UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di agronomia animali alimenti risorse naturali e ambiente

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN SCIENZE E TECNOLOGIE ALIMENTARI

TECNICHE CHIMICO-FISICHE E DI ANALISI D'IMMAGINE NEL CONFRONTO DI PRODOTTI DA FORNO TRATTATI IN ABBATTITORE

Relatrice:

Lomolino Giovanna

Laureando:

Marco Tasinato

Matricola n. 2107660

ANNO ACCADEMICO 2024/2025

INDICE

RIASSUNTO **pg.5**

ABSTRACT **pg.7**

1. INTRODUZIONE **pg.9**

1.1 Cos'è l'abbattitore **pg.9**

1.2 Funzioni e utilizzi dell'abbattitore nelle tecnologie alimentari **pg.10**

2. SCOPO DELLA TESI **pg.13**

3. MATERIALI E METODI **pg.16**

3.1 Analisi del cartellino **pg.16**

3.2 Gascromatografia dello spazio di testa **pg.17**

3.3 TPA analisi della texture **pg.18**

3.4 Test amido-resistenza **pg.19**

3.5 Elettroforesi SDS Page **pg.21**

4. RISULTATI E DISCUSSIONE **pg.22**

4.1 Analisi del cartellino **pg.22**

4.2 Profilo gascromatografico dello spazio di testa degli impasti **pg.24**

4.3 Risultati TPA impasti crudi **pg.29**

4.3.1 Risultati TPA cotto **pg.32**

4.4 Contenuto di amido resistente **pg.34**

4.5 Profilo elettroforetico delle albumine, globuline, gliadine e glutenine **pg.35**

5. CONCLUSIONI **pg.40**

6. BIBLIOGRAFIA **pg.42**

RIASSUNTO

Con questa ricerca si è voluto confrontare due metodi di produzione di panificati dell'azienda Irinox di Pordenone per valutare l'impatto che questi hanno sulle caratteristiche del prodotto finito. In particolare, si è preso in considerazione, come base per valutare l'influenza di questi metodi, l'impasto di farina integrale per la preparazione delle basi per la pizza in teglia alta. Gli ingredienti per la preparazione dell'impasto sono uguali, pertanto si valuta esclusivamente l'impatto dei metodi produttivi. Sono etichettati come standard ed innovativo, il metodo standard consiste in una lievitazione classica a temperatura costante in una camera statica classica, mentre il metodo innovativo consiste nell'utilizzo di un abbattitore/incubatore per la produzione degli impasti. Questo strumento viene utilizzato sia in fase di preparazione che di lievitazione, sia per trattare l'acqua e portarla a temperatura desiderata, sia per mantenere costante la temperatura mettendo l'impasto in questo macchinario dotato di camera ventilata. Questo strumento funziona come un abbattitore, insufflando aria nella camera per mantenerla ad una certa temperatura; tuttavia, una sua peculiarità è data dal fatto che l'aria prima di essere immessa nella camera viene fatta scontrare con una componente metallica dello strumento costituita di una lega di argento. L'azienda e i suoi dipendenti hanno notato delle differenze nel prodotto finito; pertanto, si sono rivolti all'università di Padova e alla professoressa Giovanna Lomolino del dipartimento DAFNAE per indagare più a fondo. La seguente tesi ha considerato i prodotti ottenuti tramite il metodo standard e quello innovativo, che fa utilizzo di questo strumento per andare a verificare se si riscontrano delle differenze tra i due prodotti, procedendo con analisi chimico-fisiche e analisi d'immagine. Si è andati a valutare l'impasto, la farina ed il prodotto cotto e, dato che il nuovo metodo viene impiegato già prima della lievitazione, si è andato a valutare sia le differenze tra gli impasti non lievitati, etichettati come impasto non lievitato standard (STDNL) e impasto non lievitato nuovo (NNL), che tra gli impasti lievitati, standard (STDL) e nuovo (NL). I prodotti cotti sono semplicemente nominati come "Standard" e "New", mentre la farina quando presente è semplicemente indicata come tale.

ABSTRACT

This research aimed to compare two methods of bread production used by the Irinox company in Pordenone in order to assess their impact on the characteristics of the finished product. In particular, whole wheat flour dough used to prepare bases for deep-dish pizza was taken as the basis for assessing the influence of these methods. The ingredients for preparing the dough are the same, so only the impact of the production methods is evaluated. They are labeled as standard and innovative. The standard method consists of classic leavening at a constant temperature in a classic static chamber, while the innovative method consists of using a blast chiller/incubator for dough production. This tool is used both during preparation and leavening, both to treat the water and bring it to the desired temperature, and to maintain a constant temperature by placing the dough in this machine equipped with a ventilated chamber. This instrument works like a blast chiller, blowing air into the chamber to maintain a certain temperature; however, its unique feature is that before being introduced into the chamber, the air is made to collide with a metal component of the instrument made of a silver alloy. The company and its employees noticed differences in the finished product; therefore, they turned to the University of Padua and Professor Giovanna Lomolino of the DAFNAE department to investigate further. The following thesis considered the products obtained using the standard method and the innovative method, which uses this instrument to verify whether there are any differences between the two products, proceeding with chemical-physical and image analyses. The dough, flour, and baked product were evaluated, and since the new method is used before leavening, the differences between unleavened doughs, labeled as standard unleavened dough (STDNL) and new unleavened dough (NNL), and between leavened doughs, standard (STDL) and new (NL), were evaluated. (NL). The baked products are simply referred to as “Standard” and “New,” while the flour, when present, is simply indicated as such.

1. INTRODUZIONE

1.1 Cos'è l'abbattitore

La seguente tesi va a valutare l'impatto dell'utilizzo dell'abbattitore nel processo produttivo di panificati nell'azienda Irinox. L'abbattitore è uno strumento professionale usato nel settore alimentare per raffreddare rapidamente la temperatura dei prodotti, siano essi alimenti cotti che preparati. Questo strumento sfrutta l'aria fredda immessa ad alta velocità, che circola intorno all'alimento accelerando lo scambio termico e limitando l'eventuale formazione di macro-cristalli di ghiaccio se impostato a temperature sottozero. La maggior parte dei modelli sono dotati di sonde che interrompono il ciclo impostato quando la temperatura target è raggiunta al cuore del prodotto, evitando così cicli eccessivamente lunghi o troppo brevi. La struttura degli abbattitori è simile a quella di un frigorifero o forno ventilato, consistendo in una camera di raffreddamento in acciaio inox, un sistema di ventilazione forzata con ventole che fanno circolare l'aria in modo uniforme, un evaporatore e un compressore che, attraverso un circuito di refrigerazione, sottraggono calore agli alimenti e lo espellono all'esterno, e un sistema di isolamento termico con guarnizioni magnetiche che assicurano la tenuta ermetica. Il processo è gestito da un pannello di controllo che permette di scegliere il programma. (Manuale tecnico Coldline S.r.l. 2020) Gli abbattitori presentano in genere due cicli: il ciclo standard "hard blast chilling" un raffreddamento molto rapido e aggressivo, con flussi d'aria fredda forzata a bassa temperatura oppure il "soft blast chilling" che utilizza un raffreddamento più delicato con temperature sopra lo zero per prodotti più delicati. Nella seguente tesi verrà approfondita l'applicazione di quest'ultimo. (Elansari et al. 2014).

1.2 Funzioni e utilizzi dell'abbattitore nelle tecnologie alimentari

L'abbattitore è ampiamente utilizzato nell'industria alimentare e attualmente i suoi principali utilizzi sono i seguenti: sicurezza microbica, mantenimento della qualità organolettica e nutrizionale, vantaggi pratici e normativi, integrazione con il sistema Cook-Chill, ricerca e sviluppo.

