da 50ml sono state riempite con campioni di farina (1 g), successivamente dispersi in 10 ml di acqua distillata. La sospensione è stata agitata con un vortex (ZX3, Velp Scientifica, Italia) per 30 secondi. Tutte le sospensioni sono state quindi riscaldate in un bagno termostato (Strike 300, Steroglass, Italia) per 30 minuti a 85 °C. I campioni sono stati poi raffreddati in ghiaccio per 5 minuti, e centrifugati a 3000 g per 10 minuti (Rotofix32A, Hettich, Germania). Il surnatante è stato versato in piatti di alluminio tarati e successivamente essiccato in stufa (UF110, Memmert, Germania) a 105 °C per 24 ore e pesato. WSI e WAI sono stati calcolati con le seguenti formule:

$$WAI = \frac{g \text{ pellet}}{g \text{ campione}}$$

$$WSI = \frac{g \text{ solidi disciolti} \times 100}{g \text{ campione}}$$

#### 3.4.4 Water Holding Capacity (WHC)

La capacità di assorbimento dell'acqua è stata misurata modificando il metodo descritto da Gani et al. (2012). 1g di ciascun campione di farina è stato disperso in 9 ml di acqua distillata all'interno di provette tarate. Le dispersioni sono state agitate per 20 secondi (Vortex ZX3, Velp Scientifica, Italia) a temperatura ambiente e quindi centrifugate a 3000 g per 30 minuti (Rotofix32A, Hettich, Germania). Il surnatante è stato eliminato per drenaggio, e il pellet è stato lasciato decantare sul fondo, le provette contenenti il campione sono state pesate nuovamente. L'aumento di peso è stato espresso in grammi di acqua assorbita per grammo di farina.

$$WHC = \frac{g \text{ pellet} - g \text{ campione}}{g \text{ campione}}$$

#### 3.4.5 Oil Holding Capacity (OHC)

La capacità di assorbimento dell'olio è stata calcolata secondo il metodo descritto da Wani et al. (2014), con leggere modifiche. Sono stati mescolati 1g di ciascun campione di farina con 9 ml di olio di soia all'interno di provette da centrifuga pre-pesate (ABJ-NM/ABS-N, Kern, Germania). Le miscele ottenute sono state agitate per 20s (Vortex ZX3, Velp Scientifica, Italia) per disperdere il campione nell'olio. I campioni sono stati quindi mantenuti per 30 minuti in posizione verticale per garantire una corretta dispersione della farina e infine sottoposti a centrifugazione a 3000 g per 30 minuti (Rotofix32A, Hettich, Germania). Lo strato di olio superficiale è stato rimosso con una pipetta, le provette sono state tenute in posizione inclinata per 20 minuti per drenare l'olio e solo a questo punto pesate. L'aumento di peso è stato espresso in grammi di olio assorbito per grammo di farina.

$$OHC = \frac{g \text{ pellet} - g \text{ campione}}{g \text{ campione}}$$

### 3.4.6 Capacità emulsionante

La capacità emulsionante (Emulsiona Activity – EA) e la stabilità dell'emulsione (*emulsion stability*-ES) sono state calcolate preparando 50ml di una soluzione al 7% (w/v) di farina e acqua distillata. La soluzione si è omogenata con ultraturrax (T18 Ultraturrax, IKA, Germania) a 11000rpm per 30 secondi, successivamente sono stati aggiunti 50ml di olio ed il tutto emulsionato a 11000rpm per 60 secondi. L'emulsione così ottenuta è stata divisa in quattro falcon graduate, poi centrifugate a 1200g per 5 minuti. Dopo la centrifugazione veniva annotato il volume dello strato emulsionato. Per valutare la stabilità dell'emulsione, invece, le stesse provette sono state immerse in bagno termostato (Strike 300, Steroglass, Italia) a 85°C per 30 minuti e successivamente sono state lasciate a raffreddare in ghiaccio per 5 minuti. Dopo un'ultima centrifugazione a 1200g per 5 minuti veniva misurato misura il volume dello strato emulsionato. Di seguito sono indicate le formule per calcolare EA e ES:

$$EA = \frac{\text{vol. strato emulsionato iniziale}}{\text{vol. tot}} * 100$$

$$ES = \frac{\text{vol. strato emulsionato dopo cottura}}{\text{vol. strato emulsionato iniziale}} * 100$$

### 3.4.7 Proprietà termiche

Le proprietà termiche della farina si sono calcolate utilizzando il metodo descritto da Liu et al. (2012), con alcune modifiche. Le proprietà termiche delle farine native e trattate sono state studiate tramite la calorimetria differenziale a scansione (Q20, TA Instruments, USA). Campioni di farina da 3 mg sono stati pesati (Bilancia ABJ-NM/ABS-N, Kern, Germania) in una piccola capsula in alluminio (Tzero pan, TA instruments, USA) per poi aggiungere acqua deionizzata per ottenere una percentuale di umidità del 70%. La capsula è stata quindi sigillata e lasciata a riposo (24h) per favorire una corretta e omogenea migrazione dell'umidità all'interno del campione, dopodiché è stata riscaldata da 20 a 120 °C a una velocità di 10°C/min. Lo strumento è stato calibrato utilizzando indio e come riferimento. Dai termogrammi ottenuti sono stati calcolati la temperatura di inizio (Ti), di picco (Tp) e di conclusione (Tf) del fenomeno assieme all'entalpia di gelatinizzazione ( $\Delta H$ ).