A) Sicurezza microbica:

L'utilizzo dell'abbattitore è fondamentale per garantire la sicurezza microbiologica degli alimenti, raffreddando rapidamente gli alimenti cotti da temperature di circa +70 a + 3 entro 90 minuti si riduce drasticamente il tempo trascorso nella zona di pericolo, cioè tra +60 a +4 dove i batteri patogeni proliferano più velocemente. Gli studi dimostrano che, quando le carni vengono raffreddate in un periodo di circa due ore, la crescita della salmonella risulta essere minima, mentre con tempi di raffreddamento estesi fino a sei ore si possono raggiungere concentrazioni di salmonella superiori a dieci volte la carica batterica. (Stern et al. 1985) Inoltre, un altro studio su carcasse di suino ha mostrato che la combinazione di abbassamento della temperatura in abbattitore seguito da una refrigerazione convenzionale provoca una riduzione delle Enterobacteriaceae. (Zdolec et al. 2022) In letteratura è evidenziato come la rapidità di raffreddamento risulta essere un punto critico per i piani HACCP, raggiungere le temperature consigliate dalle linee guida è essenziale per evitare la proliferazione di patogeni. (Elansari et al. 2014) In breve si può dire che l'abbattitore sia uno strumento essenziale dato che permette di controllare dei parametri critici (tempo e temperatura) e di conseguenza limitare la crescita dei patogeni e di rispettare le normative e standard igienico sanitari. (Regolamento (CE) 853/2004)

B) Preservare qualità organolettica e nutrizionale:

L'impiego dell'abbattitore permette di conservare i valori nutrizionali e le qualità organolettiche (sapore, aroma, consistenza e colore), questo perché si sfrutta la riduzione rapida delle temperature all'interno del prodotto; in particolare, nel momento in cui si va a congelare un prodotto, l'utilizzo di metodi di surgelazione rapida come il blast freezing in abbattitore porta alla formazione di microcristalli di ghiaccio. Viceversa, effettuare un congelamento lento porta alla formazione di macro-cristalli di ghiaccio. I microcristalli riducono il danno alla struttura cellulare, preservano il succo interno, mantengono la consistenza originaria e limitano la perdita di liquidi durante lo scongelamento, andando ad impattare e riducendo le perdite di gusto, aroma, colore e proprietà nutritive. Viceversa, se si è effettuato un congelamento lento e si sono formati i macro-cristalli di ghiaccio, si ha un maggiore danno cellulare e una maggiore perdita dal punto di vista nutrizionale e aromatico del prodotto. (Li et al. 2018) Nella letteratura scientifica possiamo trovare diversi esempi

dove l'abbattimento rapido delle temperature porta ad una migliore conservazione delle caratteristiche organolettiche dell'alimento, ad esempio una ricerca sulle carcasse del suino ha messo in evidenza che l'abbattimento rapido delle temperature induce una fuoriuscita di umidità minore e preserva meglio il colore della carne. (Rybarczyk et al. 2015)

C) Vantaggi pratici e normativi:

L'utilizzo dell'abbattitore nelle industrie alimentari porta sicuramente a dei vantaggi pratici, tra cui alcuni già accennati prima, come la sicurezza microbiologica ed alimentare e una migliore qualità organolettica e nutrizionale, ma permette anche una estensione della shelf-life dei prodotti alimentari (Yu et al. 2010) e una riduzione degli sprechi nel momento in cui lo strumento viene utilizzato correttamente, consentendo una maggiore efficienza operativa e organizzativa e permettendo di programmare la produzione e ottimizzare i tempi di lavoro. Inoltre, permette anche di aderire più strettamente alle normative come il Reg. CE 852/2004, che richiede che gli alimenti cotti siano raffreddati il più velocemente possibile. Non richiede strettamente l'abbattitore, ma il suo utilizzo permette un abbattimento rapido della temperatura e di aderire strettamente alla norma.

D) integrazione con il sistema Cook-Chill:

L'abbattitore permette di integrare nelle aziende il sistema Cook–Chill, un metodo di lavorazione alimentare sempre più diffusa, soprattutto nelle industrie e nella ristorazione collettiva. Questa consiste nella cottura degli alimenti e nella successiva refrigerazione a temperatura di +3 °C entro 90 minuti, per poi essere rigenerati all'occorrenza. Questo sistema garantisce sicurezza alimentare, un prolungamento della shelf-life ed una maggiore qualità nei pasti pronti. L'abbattitore non è solo un supporto al Cook–Chill, ma rappresenta il cuore operativo del processo. (Yusoff et al. 2022)

E) Ambito di ricerca e sviluppo:

L'abbattitore termico (blast-freezer o shock-freezer) riveste un ruolo cruciale nell'ambito della ricerca e sviluppo nel settore alimentare, poiché consente di ridurre la temperatura degli alimenti in modo rapido e controllato, garantendo la formazione di microcristalli di ghiaccio e preservando al contempo la struttura cellulare, il colore, l'aroma e il valore nutrizionale. Studi su fragole hanno dimostrato che il congelamento veloce preserva significativamente la qualità sensoriale rispetto ai metodi lenti, (Ergün et al) altri invece valutano la possibilità di utilizzare l'abbattitore a temperature sottozero per raffreddare le carcasse di suino, dove si nota una riduzione della perdita di colore e liquidi strutturali.

(Rybarczyk et al. 2015) Un altro studio ha evidenziato influenze positive date da un abbattimento rapido delle temperature in combinazione con elettrostimolazione per velocizzare il processo di frollatura post mortem. (Mao et al. 2012) Un ultimo articolo valuta l'applicazione dell'abbattitore per surgelare il pane integrale, processo che ha portato ad una maggiore disponibilità di nutrienti, tuttavia, allo stesso tempo si è assistito ad un leggero calo dei parametri organolettici del prodotto (Alekhina et al. 2022)

2. SCOPO DELLA TESI

L'azienda Irinox e l'università di Padova hanno collaborato per lo svolgimento di questa ricerca, che valuta la produzione e diversificazione di prodotti panificati tramite l'utilizzo dell'abbattitore. L'azienda ha sviluppato un abbattitore a cui è stata effettuata una modifica, nello specifico è stato fatto in modo che l'aria fredda venga tagliata da una lamina in lega d'argento prima di essere insufflata nella camera dell'abbattitore per raffreddare velocemente di ciò che è stato inserito al suo interno. Inoltre, questo strumento ha un uso peculiare, perché normalmente gli abbattitori vengono utilizzati per abbattere la temperatura dei prodotti, questo viene fatto per raffreddare e trattare l'acqua usata per la produzione degli impasti ottenuti con il nuovo metodo; tuttavia, l'utilizzo innovativo di questo strumento sta nel mantenere costante la temperatura durante la lievitazione. Quindi nell'elaborato si andrà a confrontare gli impasti non lievitati e lievitati ottenuti con il nuovo metodo di produzione dell'azienda (NNL, NL), i panificati cotti innovativi (New) rispettivamente con gli impasti standard non lievitati (STDNL) e lievitati (STDL) e i panificati cotti non innovativi (Standard) ottenuti senza l'abbattitore innovativo, quindi senza pretrattamento e dell'acqua prima dell'utilizzo e senza l'utilizzo del nuovo abbattitore nella fase di lievitazione, usufruendo della camera di lievitazione precedentemente utilizzata dall'azienda. Per valutare la differenza tra il sistema tradizionale e quello innovativo sono state analizzate le caratteristiche chimiche e fisiche dei prodotti ottenuti con entrambe le metodologie di produzione, seguendo l'intero processo dalla farina al prodotto finito. Le analisi svolte sono le seguenti: l'analisi del cartellino con la quale si è andati a valutare la composizione chimica degli impasti e della farina del prodotto andando a valutare il contenuto di umidità, proteine, lipidi e ceneri; la componente volatile di impasti e farina tramite la gascromatografia, con la quale si è andati a confrontare le molecole volatili presenti nei diversi campioni per valutare somiglianze e differenze; le proprietà fisiche tramite l'analisi TPA (Texture Profile Analysis), la quale è stata effettuata sia sugli impasti che sul prodotto cotto, andando a valutare i loro rispettivi parametri; l'elettroforesi SDS-PAGE per verificare le differenze nei profili delle proteine, in particolare albumine, globuline e le proteine del glutine (gliadine e glutenine) degli impasti nelle farine; il test dell'amido-resistenza effettuato sul prodotto cotto e la farina, per andare a valutare eventuali differenze nel contenuto di amido resistente che possa essere ricollegato alla sensazione di leggerezza che i cuochi della Irinox riportano sul nuovo prodotto. Sui campioni è stata condotta anche l'analisi d'immagine, tuttavia sarà oggetto di discussione di una tesi a parte. Il termine immagine si riferisce comunemente alla rappresentazione visibile o alla forma esteriore di un oggetto percepibile tramite la vista. Se valutata da un punto di vista chimico-fisico si può addurre che la formazione di un'immagine visibile è il risultato della rifrazione della luce riflessa dagli oggetti verso

un punto focale, che nel corpo umano corrisponde alla retina. Proprio tramite questo processo si genera la percezione visibile interpretabile dal cervello. La radiazione elettromagnetica catturata dagli occhi è la principale fonte di informazioni dell'ambiente che ci circonda. Si può dire che la vista è uno dei sensi più importanti ed utilizzati dagli esseri viventi. Compreso il funzionamento dell'apparato visivo umano, viene naturale associare l'occhio ad uno strumento analitico in grado di ricevere lo stimolo, trasmetterlo ed interpretarlo in funzione dei meccanismi psicologici implicati nella rielaborazione cerebrale. (Marilita e Moschos 2014) L'analisi d'immagine sfrutta questo processo fisiologico e lo converte in un metodo analitico in grado di ricavare informazioni dalle fotografie sia nel campo del visibile che non visibile. In questo ambito ci sono diverse metodologie sia per acquisizione che le interpretazioni delle immagini; tuttavia, nel settore alimentare gli obiettivi sono quelli di: monitoraggio dei processi produttivi, automazione tramite sistemi robotizzati per screening e selezione di frutta e verdura, valutazione della qualità degli alimenti e controllo degli effetti dell'invecchiamento. Le tecniche impiegate per ottenere e analizzare le immagini variano in base alla matrice che si vuole considerare e in funzione delle informazioni che si desidera ottenere. (Russ J. C.; "Image Analysis for Food" vol 80) Nel nostro caso, l'analisi delle immagini è stata svolta principalmente su immagini ottenute dal microscopio sem del CEASC dell'università di Padova utilizzando i seguenti programmi: ImageJ, un software open source per l'elaborazione e l'analisi delle immagini dove tramite l'utilizzo di determinate funzioni si è in grado di isolare nell'immagine i granuli di amido ed effettuare un'analisi statistica su alcune parametri come diametro e circonferenza; SAM2 (segment anything model 2) un modello che sfrutta l'AI, su cui sono stati specificati determinati parametri su un algoritmo, in grado di identificare e segmentare le caratteristiche delle immagini. Questo strumento può essere usato sia a scopo accademico che di editing e produzioni video; VIT un altro sistema con intelligenza artificiale che dopo averlo allenato è in grado di riconoscere le particolarità delle immagini per cui è stato addestrato ed è quindi in grado di identificare e separare foto molto simili indistinguibili per l'occhio umano.

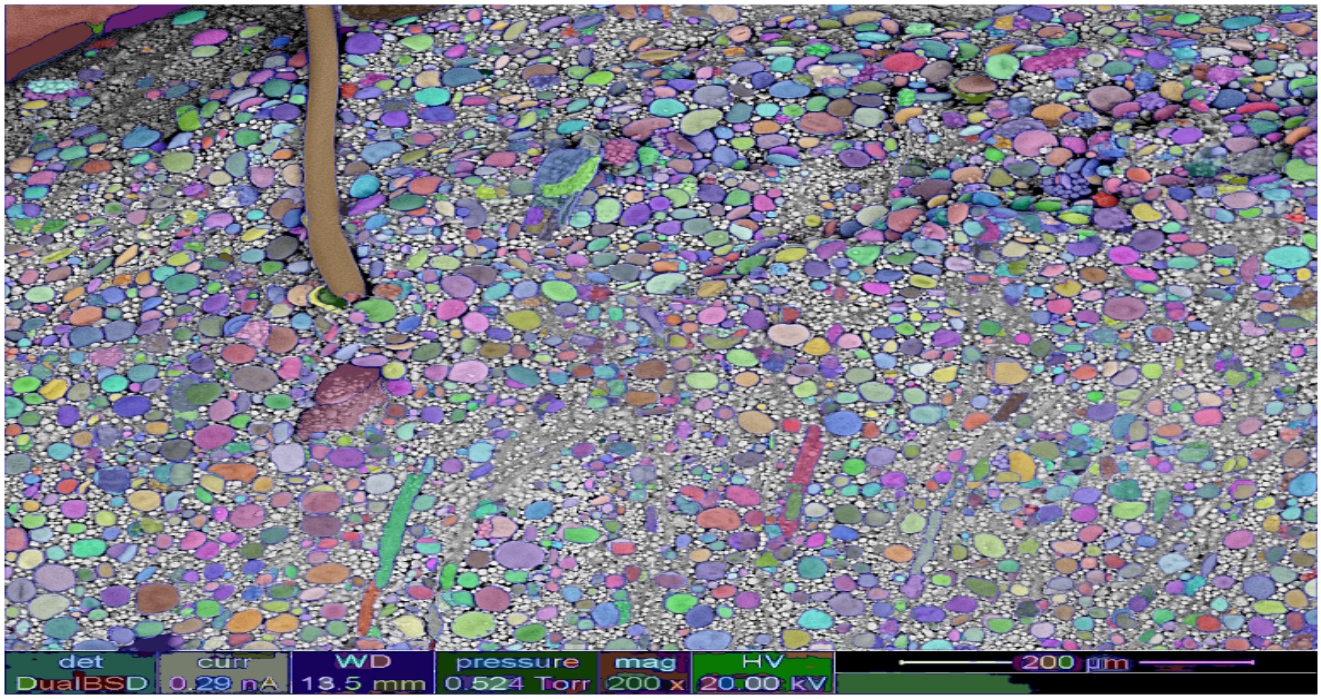


Figura 1: foto ottenuta dal microscopio sem elaborata con il programma SAM2.

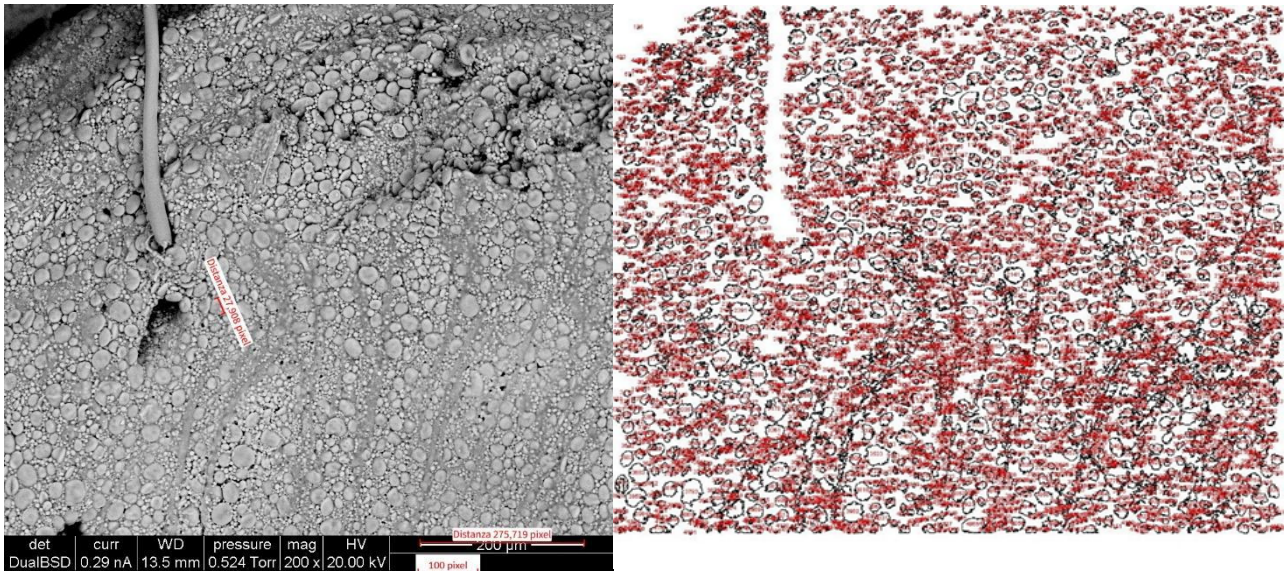


Figura 2: immagine ottenuta dal microscopio sem ed elaborata con il programma ImageJ

3. MATERIALI E METODI

3.1 Analisi del cartellino

Dal punto di vista analitico, la redazione del cartellino nutrizionale di un alimento si basa sull'esecuzione di una serie di analisi chimico-fisiche e nutrizionali di laboratorio. Queste servono a determinare in modo preciso i parametri obbligatori da riportare sull'etichetta. Esse vengono condotte seguendo metodi ufficiali e standardizzati, spesso normati da organismi come ISO o AOAC. Sono state fatte per valutare se il nuovo metodo produttivo influenza il contenuto di macronutrienti (proteine e lipidi), di umidità e ceneri. Le analisi sono state effettuate da un laboratorio esterno e sono le seguenti:

- Determinazione umidità e la sostanza secca: con il metodo AOAC 934.01 (Association of Official Analytical Collaboration) è stato utilizzato per determinare la sostanza secca e umidità dei 5 campioni forniti. È un'analisi che va a determinare il contenuto di umidità, procedendo con una essiccazione a peso costante in forno. (Oxford Academic 22nd Edition)
- percentuale ceneri sul tal quale e sul secco: L'incenerimento consiste nel trattare un campione solido a temperature elevate senza fiamma in modo da causare la decomposizione delle sostanze organiche e parte di quelle inorganiche presenti. In genere si usano temperature tra 450 e 600 gradi Celsius, sufficienti a degradare la maggior parte delle molecole organiche. È stato utilizzato il metodo AOAC 20th 2016 method 942.05. I 5 campioni sono stati mineralizzati a 550 °C per 2 ore per poi essere raffreddati e pesati. (Thiex N et al. 2012)
- estrazione dei lipidi su campione essiccato: per quantificare i lipidi è stata effettuata una estrazione con solvente mettendo a contatto i campioni precedentemente essiccato con una sostanza con esso immiscibile, nella quale però gli analiti, in questo caso i lipidi, siano solubili (materiale Carletti). Si è utilizzato il metodo AOAC 20th 2016 method 2003.05.
- determinazione proteine con metodo kjeldahl su campione essiccato: è stata utilizzata la metodologia AOAC official method 2001.1; il campione viene digerito in un blocco di alluminio a 420 °C in acido solforico concentrato, con l'aggiunta di solfato di potassio e un catalizzatore di rame per accelerare la reazione. Durante la digestione, l'azoto proteico viene convertito in solfato di ammonio. Successivamente, l'ammoniaca liberata viene distillata. L'ammoniaca intrappolata viene titolata e ciò permette poi di calcolare il contenuto di proteine (2019 Edition Official Methods of Analysis).

3.2 Gascromatografia dello spazio di testa

La gascromatografia (GC) è una tecnica analitica utilizzata per separare e analizzare composti che possono essere vaporizzati e quindi diventare volatili. Si basa sui principi della cromatografia, dove sono presenti una fase mobile che ha la funzione di trasportare il campione, in genere un gas inerte come elio, idrogeno o azoto, e una fase stazionaria liquida o solida in grado di interagire in modo più o meno forte con le varie molecole del campione. Queste interazioni portano all'arrivo delle varie componenti del campione al rivelatore separandole le une dalle altre. La separazione si basa su due meccanismi principali: il meccanismo dell'assorbimento, quando la fase stazionaria è solida, e della ripartizione invece quando è liquida. (Chimica analitica strumentale 2° edizione). La gascromatografia è ampiamente utilizzata nell'analisi delle componenti volatili degli alimenti; in letteratura viene utilizzata per valutare sia l'impatto di diverse tecniche di vinificazione (Radeka et al. 2023), ma anche valutare gli aromi differenti che possono essere presenti in diversi pani senza glutine (Pico et al. 2017). Per lo svolgimento della gascromatografia ci si è rivolti a un laboratorio esterno. Anche in questo caso l'analisi è stata svolta su tutti e 5 i campioni i due impasti non lievitati (STDNL e NNL), i due lievitati (STDL, NL) e la farina. Per ogni campione, è stato analizzato il profilo delle molecole volatili presenti nello spazio di testa di ogni campione, al fine di individuare eventuali differenze tra gli impasti standard e quelli che sono stati ottenuti con il metodo di produzione innovativo a livello delle molecole volatili, che quindi possono influenzare l'aroma del prodotto finito. Queste molecole sono il risultato di reazioni chimiche e biochimiche che avvengono all'interno degli impasti. In particolare, la diversa condizione di incubazione dei campioni e di fermentazione determinate dal nuovo metodo produttivo potrebbero essere alla base di eventuali differenze sul profilo volatile degli impasti.

3.3 TPA analisi della texture

È una tecnica strumentale utilizzata per analizzare le caratteristiche meccaniche e sensoriali di un prodotto andando a simulare la masticazione. Questo metodo permette di valutare parametri come durezza, coesione, elasticità, masticabilità e gommosità. Questo test viene effettuato con un analizzatore di texture, che misura la forza per comprimere il campione in due fasi successive, andando a simulare l'attività della mandibola umana. (Brandt et al. 1963) I campioni di impasto lievitati e non lievitati sono stati testati per **durezza** (indica la forza massima necessaria per comprimere un alimento tra due superfici durante la prima compressione e rappresenta l'energia richiesta per superare i legami interni di un alimento); **adesività** (si riferisce alla tendenza dell'impasto a incollarsi alle mani, agli utensili o alla superficie durante la lavorazione; è una proprietà fisica influenzata dalla composizione dell'impasto e dalle condizioni in cui viene preparato. L'adesività viene misurata come forza negativa, viene indicata come curva negativa e corrisponde al lavoro necessario per separare la sonda dal campione); **resilienza** (è la capacità di un materiale di assorbire energia "elasticamente" quando sottoposto a un carico o a un urto, prima di giungere a rottura. È un parametro che misura la capacità di un alimento di recuperare la propria forma originale dopo una compressione o deformazione); **coesività** (rappresenta la capacità di un alimento di mantenere la propria integrità anche dopo essere stato compresso, cioè va a misurare la capacità di un alimento di tenersi insieme durante la seconda compressione, simulando il comportamento del campione dopo il primo morso in bocca). Sono stati riportati i valori medi di 6 repliche. Mentre per i campioni cotti sono stati valutati i parametri di durezza; resilienza; coesività; elasticità; **fratturabilità** (rappresenta la forza necessaria per indurre la prima rottura significativa durante la compressione del campione, utile per descrivere prodotti con consistenza fragile o croccante. Durante il test di TPA il campione viene compresso due volte ed il primo picco significativo, prima del massimo della durezza, corrisponde alla fratturabilità ed indica la forza in cui il campione si rompe); (Trinh et al. 2012) e **masticabilità** (: rappresenta l'energia necessaria per masticare un alimento per renderlo adatto alla deglutizione. È calcolata come prodotto tra gommosità ed elasticità). (Trinh et al. 2012) Valutati in tre tempi diversi: 2, 5 e 10 minuti dal raffreddamento. Per condurre le seguenti analisi è stato usato un analizzatore di profili di consistenza (TPA) TA.XT 2i (Stable Micro System Co. Ltd., Surrey, Inghilterra), dotato di una cella di carico da 5 kg. I parametri utilizzati per condurre i test sono i seguenti: Velocità pre-test: 2,0 mm/s; Velocità della traversa: 1,0 mm/s; Velocità post-test: 10,0 mm/s; Distanza di prova di rottura: 1%; Distanza: 50% per 5,00 s.

3.4 Test amido-resistenza

L'analisi dell'"amido resistente" (resistant starch, RS) misura la quota di amido in un alimento che non viene assimilato nell'intestino tenue, raggiungendo invece il colon in forma integra, dove può essere fermentato dai batteri intestinali. Questo amido ha un comportamento analogo a quello delle fibre alimentari. Il metodo determina la porzione di amido che resiste all'azione degli enzimi digestivi in una prova che simula la digestione umana, con particolare riferimento alla fase gastrica e all'intestino tenue. I risultati sono generalmente riportati in grammi per 100 grammi di prodotto o di farina/impasto. L'analisi è stata svolta su 3 campioni ovvero l'impasto innovativo cotto (Nuovo), l'impasto standard cotto (Standard) e il campione di farina. Per ogni campione sono state effettuate 6 ripetizioni e l'analisi è stata ripetuta 3 volte. Questa analisi è stata svolta dato che i cuochi e dipendenti dell'azienda Irinox sostenevano che il prodotto innovativo fosse "più digeribile e leggero" rispetto al prodotto standard, per questo si è andati a vedere il contenuto di amido resistente. Il valore dell'amido resistente è correlato alla digeribilità: un contenuto elevato di amido resistente ci va ad indicare che una parte degli amidi presenti nel nostro campione non viene facilmente digerita a livello dell'intestino tenue. Un elevato contenuto di amido resistente comporta una riduzione del carico glicemico dell'alimento, questo perché c'è meno glucosio che viene assorbito rapidamente nel prodotto alimentare. In letteratura vi sono diversi studi che associano prodotti più ricchi di amido resistente ad un ridotto carico glicemico, come il seguente che va ad effettuare un confronto tra prodotti integrali e raffinati (Sanders et al. 2023). Tuttavia, un elevato contenuto di amido resistente può avere delle ripercussioni dato che lo stesso è fermentabile nel colon e può aumentare la produzione di gas, causando gonfiore nelle persone più sensibili. Ad un aumento del contenuto di amido resistente (RS), si ha una conseguente minore digeribilità enzimatica, ma allo stesso tempo possono emergere dei benefici metabolici, come una glicemia più stabile ed un effetto prebiotico (Sanders et al. 2023). Vi sono diversi fattori che possono andare ad influenzare la presenza di amido resistente negli impasti: il primo sicuramente è il tipo di farina che viene utilizzata, farine integrali, di legumi o di cereali ricchi di fibra vanno ad influenzare il contenuto di amido resistente (Banu et al.2020); anche i processi tecnologici come il raffreddamento post-cottura ed eventuali applicazioni di tecniche innovative possono influenzare il contenuto (Alsaffar et al.2011); i tempi di lievitazioni sono un altro fattore (Terrazas et al.2024); Infine, anche il tipo e la durata della cottura possono avere un impatto sul contenuto di amido resistente (Amaral et al. 2016). In sintesi, il test dell'amido resistente non offre una valutazione completa della digeribilità dell'impasto, ma rappresenta un valido indicatore della frazione non digeribile a livello intestinale. È particolarmente utile per valutare l'impatto glicemico e le potenziali proprietà prebiotiche del prodotto. A noi in questo caso interessa andare a verificare se l'utilizzo da parte della azienda dell'innovativo incubatore/abbattitore durante