### 3.4.8 Proprietà di impastamento

Le proprietà di impastamento (*pasting properties*) delle farine di ceci sono state studiate utilizzando un reometro (MCR-102, Anton Paar, Austria). I profili di viscosità delle farine di ceci sono stati registrati utilizzando sospensioni di farina (12% in peso; peso totale 25 g). Inizialmente, la sospensione è stata equilibrata a 50°C per 1 minuto e quindi riscaldata da 50 a 95 °C a 5 °C/min, mantenendola poi a 95°C per 5 minuti, seguiti dal raffreddamento a 50°C a un tasso di 5 °C/min e infine mantenendola a 50°C per 2 minuti. Una velocità costante di agitazione (160 giri/min) è stata mantenuta durante l'esperimento per tutti i campioni, tranne all'inizio quando la velocità era di 960 giri/min per 10 secondi al fine di disperdere uniformemente il campione. Dai grafici ottenuti sono stati registrati i seguenti parametri; temperatura d'impasto (PT), picco di viscosità (PV), rateo di rammollimento (HSB), ri-associazione (SBV) e viscosità finale (FV).

## 3.5 Analisi statistica

Tutte le determinazioni analitiche sono state effettuate in triplicato e i dati ottenuti analizzati per valutare eventuali differenze statistiche fra i campioni. A questo scopo è stata condotta una analisi della varianza di tipo parametrico o non parametrico. La scelta fra le due tipologie di test è dipesa dalla valutazione preliminare dei dati mediante test di Levene per l'omogeneità della varianza e test di Shapiro per la normalità ( $p < 0,05$ ). In caso di significatività dei test di Levene e Shapiro, si è applicata una ANOVA parametrica e post-hoc Tukey; altrimenti si è applicata una ANOVA non parametrica Kurskal-Wallis e post-hoc Holm ( $p < 0,05$ ). Per l'analisi statistica è stato utilizzato il software R (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).

## 4 Risultati e discussione

### 4.1 Umidità

L'umidità della farina è stata calcolata a seguito della liofilizzazione, e i valori sono risultati intorno al 5% come riportato nella tabella 4.1 senza differenze significative.

	<b>0,1</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>90</b>	<b>120</b>
<b>Umidità</b>	4,80	6,28	5,02	3,98	4,99
<b>dev.st</b>	0,09	0,06	0,02	0,06	0,04

Tabella 4.1: Umidità dei campioni dopo liofilizzazione.

### 4.2 Colore

Campione	L*	a*	b*	H°	C	ΔE
0,1	87,41±0,04 <sub>a</sub>	2,83±0,01 <sub>a</sub>	28,07±0,16 <sub>a</sub>	84,25±0,08 <sub>a</sub>	28,21±0,04 <sub>a</sub>	0,07±0,02 <sub>a</sub>
30	87,98±0,05 <sub>b</sub>	2,19±0,01 <sub>b</sub>	25,83±0,17 <sub>b</sub>	85,15±0,06 <sub>b</sub>	25,93±0,11 <sub>b</sub>	2,40±0,13 <sub>b</sub>
60	88,14±0,10 <sub>c</sub>	1,77±0,03 <sub>c</sub>	24,55±0,07 <sub>c</sub>	85,87±0,05 <sub>c</sub>	24,61±0,07 <sub>c</sub>	3,75±0,06 <sub>c</sub>
90	88,33±0,11 <sub>d</sub>	1,67±0,03 <sub>d</sub>	24,17±0,10 <sub>d</sub>	86,05±0,04 <sub>d</sub>	24,23±0,17 <sub>d</sub>	4,17±0,16 <sub>d</sub>
120	88,39±0,05 <sub>e</sub>	1,61±0,04 <sub>e</sub>	23,96±0,04 <sub>d</sub>	86,15±0,04 <sub>e</sub>	24,001±0,16 <sub>d</sub>	4,40±0,16 <sub>d</sub>

Tabella 4.2: Parametri ottenuti dal colorimetro con relativa deviazione standard. Lettere diverse indicano differenze significative tra i campioni ( $p < 0,05$ )

I dati ottenuti di colore delle farine in funzione della pressione applicata sono riportati in tab.4.2. Per tutti i parametri considerati, è stata osservata una variazione significativa all'aumentare della pressione applicata. In particolare, sono risultati diminuire i parametri a\*, b\* e C, mentre L\*, H° e ΔE sono aumentati. Il cambiamento di colore risulta essere più marcato negli intervalli compresi entro 90MPa, andando poi a variare gradualmente sempre meno. Risultati simili di diminuzione del parametro b\* sono stati osservati anche da Wu et al. (2020), che ha studiato gli effetti dell'HPH sulle proprietà filmogene di una farina di buccia di pomelo, ottenendo una diminuzione della colorazione, con un decremento più marcato nelle prime fasi, che diminuiva di entità degli *step* successivi del trattamento.