la fase di preparazione e lievitazione dell'impasto ha un impatto sul contenuto finale di amido resistente sul prodotto cotto andandolo a confrontare con il prodotto standard. Il Kit utilizzato è Megazyme "resistant starch", dove si è applicato il metodo AOAC method 2002.02; durante il processo sono stati utilizzati i reagenti del kit: amiloglucosidasi, α-amilasi pancreatica, tampone reagente GOPOD, enzimi reagenti GOPOD, soluzione standard di D-glucosio, controllo dell'amido resistente; reagenti non presenti nel kit: tampone maleato di sodio (100 mM, pH 6,0), tampone acetato di sodio (1,2 M, pH 3,8), tampone acetato di sodio (100 mM, pH 4,5), soluzione di idrossido di potassio (2 M), etanolo diluito al 50%; attrezzatura utilizzata: centrifuga, spettrofotometro, bagno termostatico da laboratorio. L'intero processo ha seguito la procedura del metodo AOAC method 2002.02 che può essere visualizzata in forma completa al seguente link: https://tms-lab.com/product/megazyme-resistant-starch-assay.

Figura 3: foto del kit Megazyme "resistant starch" utilizzato per l'analisi dell'amido resistenza.

Figura 4: foto del libretto contenuto nel kit che contiene la metodica applicata durante l'analisi per valutare l'amido resistenza.

3.5 Elettroforesi SDS Page

L'SDS-PAGE è una tecnica analitica utilizzata per separare le proteine in base al loro peso molecolare. Questo metodo combina l'effetto denaturante del detergente anionico SDS (sodio-dodecil solfato) con la separazione che si ha con il gel di poliacrilamide. L'SDS denatura le proteine e si lega alle catene polipeptidiche in un rapporto costante, conferendo una carica negativa e fornendo lo stesso rapporto carica-dimensione. Il gel di poliacrilamide funge da matrice porosa e, avendo lo stesso rapporto carica-dimensione, le proteine verranno separate in base alle dimensioni. Nella SDS-PAGE sono presenti due gel: il primo che è lo Stacking gel, che presenta pori più ampi e un pH di 6,8 nella parte superiore che allinea i campioni sfruttando tre sostanze, il TRIS, un tampone che rende stabile il pH, gli ioni cloro, che sono la sostanza con la mobilità elettroforetica più alta, e la glicina, che a pH 6,8 si trova in forma negativa solo al 1% e presenta la mobilità elettroforetica più bassa. In questo modo le proteine sono compattate tra queste due sostanze e avranno la stessa linea di partenza, mentre il Running gel, con pori più stretti sotto il precedente, che separa le proteine in base al loro peso molecolare. Una volta effettuata la corsa elettroforetica bisogna rilevare le proteine; perciò, si usano dei coloranti come blu di Coomassie (materiale Carletti). La SDS-PAGE è da lungo utilizzata per analizzare le proteine delle farine dei panificati e individuare le influenze che hanno su di esse i diversi trattamenti tecnologici, come le diverse condizioni di cottura (Schirmer et al. 2023); nel nostro caso vogliamo individuare possibili influenze del trattamento tecnologico innovativo che fa utilizzo dell'incubatore/abbattitore durante la produzione degli impasti. Queste analisi sono state svolte su 5 campioni, i due impasti non lievitati STDNL, NNL, i due impasti lievitati STDL, NL e sulla farina. Con queste analisi si è andato a valutare il profilo proteico delle albumine, globuline, gliadine e glutenine. Le analisi elettroforetiche sono state eseguite sostanzialmente secondo il metodo di Laemmli (1970), in assenza di Beta-mercaptoetanolo. I campioni sono stati diluiti in un tampone di caricamento contenente 15% (v/v) glicerolo e 1.5 % (p/v) SDS in Tris-HCl pH 6.8 e scaldati a 100 °C per 5 minuti prima dell'analisi. Sono stati preparati gel (1.5 mm di spessore) con T=18% (acrilammide-N,N'metilen-bisacrilammide 29:1) (Fluka), utilizzando l'apparato Mini-Protean III (Bio-Rad). Sono stati usati come standard di peso molecolare gli SDS-PAGE Molecular weight Standards Broad Range (Bio-Rad). Le corse venivano condotte con un tampone di corsa costituito da 25 mM Tris, 192 mM glicina e 0.1% (p/v) SDS, ad amperaggio costante (25 mA) e terminavano quando il fronte di migrazione, visualizzato con blu di bromofenolo, raggiungeva la base del gel. I gel sono stati poi colorati alternativamente con Coomassie (per proteine totali).

4. RISULTATI E DISCUSSIONE

4.1 Analisi cartellino

A) Determinazione umidità e sostanza secca:

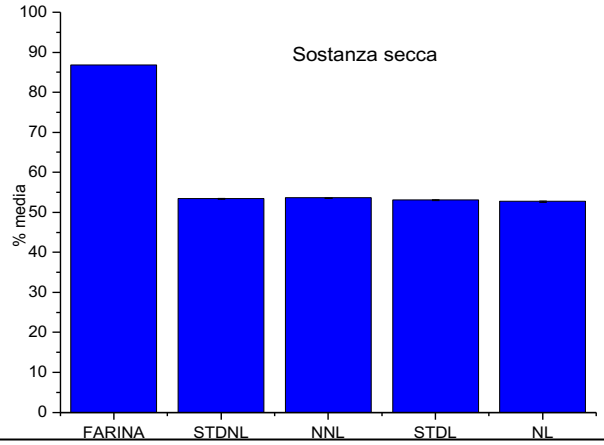


Grafico numero 1: percentuali di sostanza secca nei 5 campioni

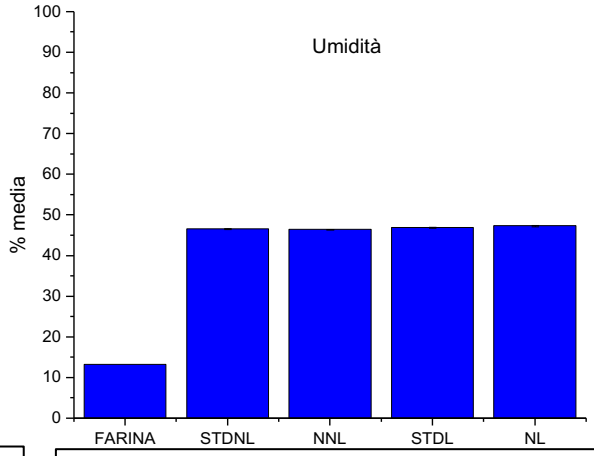


Grafico 2: percentuali di umidità dei 5 campioni.

Legenda sigle: STDNL (impasto standard non lievitato), NNL (impasto nuovo non lievitato), STDL (impasto standard lievitato), NL (impasto nuovo lievitato).

Dal grafico della sostanza secca si può leggere che la farina presenta il valore di sostanza secca più alto pari a circa 87%, mentre per quanto riguarda i campioni lievitati e non lievitati questo parametro non varia. Il grafico relativo può essere letto in maniera complementare rispetto alla sostanza secca; infatti, la farina presenta il valore più basso (13%), i campioni degli impasti presentano un valore più elevato di umidità costante in tutti gli impasti. Quindi, a parità di peso, i campioni lievitati e non, sottoposti ad incubazione standard e innovativa, non subiscono variazioni di sorta in termine di sostanza secca ed umidità.