### 4.3 Water adsorption index (WAI) e water solubility index (WSI)

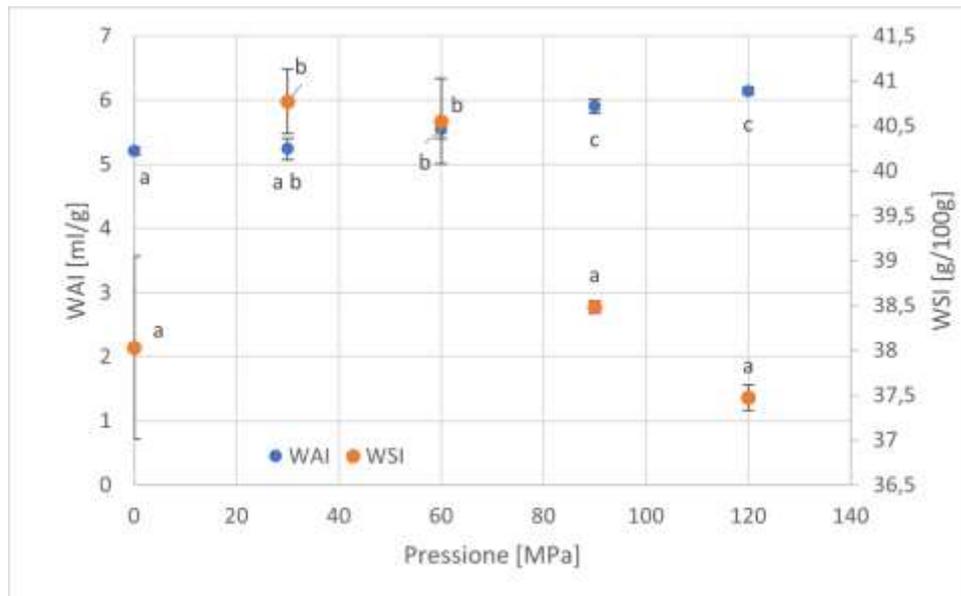


Fig. 4.1: Evoluzione dei parametri WAI e WSI in funzione della pressione di trattamento applicata. Lettere diverse indicano differenze significative tra i campioni ( $p < 0,05$ )

Nella figura 4.1 sono riportati i valori di WAI e WSI misurati nei campioni di farina di ceci in funzione della pressione applicata. Per quanto riguarda l'indice di solubilità (WSI), si può notare come esso aumenti in seguito ai trattamenti a 30 e 60 MPa, per poi tornare a valori comparabili al controllo dopo l'applicazione di pressioni superiori a 90 MPa.

La capacità di assorbimento dell'acqua (WAI) segue, invece, un andamento più uniforme, è stato osservato un incremento dell'indice proporzionale all'aumento della pressione applicata, con i valori massimi raggiunti con il trattamento a 120 MPa. I due comportamenti differenti degli indici si potrebbero attribuire al differente effetto che il trattamento ha sui due principali componenti della farina, quali amidi e proteine. Per quanto riguarda l'indice di solubilità, l'aumento che si registra intorno a pressioni di 30-60 MPa potrebbe essere dovuto all'effetto sulle proteine che risultano essere maggiormente solubili, mentre con pressioni oltre i 90 MPa l'effetto di denaturazione potrebbe prevalere portando alla precipitazione. Per quanto riguarda invece l'indice di assorbimento si potrebbe ipotizzare un aumento costante dovuto alla progressiva azione delle alte pressioni sulla frazione amidacea, che risultando danneggiata riesce a meglio legare l'acqua.

## 4.4 Water holding capacity e oil holding capacity (WHC-OHC)

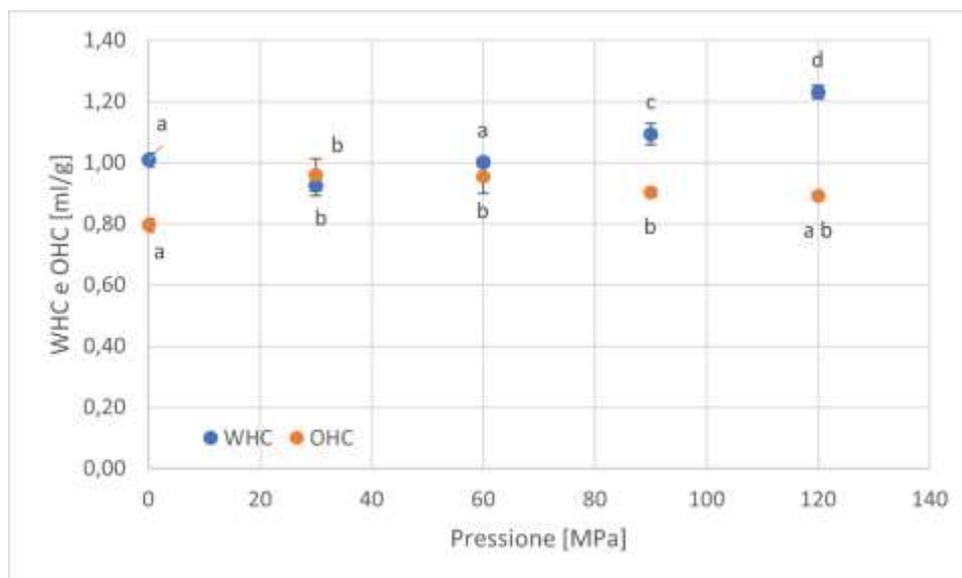


Fig. 4.2: Evoluzione della capacità di legare acqua (WHC) e olio (OHC) in funzione della pressione di trattamento esercitata. Lettere diverse indicano differenze significative tra i campioni ( $p < 0,05$ )

La figura 4.2 riporta i parametri di capacità di legare acqua (WHC) e olio (OHC) misurati nella farina di ceci in seguito ai trattamenti con HPH. La capacità di legare acqua è risultata aumentare all'aumentare della pressione applicata. Questo dato può essere correlato al valore di WAI, che misura una proprietà simile con la differenza che per la WAI vi è una fase di riscaldamento che permette la gelificazione dell'amido e la denaturazione delle proteine (motivo per il quale i valori ottenuti sono maggiori).

L'incremento, che raggiunge il 20% per il trattamento con 120 MPa, potrebbe essere quindi dovuto ad un danneggiamento dell'amido che permette di legare meglio l'acqua anche senza l'effetto della temperatura, oppure ad un effetto sulle proteine, come suggerito anche dall'articolo di Dong et al. (2011), in cui un incremento della WHC è stato registrato a seguito del trattamento HPH sulle proteine di arachide. Gli autori hanno ipotizzato che tale aumento fosse dovuto al trattamento, che ha contribuito all'interazione proteina-proteina durante la formazione del gel, alla formazione di particelle più fini e all'estensione della superficie della struttura proteica, con conseguente aumento di intrappolamento di acqua all'interno.