B) Percentuali delle ceneri sul tal quale e sul secco:

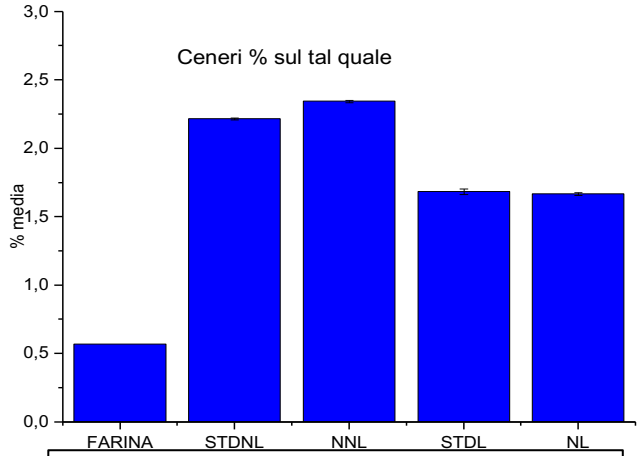


Grafico 3: % delle ceneri sul tal quale

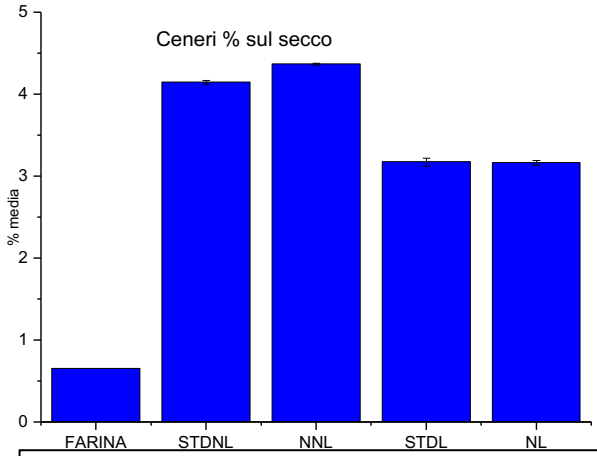


Grafico 4: % di ceneri sui campioni essiccati.

la farina presenta un contenuto di ceneri piuttosto basso; infatti, dai grafici si può notare che presenta un contenuto di ceneri di 0,55% sul tal quale, mentre nel secco è del 0,65%. Inoltre, si può dedurre che i campioni NNL (impasto nuovo non lievitato) presentano un contenuto di ceneri maggiore rispetto al non lievitato standard (STDNL). Tuttavia, una volta avvenuta la lievitazione i campioni STDL e NL quindi gli impasti lievitati non presentano differenze significative nel contenuto delle ceneri. Questo ci indica che con la lievitazione la nuova tecnologia non vada a modificare gli impasti sul contenuto delle ceneri.

C) Lipidi su campione essiccato:

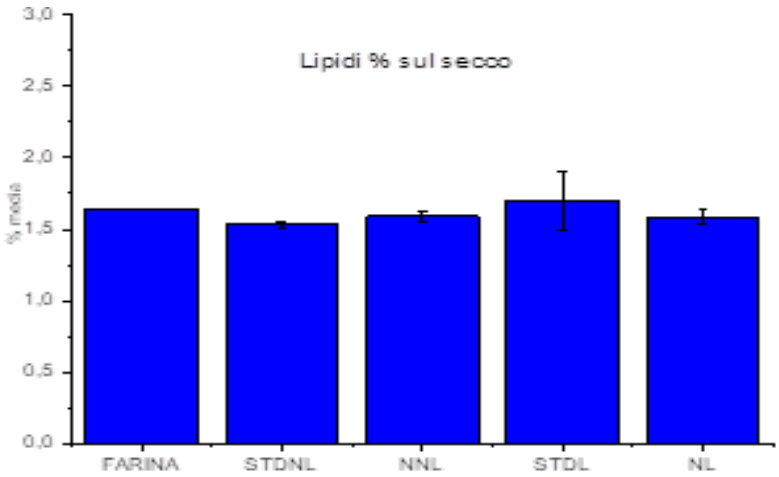


Grafico numero 5: su questo grafico sono indicate le percentuali di lipidi sul secco.

In seguito alla quantificazione delle percentuali dei lipidi sui campioni essiccati non si notano differenze tra i 5 campioni, infatti, sia per la farina che per i vari impasti sia lievitati che non lievitati la percentuale di grassi si attesta su tutti attorno al 1,6%.

D) Contenuto proteine su campione essiccato:

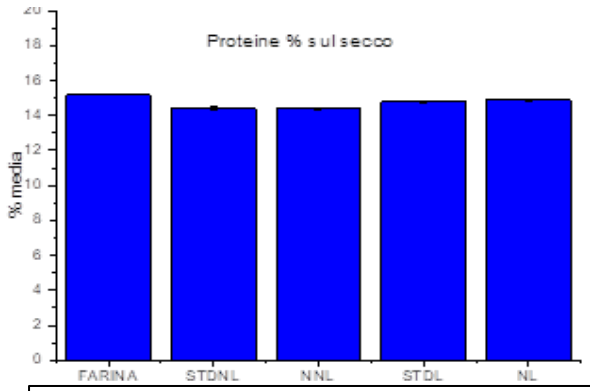


Grafico 6: percentuali di proteine sul prodotto essiccato.

Dai risultati ottenuti, dopo aver quantificato la frazione proteica sul prodotto essiccato, non si individuano differenze sostanziali tra le 4 tipologie di impasto presenti sia sugli impasti lievitati che i non lievitati. Infatti, i valori di contenuto proteico sono compresi tra il 14% e il 15%. Tra i campioni ad avere la percentuale più alta a livello di contenuto proteico è la farina.

4.2 Profilo gascromatografico dello spazio di testa degli impasti

	STD L	NL	STDN L	NNL	farina
	Area	Area	Area	Area	Area
Acetone	0,11	0,10	1,19	0,16	0,88
Propanal, 2-methyl-	0,31	0,24	2,39	0,64	0,49
Ethyl Acetate	4,03	4,17	3,85	1,57	1,28
1-Propanol, 2-methyl-	3,15	3,43	8,38	6,70	1,28
Acetic acid	2,97	2,56	6,99	1,44	2,24
Butanal, 3-methyl-	0,45	0,35	0,39	0,18	0,31
Butanal, 2-methyl-	0,63	0,55	0,24	0,29	0,76
2-Propanone, 1-hydroxy-	0,20	0,24	3,44	0,06	7,64
2-Pentanone	0,02	0,05	1,17	0,19	1,95
Heptane	0,17	0,17	0,37	0,85	0,76
1,2-Propanediol	8,48	6,48	3,77	0,22	3,17
2-Butanone, 3-hydroxy-	6,29	2,58	3,77	2,71	3,17
1-Butanol, 3-methyl-	32,62	49,31	33,17	33,21	0,95
1-Butanol, 2-methyl-	7,60	12,14	6,33	5,83	0,21
Toluene	0,89	0,15	0,62	0,24	4,05
1-Pentanol	0,11	0,21	0,34	1,21	0,89
2,3-Butanediol	0,11	1,14	0,01	0,02	0,05
Hexanal	0,15	0,23	1,10	0,74	4,33
3-Furaldehyde	5,91	0,36	3,35	0,65	0,16
Ethylbenzene	3,63	0,50	2,68	12,39	22,22
Benzene, 1,3-dimethyl-	10,27	0,72	2,33	6,98	18,59
1-Hexanol	4,85	8,55	6,60	12,42	2,37

1-Butanol, 3-methyl-, acetate	0,09	0,17	5,90	6,22	0,77
p-Xylene	2,50	0,24	0,79	1,73	5,79
Ethanol, 2-butoxy-	0,26	0,19		0,52	1,07
Benzaldehyde	0,68	0,06		0,09	0,21
1-Hexanol, 4-methyl-	0,24	0,79	0,03	0,47	0,29
1-Octen-3-ol	0,44	0,52	0,57	0,90	6,58
Pentanoic acid	0,47	0,08		0,23	0,53
Benzene, 1,2,3-trimethyl-	0,23	0,10	0,07	0,12	1,42
Cyclohexene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)-	0,13	0,13	0,03	0,09	0,31
D-Limonene	0,17	0,11	0,06	0,11	2,72
Acetophenone	0,27	0,01		0,03	0,11
Nonanal	0,22	0,08		0,03	1,97
Hexanoic acid, 2-ethyl-	0,22	0,01		0,09	0,23
Phenylethyl Alcohol	0,17	2,64	0,02	0,41	0,00
Acetic acid, phenylmethyl ester	0,09	0,02		0,03	0,10
Octanoic Acid	0,18	0,13		0,01	0,04
Octanoic acid, ethyl ester	0,34	0,47		0,13	0,03
Decanal	0,09	0,00		0,01	0,02
Nonanoic acid	0,20		0,06	0,04	0,06
Benzophenone	0,06				
SOMMA	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**	**100,00**

Tabella numero 1: profilo delle molecole volatili degli impasti. In rosso sono evidenziate le differenze tra i profili aromatici degli impasti lievitati, in verde le differenze tra i profili aromatici degli impasti non lievitati. La tabella riporta i valori percentuali relativi alle aree dei picchi del gascromatogramma.