Per quanto riguarda invece la capacità di legare l'olio (OHC), un aumento statisticamente significativo è risultato solo per trattamenti con pressioni più basse (30 e 60 MPa), mentre l'effetto è risultato progressivamente minore per trattamenti a pressioni superiori, anche se per i 90 MPa i valori rimanevano maggiori rispetto al controllo. Generalmente in una farina, la parte che meglio riesce ad

interagire con il grasso è la frazione proteica, la quale presenta un comportamento anfipatico. Per questo motivo l'aumento di OHC che si registra a basse pressioni di trattamento potrebbe essere dovuto all'effetto di parziale denaturazione che si ha sulle proteine le quali rendono più accessibili anche le parti lipofile della catena e pertanto meglio interagiscono con il grasso. Ulteriori approfondimenti sulla frazione proteica sono necessari per confermare questa ipotesi.

## 4.5 Capacità emulsionante (EA-ES)

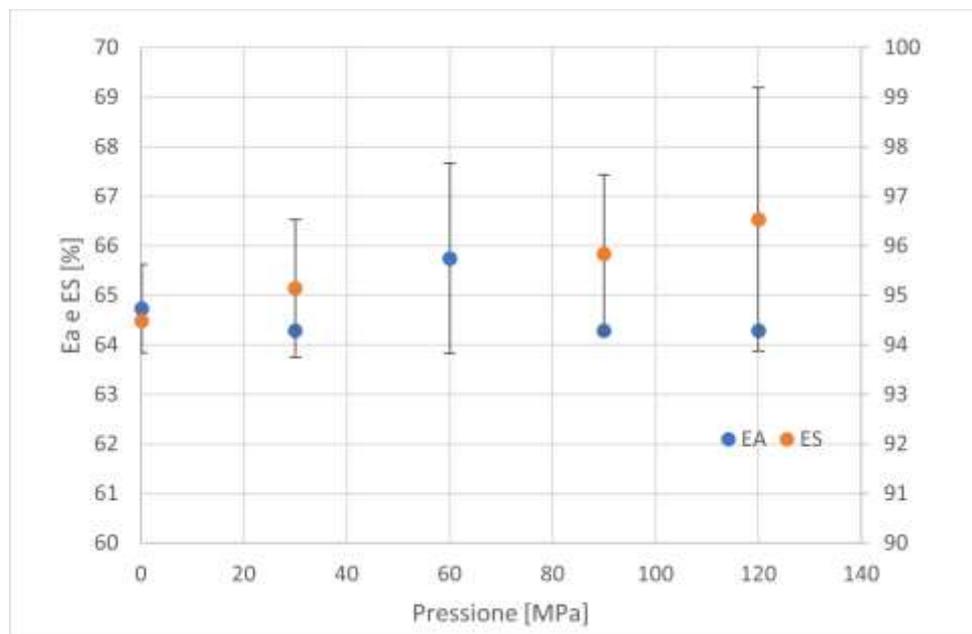


Fig. 4.3: Evoluzione della capacità emulsionante (EA) e della stabilità (ES) in funzione della pressione di trattamento esercitata. Lettere diverse indicano differenze significative tra i campioni ( $p < 0,05$ )

Nella figura 4.3 sono riportati i valori relativi alla capacità emulsionante, in particolare la capacità di formare emulsioni (EA) e la stabilità degli stessi (ES) misurati nei campioni di farina di ceci in funzione della pressione applicata. EA risulta essere abbastanza stabile nel tempo, con valori massimi raggiunti in seguito al trattamento a 60 MPa. Al contrario il parametro ES mostra una linea di tendenza leggermente positiva. Tuttavia, i valori non sono risultati significativamente diversi.

Lo studio condotto da Xinhong Dong et al. (2011) sulle proprietà tecnologiche sulle proteine delle arachidi, mostra risultati in disaccordo con quelli ottenuti in questa sperimentazione. In particolare, gli autori hanno osservato un leggero incremento della EA, direttamente proporzionale all'intensità del trattamento HPH, e contemporaneamente una diminuzione dell'indice ES. Gli autori indicano come possibile causa di questi fenomeni la denaturazione delle proteine e alla successiva esposizione

dei gruppi idrofobici, con conseguente miglioramento della proprietà di EA. La differenza potrebbe essere dovuta alle differenze nella materia prima utilizzata e dei processi impiegati, infatti nello studio citato veniva utilizzata una proteina isolata e pressioni fino a 80MPa.

## 4.6 Proprietà termiche

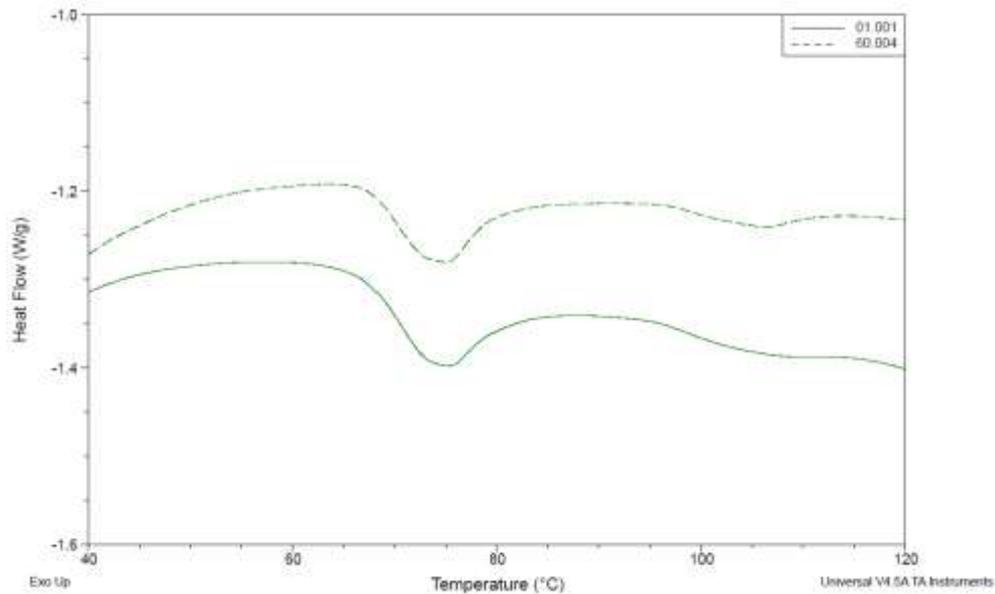


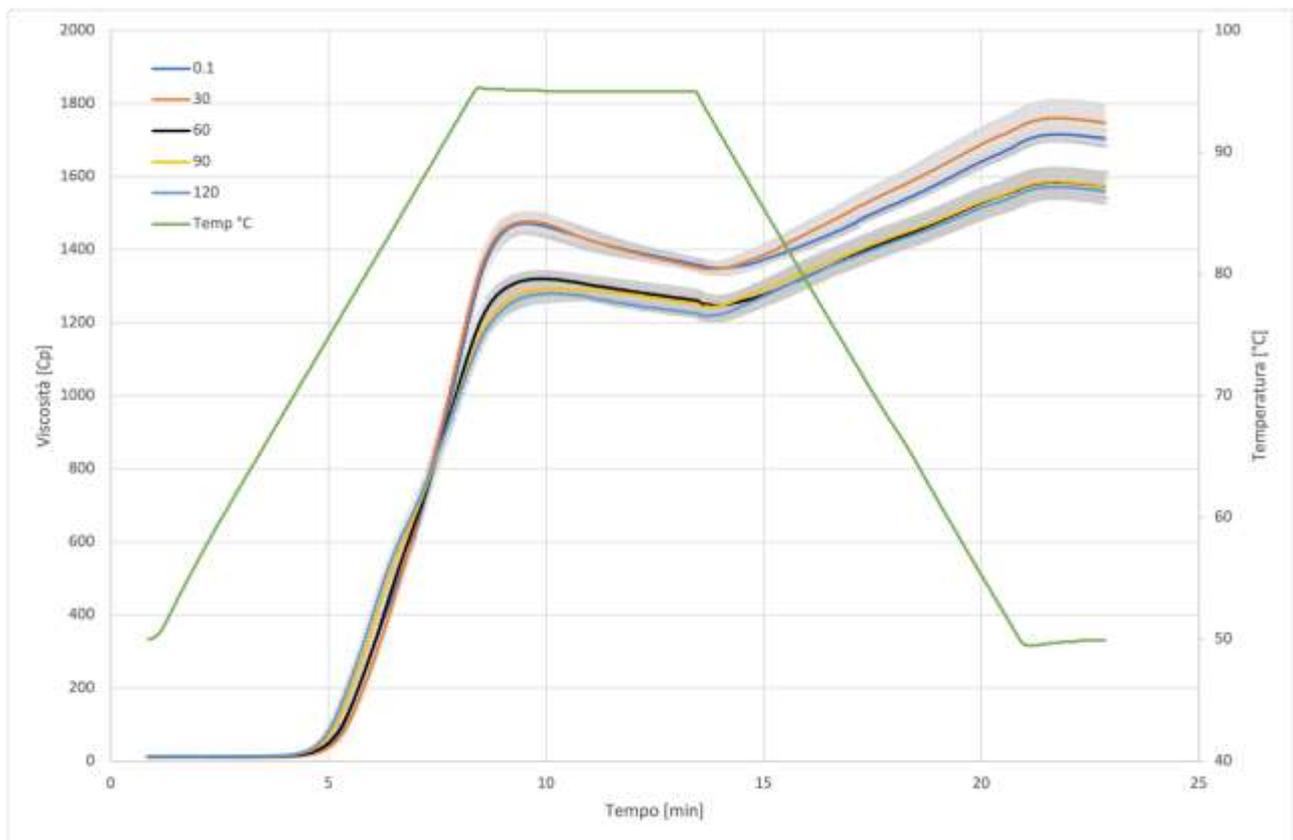
Fig. 4.4: Esempio di termogramma ottenuto dall'analisi calorimetrica del flusso di calore (W/g) in funzione della temperatura

Campione	Ti [°C]	$\Delta H$ [J/g]	Tp [°C]	Tf [°C]
0,1	68,02±0,23	3,30±0,83	74,58±0,40	86,61±1,82
30	67,44	4,133	74,45	86,21
60	67,81±0,40	4,14±0,45	74,82±0,45	87,65±1,26
90	67,07±0,76	3,62±0,46	74,10±0,46	85,30±1,16
120	68,11±1,20	2,54±1,05	74,49±1,05	83,62±3,27

Tabella 4.3: Temperatura di inizio (Ti), di picco (Tp), finale (Tf) e variazione di entalpia ( $\Delta H$ ), ottenuti dalle analisi dei termogrammi con DSC sui vari campioni.

La figura 4.4 riporta un esempio di termogramma delle farine di ceci, da cui è stato osservato un picco endotermico coincidente con la denaturazione delle proteine presenti e con la gelificazione dell'amido che avviene in presenza di acqua. Il picco è stato integrato e sono stati calcolati i valori di temperatura di inizio, del picco e della fine del fenomeno e l'entalpia risultante, come riportate nella tabella 4.3. Per il campione di controllo i dati ottenuti risultano in accordo con la letteratura presente che descrive un range di  $T_i$  da 60.1 a 72.6°C e una  $\Delta H$  con valori che vanno da 3.5 a 5.1 J/g (Bashir & Aggarwal, 2016; Chung et al., 2008; Garske et al., 2023; M. Kaur & Singh, 2005). Non sono state osservate differenze significative tra i campioni trattati e quello di controllo.