La tabella numero 2 mette in evidenza che ci sono delle differenze tra gli impasti ottenuti con il metodo tradizionale e il metodo innovativo. Non solo: ci dà anche indicazioni sul fatto che la differenza è presente sia sul confronto tra gli impasti ancora da lievitare (STDNL, NNL) evidenziate in verde, proseguendo poi anche sugli impasti lievitati (STDL, NL) indicate in rosso. Le percentuali presenti tra i vari composti variano in funzione della lievitazione; infatti, alcune molecole presenti nell'impasto non lievitato svaniscono nell'impasto lievitato, mentre all'inverso si formano anche delle molecole nuove che non sono presenti nell'impasto non lievitato. Un esempio di questo fenomeno è la presenza di queste sostanze (Acetic acid, phenylmethyl ester, Octanoic Acid, ethyl ester, Decanal) nel campione STDL, mentre sono assenti nel STDNL. Ciò indica che queste molecole volatili si sono venute a formare durante il processo di fermentazione. Il cambiamento del profilo delle molecole volatili nello spazio di testa durante la lievitazione può essere trovato in vari articoli

scientifici come in questo studio in cui si è andato a vedere il cambiamento di tale profilo durante tutte le fasi del processo di lievitazione dell'impasto (Nakamura et al. 2018).

- Confronto STDNL e NNL: le componenti volatili degli impasti non lievitati evidenziate in verde nella tabella presentano notevoli differenze. Osservando la tabella si nota che a livello del profilo volatile si hanno ben 31 valori che differiscono tra gli impasti non lievitati standard e i non lievitati ottenuti con la nuova tecnologia produttiva. Tra queste molecole volatili ci sono anche molecole che prima erano assenti nell'impasto tradizionale e sono presenti solo ed esclusivamente nell'impasto innovativo tra queste troviamo Ethanol, 2-butoxy, Benzaldehyde, Pentanoic acid, Acetophenone, Nonanal, Hexanoic acid, 2-ethyl-, Acetic acid, phenylmethyl ester, Octanoic Acid, Octanoic acid, ethyl ester e il Decanal. Tra queste molecole volatili che sono presenti esclusivamente sull'impasto nuovo quelle che spiccano di più in termini di quantità sono: Ethanol, 2-butoxy che da essere assente passa a 0,52% il quale dà un odore che viene descritto come dolce etereo; Pentanoic acid che da non essere presente passa ad uno 0,23% nel nuovo impasto, portatrice di un odore pungente e sgradevole; Octanoic acid, ethyl ester che passa da l'assenza ad una presenza nel nuovo impasto non lievitato dello 0,13% e conferisce un odore fruttato e floreale. Al di là delle componenti volatili che sono presenti esclusivamente nell'impasto ottenuto, con la nuova tecnica produttiva ci sono anche notevoli differenze nelle concentrazioni delle molecole volatili che sono presenti in entrambi gli impasti non lievitati. Le differenze più evidenti si hanno sulle seguenti molecole: l'Ethylbenzene che da un 2,68% sullo STDNL passa ad un 12,39% sul NNL aumentando più di 4 volte e assumendo una percentuale di spicco nel totale delle molecole volatili nello spazio di testa, questa molecola conferisce un odore dolciastro. 1-Hexanol, molecola che conferisce un odore di erba appena tagliata, il quale da un valore del 6,60% nello standard non lievitato ad un 12,42% nel nuovo impasto non lievitato. Benzene, 1,3-dimethyl- molecola volatile che conferisce un leggero odore dolce che passa da un 2,33% ad un 6,98%. Ci sono anche molecole che calano dall'impasto STDNL a NNL come: Acetic acid che conferisce un odore di aceto che cala da 6,99% a 1,44%. Il 2-Propanone, 1-hydroxy- conosciuto anche come hydroxyacetone, che conferisce un sentore pungente dolce-caramelloso ed etereo all'olfatto, cala da 3,44% al 0,06% dallo standard al nuovo. L'acetone cala da 1,19% a 0,16% che conferisce note olfattive pungenti, dolciastre ed eteree. Questi sono solo alcuni dei cambiamenti principali che avvengono a livello dei profili volatili dei due impasti lievitati; infatti, dalla tabella si osservano molte altre molecole volatili che subiscono dei cambiamenti significativi tra impasto non lievitato standard e l'impasto non lievitato innovativo. Questo ci permette di poter affermare che i profili volatili dei due impasti sono

diversi ed essendo partiti dalle stesse materie prime si può affermare che è stata causata dall'utilizzo dell'abbattitore/incubatore innovativo in condizione ventilata nella preparazione del nuovo impasto non lievitato.

- Confronto STDL e NL: le componenti volatili degli impasti lievitati sono indicate nella parte destra della tabella numero 2 e le differenze l'impasto lievitato standard STDL e l'impasto lievitato innovativo NL sono evidenziate in rosso. Dalla tabella si osserva che le differenze significative a livello delle molecole che vanno a costituire le componenti volatili degli impasti lievitati sono 26. In questo caso si nota un fenomeno opposto a quello di prima negli impasti non lievitati; infatti, qui si può vedere che ci sono delle molecole volatili che sono presenti negli impasti lievitati standard ma non lo sono negli impasti lievitati innovativi. Queste molecole sono: Decanal, un'aldeide che conferisce un aroma floreale e fruttato la quale è presente in piccole quantità nell'impasto STDL 0,09% ma assente nel NL; il Nonanoic acid, il quale è presente nel lievitato standard con un valore del 0,20% e assente nel nuovo lievitato, questa molecola conferisce un sentore sgradevole di rancido. Il Benzophenone che conferisce note floreali, in particolare di rosa che passa da 0,06% ad essere assente. C'è anche una variabilità tra le molecole volatili che sono presenti in entrambi gli impasti lievitati (STDL) e (NL), si ha un incremento di alcune molecole volatili nell'impasto lievitato ottenuto con il nuovo metodo rispetto alla lievitazione standard.
  Tra queste, gli aumenti che spiccano di più sono dati da queste molecole aromatiche: 1-Butanol, 3-methyl- conosciuto anche come iso-butanolo, che conferisce un odore di alcol, questa molecola volatile subisce un incremento dal 32,62% dell'impasto lievitato standard ad un 49,31% del nuovo impasto lievitato. L' 1-Butanol, 2-methyl-, molecola che anch'essa conferisce un sentore alcolico, subisce un incremento da 7,60 % a 12,14% da impasto STDL a NL; anche la concentrazione dell'1-Hexanol aumenta da 4,85% a 8,55%, questa molecola volatile presenta invece sensazioni odorose dolci, oleose ed erbacee. Dalla tabella numero 2 si nota anche che numerose sostanze volatili hanno avuto un decremento dall'impasto lievitato standard e l'impasto lievitato innovativo. Tra queste, quelle che hanno avuto un calo più significativo sono: Benzene, 1,3-dimethyl- che presenta un odore di solvente e dolciastro, il quale è presente in quantità elevate nell'impasto STDL mentre nell'innovativo subisce un calo drastico 10,27% a 0,72%; 2-Butanone, 3-hydroxy- molecola che cala dal 6,29% nell'impasto lievitato standard a 2,58% nell'impasto lievitato innovativo, questa molecola volatile dà sensazioni dolciastre e burrose; il 3-Furaldehyde che presenta note odorose dolciastre, speziate e legnose, subisce un calo da 5,91% a 0,36%. Oltre a queste variazioni che sono state

prese ad esempio tra la composizione delle molecole volatili nello spazio di testa dei due impasti lievitati standard ed innovativo, sono presenti altre numerose differenze che possono essere osservate nella tabella due nella parte sinistra, evidenziate in rosso. Alla luce di ciò si può affermare che il profilo delle molecole volatili degli impasti lievitati sono differenti, differenza verosimilmente causata dall' utilizzo
della nuova tecnologia dell'incubatore/abbattitore da parte dell'azienda nella fase di lievitazione. Nella letteratura scientifica sono presenti diversi lavori che indicano come il cambiamento delle condizioni di lievitazione dei lieviti porti ad un cambiamento delle componenti volatili nello spazio di testa. Per esempio, c'è stato uno studio su come le diverse temperature di lievitazione influenzano la componente volatile della crosta di pane integrale (Izzreen et al. 2016); non solo le temperature, ma anche ingredienti e lieviti scelti possono influenzare le componenti volatili dello spazio di testa durante il processo di panificazione (Makhoul et al. 2015). Quindi è possibile affermare che le diverse condizioni di fermentazione hanno avuto un ruolo importante nell'ottenere degli impasti lievitati con un profilo volatile nello spazio di testa differente.