## 4.7 Proprietà di impastamento



*Fig.4.5 Evoluzione della viscosità (Cp) in funzione di tempo e temperatura dei campioni di farina di ceci trattati con HPP rispetto al controllo..*

Campione	Temperatura d'impastamento (PT) [C°]	Viscosità massima (PV) [Cp]	Ri-associazione (SBV) [Cp]	Viscosità finale (FV) [Cp]	Rateo di rammollimento (HSB) [Cp]
0,1	70,97±0,31 <sub>ab</sub>	1472±28,62 <sub>a</sub>	1349±16,09 <sub>a</sub>	1704,67±22,85 <sub>a</sub>	1581,33±12,50 <sub>a</sub>
30	71,73±0,51 <sub>a</sub>	1478±25,51 <sub>a</sub>	1345,33±16,56 <sub>a</sub>	1747,33±50,72 <sub>a</sub>	1615±76,00 <sub>a</sub>
60	70,80±0,10 <sub>b</sub>	1321,33±20,50 <sub>b</sub>	1245,33±27,97 <sub>b</sub>	1574,33±32,65 <sub>b</sub>	1499,67±43,65 <sub>a</sub>
90	68,57±0,21 <sub>c</sub>	1296±32,08 <sub>bc</sub>	1242,33±20,50 <sub>b</sub>	1575,67±36,94 <sub>b</sub>	1521,33±24,38 <sub>a</sub>
120	69,20±0,26 <sub>c</sub>	1281±6,08 <sub>c</sub>	1217,33±15,50 <sub>b</sub>	1560±33,72 <sub>b</sub>	1496,67±43,19 <sub>a</sub>

*Tabella 4.4: Valori ricavati dalle analisi effettuate con reometro sui campioni di farina. Lettere diverse indicano differenze significative tra i campioni ( $p < 0,05$ )*

Esempi delle curve di impastamento dei vari campioni sono riportate in figura 4.5, dal grafico si può ben notare una netta distinzione fra il controllo e il campione trattato con 30 MPa rispetto agli altri campioni, che assumono tendenzialmente valori di viscosità inferiori rispetto ai precedenti. I valori ottenuti dall'analisi sono riportati in tabella 4.4. I valori relativi al campione di controllo risultano conformi a quanto riportato in letteratura (M. Kaur & Singh, 2005). Per quanto riguarda l'effetto del trattamento con HPH, una riduzione statisticamente significativa è stata riscontrata per i parametri temperatura d'impastamento, viscosità massima e finale, ri-associazione e rateo di rammollimento. La generale riduzione di viscosità del prodotto sottoposto al trattamento ad alte pressioni potrebbe essere dovuta ad un danneggiamento dei granuli di amido, fenomeno giustificato anche dal concomitante abbassamento della temperatura d'impastamento (indice di un maggior danneggiamento dei granuli di amido che iniziano prima ad assorbire acqua). In ogni caso sono necessarie ulteriori analisi per correlare i fenomeni macroscopici evidenziati all'effettivo effetto del trattamento sui componenti della farina.

## 5 Conclusioni

I risultati ottenuti in questa sperimentazione mostrano come l'applicazione del trattamento ad alte pressioni di omogenizzazione (HPH) sia in grado di modificare significativamente importanti proprietà fisiche e funzionali della farina di ceci, già a partire dalle più basse condizioni testate (30 MPa).

Alcuni parametri hanno mostrato una variazione proporzionale alla pressione applicata (EA/ES, WAI, WHC e  $\Delta H$ ), mentre per altri parametri si assiste ad un andamento a "campana", con il raggiungimento di un valore massimo in seguito a trattamenti a 60 MPa.

La farina di ceci contiene diverse macromolecole, la cui struttura, e di conseguenza le proprietà funzionali, potrebbero essere influenzate dall'applicazione delle alte pressioni (specialmente amido, proteine e fibre), pertanto l'effetto osservato è la risultante delle modificazioni su tutti i componenti presenti.

Sulla base dei dati di letteratura, si può ipotizzare che l'effetto delle alte pressioni di omogeneizzazione porti ad una parziale denaturazione delle proteine, coincidente con un aumento delle proprietà funzionali a loro direttamente correlate (EA/ES, OHC), fino a pressioni inferiori a 60 MPa, mentre per trattamenti più spinti si ottiene una probabile aggregazione delle proteine che ne riduce la possibilità d'interazione.

In secondo luogo, come riportato da altri autori, le alte pressioni di omogenizzazione possono causare un danneggiamento dei granuli di amido e una conseguente facilitazione dell'interazione con acqua, specialmente senza l'applicazione di calore (fenomeno coincidente con l'incremento di WHC ad esempio).

In conclusione, da questa ricerca emerge come l'applicazione di alte pressioni di omogeneizzazione sia una tecnica in grado di indurre delle modifiche nelle proprietà tecnologiche e funzionali della farina. Tuttavia, al momento non risulta possibile attribuire con certezza le cause delle modifiche che si sono registrate. Pertanto, ulteriori approfondimenti sarebbero necessari per comprendere l'effetto su ogni singola componente.

Risultano inoltre necessari ulteriori studi per valutare l'eventuale effetto di altre variabili del trattamento (come la concentrazione e l'applicazione di più passaggi).

## 6 Bibliografia

- Adebowale, K. O., & Lawal, O. S. (2004). Comparative study of the functional properties of bambarra groundnut (Voandzeia subterranean), jack bean (Canavalia ensiformis) and mucuna bean (Mucuna pruriens) flours. *Food Research International*, 37(4), 355–365. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.01.009>
- Balasubramaniam, V. M., Barbosa-Cánovas, G. V., & Lelieveld, H. (2016). *High Pressure Processing of Food: Principles, Technology and Applications*. Springer.
- Bashir, K., & Aggarwal, M. (2016). Effects of gamma irradiation on the physicochemical, thermal and functional properties of chickpea flour. *LWT - Food Science and Technology*, 69, 614–622. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.022>
- Borgacci, R. (2020, marzo 18). *Farina di Ceci*. My personal trainer. <https://www.my-personaltrainer.it/alimentazione/farina-di-ceci.html>
- Cabrera, C., Lloris, F., Giménez, R., Olalla, M., & López, M. C. (2003). Mineral content in legumes and nuts: Contribution to the Spanish dietary intake. *Science of The Total Environment*, 308(1), 1–14. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(02\)00611-3](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00611-3)
- Cappelli, A. (2020). *L'arte della macinazione: Tecniche, effetti sui prodotti e strategie di miglioramento / Alessio Cappelli*. Chirioti Editori. [http://digitocs.unibo.it/orti.php?id=BID\\_7101212](http://digitocs.unibo.it/orti.php?id=BID_7101212)
- Cappelli, A., Oliva, N., & Cini, E. (2020). Stone milling versus roller milling: A systematic review of the effects on wheat flour quality, dough rheology, and bread characteristics. *Trends in Food Science & Technology*, 97, 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.008>
- Cappelli, P., & Vannucchi, V. (2016). *Principi di chimica degli alimenti*. Zanichelli.
- Chavan, J. K., Kadam, S. S., Salunkhe, D. K., & Beuchat, L. R. (1987). Biochemistry and technology of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 25(2), 107–158. <https://doi.org/10.1080/10408398709527449>
- Chung, H.-J., Liu, Q., Hoover, R., Warkentin, T. D., & Vandenberg, B. (2008). In vitro starch digestibility, expected glycemic index, and thermal and pasting properties of flours from pea, lentil and chickpea cultivars. *Food Chemistry*, 111(2), 316–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.062>
- Çiftçi, H., Özkaya, A., Çevrimli, B. S., & Bakoğlu, A. (2010). *Levels of fat-soluble vitamins in some foods*. <http://acikerisim.bingol.edu.tr/handle/20.500.12898/476>
- Comuzzo, P., & Calligaris, S. (2019). Potential Applications of High Pressure Homogenization in Winemaking: A Review. *Beverages*, 5(3), Articolo 3. <https://doi.org/10.3390/beverages5030056>

- Dong, X., Zhao, M., Yang, B., Yang, X., Shi, J., & Jiang, Y. (2011). Effect of High-Pressure Homogenization on the Functional Property of Peanut Protein. *Journal of Food Process Engineering*, 34(6), 2191–2204. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2009.00546.x>
- Du, S., Jiang, H., Yu, X., & Jane, J. (2014). Physicochemical and functional properties of whole legume flour. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.06.001>
- Gani, A., Bashir, M., Wani, S. M., & Masoodi, F. A. (2012). Modification of bean starch by  $\gamma$ -irradiation: Effect on functional and morphological properties. *LWT*, 49(1), 162–169. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.04.028>
- Garske, R. P., Mercali, G. D., Thys, R. C. S., & Cladera-Olivera, F. (2023). Cassava starch and chickpea flour pre-treated by microwave as a substitute for gluten-free bread additives. *Journal of Food Science and Technology*, 60(1), 53–63. <https://doi.org/10.1007/s13197-022-05586-y>
- Huang, Z., Wang, X., Zhang, J., Liu, Y., Zhou, T., Chi, S., & Bi, C. (2022). High-pressure homogenization modified chickpea protein: Rheological properties, thermal properties and microstructure. *Journal of Food Engineering*, 335, 111196. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111196>
- Jaekel, L. Z., Rodrigues, R. da S., & Silva, A. P. da. (2010). Avaliação físico-química e sensorial de bebidas com diferentes proporções de extratos de soja e de arroz. *Food Science and Technology*, 30, 342–348. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612010000200009>
- Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C. L. L., & Chibbar, R. N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): A review. *British Journal of Nutrition*, 108(S1), S11–S26. <https://doi.org/10.1017/S0007114512000797>
- Kaur, M., & Singh, N. (2005). Studies on functional, thermal and pasting properties of flours from different chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chemistry*, 91(3), 403–411. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.015>
- Kaur, R., & Prasad, K. (2021). Technological, processing and nutritional aspects of chickpea (*Cicer arietinum*)—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 448–463. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.044>
- Kihlberg, I., Johansson, L., Kohler, A., & Risvik, E. (2004). Sensory qualities of whole wheat pan bread—Influence of farming system, milling and baking technique. *Journal of Cereal Science*, 39(1), 67–84. [https://doi.org/10.1016/S0733-5210\(03\)00067-5](https://doi.org/10.1016/S0733-5210(03)00067-5)
- Lebiedzińska, A., & Szefer, P. (2006). Vitamins B in grain and cereal–grain food, soy-products and seeds. *Food Chemistry*, 95(1), 116–122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.024>

- Levy, R., Okun, Z., & Shpigelman, A. (2021). High-Pressure Homogenization: Principles and Applications Beyond Microbial Inactivation. *Food Engineering Reviews*, *13*(3), 490–508. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09239-8>
- Liu, T., Ma, Y., Xue, S., & Shi, J. (2012). Modifications of structure and physicochemical properties of maize starch by  $\gamma$ -irradiation treatments. *LWT - Food Science and Technology*, *46*(1), 156–163. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.10.012>
- Ma, Y., Zhang, J., He, J., Xu, Y., & Guo, X. (2023). Effects of high-pressure homogenization on the physicochemical, foaming, and emulsifying properties of chickpea protein. *Food Research International*, *170*, 112986. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112986>
- Maniglia, B. C., Castanha, N., Rojas, M. L., & Augusto, P. E. (2021). Emerging technologies to enhance starch performance. *Current Opinion in Food Science*, *37*, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.09.003>
- Maresca, P., Donsì, F., & Ferrari, G. (2011). Application of a multi-pass high-pressure homogenization treatment for the pasteurization of fruit juices. *Journal of Food Engineering*, *104*(3), 364–372. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.12.030>
- Nikbakht Nasrabadi, M., Sedaghat Doost, A., & Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, *118*, 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
- Nowacka, M., Trusinska, M., Chraniuk, P., Drudi, F., Lukasiewicz, J., Nguyen, N. P., Przybyszewska, A., Pobiega, K., Tappi, S., Tylewicz, U., Rybak, K., & Wiktor, A. (2023). Developments in Plant Proteins Production for Meat and Fish Analogues. *Molecules*, *28*(7), Articolo 7. <https://doi.org/10.3390/molecules28072966>
- Ocampo, B., Robertson, L. D., & Singh, K. B. (1998). Variation in seed protein content in the annual wild Cicer species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *78*(2), 220–224. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199810\)78:2<220::AID-JSFA105>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199810)78:2<220::AID-JSFA105>3.0.CO;2-I)
- Ranalli, P., Parisi, B., & Torricelli, R. (2018). *Cece e lenticchia: Coltivazione, scelta delle cultivar e post-raccolta*. Edagricole.
- Rincon, L., Braz Assunção Botelho, R., & de Alencar, E. R. (2020). Development of novel plant-based milk based on chickpea and coconut. *LWT*, *128*, 109479. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109479>
- Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Vioque, J., Bautista, J., & Millán, F. (1999). Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): Chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chemistry*, *64*(2), 237–243. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00133-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00133-2)

- Saricaoglu, F. T. (2020). Application of high-pressure homogenization (HPH) to modify functional, structural and rheological properties of lentil (*Lens culinaris*) proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, *144*, 760–769. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.11.034>
- Sethi, S., Tyagi, S. K., & Anurag, R. K. (2016). Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: A review. *Journal of Food Science and Technology*, *53*(9), 3408–3423. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2328-3>
- Siddiq, M., Ravi, R., Harte, J. B., & Dolan, K. D. (2010). Physical and functional characteristics of selected dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *LWT - Food Science and Technology*, *43*(2), 232–237. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.07.009>
- Singh, U. (1985). Nutritional quality of chickpea (*Cicer arietinum* L.): Current status and future research needs. *Plant Foods for Human Nutrition*, *35*(4), 339–351. <https://doi.org/10.1007/BF01091779>
- Singh, U., & Singh, B. (1992). Tropical grain legumes as important human foods. *Economic Botany*, *46*(3), 310–321. <https://doi.org/10.1007/BF02866630>
- Singhal, S., Baker, R. D., & Baker, S. S. (2017). A Comparison of the Nutritional Value of Cow's Milk and Nondairy Beverages. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, *64*(5), 799. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000001380>
- Thirumdas, R., Sarangapani, C., & Annapure, U. S. (2015). Cold Plasma: A novel Non-Thermal Technology for Food Processing. *Food Biophysics*, *10*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11483-014-9382-z>
- Tiishetso Maswanganye, G. M., Liu, B., Che, D., & Han, R. (2021). Review: Effects of Dietary Fiber Levels and Composition on the Intestinal Health of Finishing Pigs. *Open Journal of Animal Sciences*, *11*(03), 384–398. <https://doi.org/10.4236/ojas.2021.113028>
- Tosh, S. M., & Yada, S. (2010). Dietary fibres in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. *Food Research International*, *43*(2), 450–460. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.005>
- Tsaknis, J. (1998). Characterisation of *Moringa peregrina* Arabia seed oil. *Grasas y Aceites*, *49*(2), Artículo 2. <https://doi.org/10.3989/gya.1998.v49.i2.717>
- Walker, C. E., & Eustace, W. D. (2016). *Milling and baking: History*.
- Wang, B., Li, D., Wang, L., Liu, Y., & Adhikari, B. (2012). Effect of high-pressure homogenization on microstructure and rheological properties of alkali-treated high-amylose maize starch. *Journal of Food Engineering*, *113*(1), 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.05.021>

- Wani, I. A., Jabeen, M., Geelani, H., Masoodi, F. A., Saba, I., & Muzaffar, S. (2014). Effect of gamma irradiation on physicochemical properties of Indian Horse Chestnut (*Aesculus indica* Colebr.) starch. *Food Hydrocolloids*, *35*, 253–263. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.06.002>
- Wrigley, C. W., Corke, H., & Walker, C. E. (2004). *Encyclopedia of Grain Science*. Academic Press. <http://hub.hku.hk/handle/10722/123194>
- Wu, H., Xiao, D., Lu, J., Jiao, C., Li, S., Lei, Y., Liu, D., Wang, J., Zhang, Z., Liu, Y., Shen, G., & Li, S. (2020). Effect of high-pressure homogenization on microstructure and properties of pomelo peel flour film-forming dispersions and their resultant films. *Food Hydrocolloids*, *102*, 105628. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105628>
- Zhang, J., Liu, L., Liu, H., Yoon, A., Rizvi, S. S. H., & Wang, Q. (2019). Changes in conformation and quality of vegetable protein during texturization process by extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *59*(20), 3267–3280. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1487383>
- Zia-Ul-Haq, M., Ahmad, M., Iqbal, S., & Ali, H. (2007). Characterization and Compositional Studies of Oil from Seeds of Desi Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Cultivars Grown in Pakistan. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *84*, 1143–1148. <https://doi.org/10.1007/s11746-007-1136-3>