In conclusione, osservando il profilo delle molecole volatili presenti nello spazio di testa, si può affermare che le tesi differiscono tra di loro sia prima che dopo la fermentazione. Infatti, il profilo è estremamente diverso, sia nel confronto tra i due impasti STDNL e NNL, sia nel confronto del profilo volatile dei due impasti lievitati STDL e NL. Questo ci indica che l'applicazione della nuova tecnologia dell'azienda, cioè l'incubatore/abbattitore che vengono utilizzati nella fase produttiva dell'impasto sia prima che durante la fase di lievitazione, comporta un cambiamento delle molecole volatili presenti nello spazio di testa degli impasti, portando ad una differenziazione marcata tra i profili ottenuti con gli impasti tradizionali e quelli che sfruttano questa tecnologia nonostante gli impasti siano ottenuti a partire dalle stesse materie prime e con proporzioni di ingredienti uguali gli uni agli altri.

4.3 Risultati TPA impasti crudi

A) Durezza

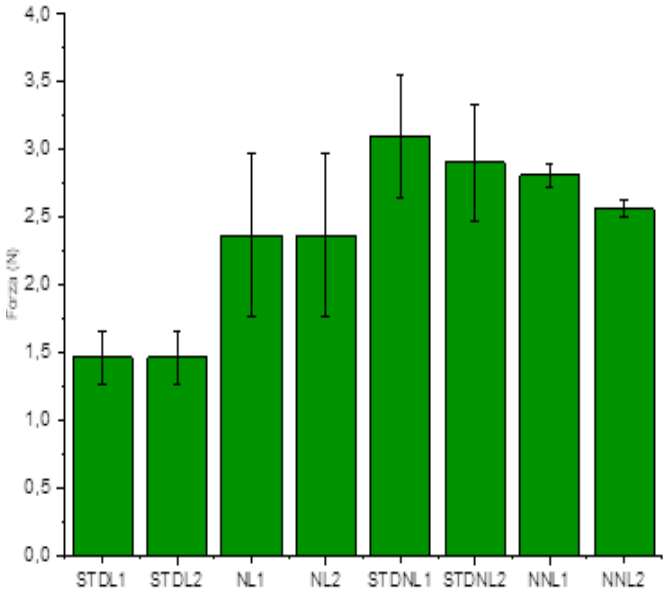


Grafico numero 7: Il grafico riporta i valori della durezza dei campioni; per ogni campione vengono indicati due valori che rappresentano i due picchi dell'analisi (1 e 2).

Dal grafico numero 7 si evince che tra i prodotti lievitati c'è una differenza significativa; infatti, si nota che gli impasti lievitati tradizionali (STDL) presentano valori statisticamente più bassi rispetto agli impasti lievitati innovativi (NL). Il grafico mette in evidenza che gli impasti NL ottenuti con il nuovo metodo produttivo che fa uso dell'abbattitore/incubatore necessitano di una forza maggiore per comprimerli. Viceversa, gli impasti non lievitati quindi i campioni (STDNL) e (NNL) non presentano differenze significative tra di loro. Si può presumere che i campioni non lievitati presentano un valore di durezza superiore perché sono più compatti e senza CO2 che viene prodotta durante la fase di lievitazione dell'impasto. Questo fenomeno è stato studiato già in diversi studi dove si valuta il cambio di parametri di texture e durezza in dei panificati in funzione del tempo di fermentazione (Terrazas-Avila et al. 2024).

B) Coesività

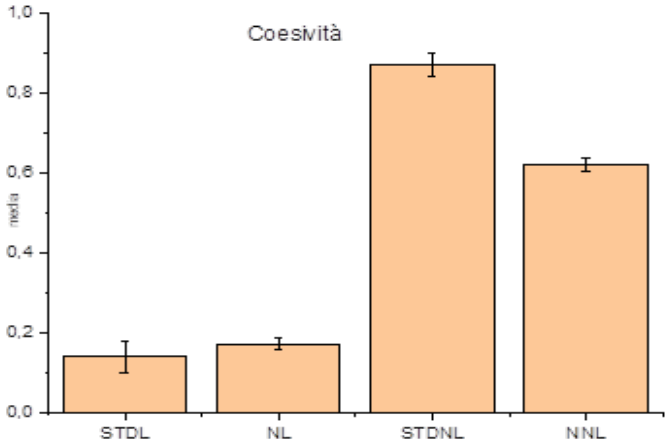


Grafico numero 8: mette in evidenza i valori medi della coesività dei vari impasti.

Dal grafico numero 8 si può osservare come variano i valori della coesività in base ai campioni. Si capisce che nei campioni non lievitati si ha una coesività più elevata rispetto ai lievitati, deducendo ragionevolmente che sia dovuto dalla presenza di CO2 negli impasti lievitati che va ad espandere la matrice dell'impasto e rende meno rigide le forze interne all'impasto. Confrontando tra di loro i due impasti non lievitati si nota che presentano differenze significative: il campione non lievitato standard (STDNL) presenta una coesività maggiore rispetto all'impasto non lievitato ottenuto con la tecnica produttiva innovativa (NNL), viceversa se si va ad effettuare un confronto tra i due impasti lievitati non si palesano differenze statisticamente significative.

C) Resilienza

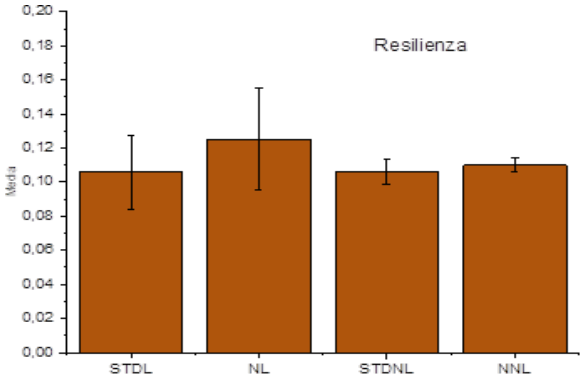


Grafico 9: nel grafico soprastante sono illustrate le medie e le deviazioni standard dei valori della resilienza per i vari campioni di impasto.

Osservando il grafico numero 9, si nota che non sono presenti differenze rilevanti tra i campioni che sono oggetto di studio né tra i campioni non lievitati (STDNL e NNL) né tra i campioni lievitati

(STDL e NL). L'unica cosa che può essere osservata da questo grafico è un'elevata variabilità tra i campioni lievitati sia standard che innovativi (STDL e NL) che è messa in evidenza da un elevata deviazione standard espressa nel grafico. Questo potrebbe essere dovuto al comportamento dei campioni lievitati, dato che sono ricchi di CO2 e presentano una certa eterogeneità nella struttura.

D) Adesività

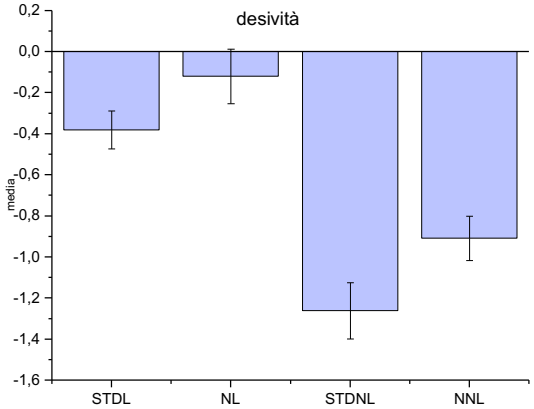


Grafico numero 10: nel grafico soprastante sono illustrate le medie negative e le deviazioni standard dei valori della adesività per i vari campioni di impasto.

Osservando il grafico numero 10 si possono notare diverse differenze, innanzitutto i campioni lievitati sia innovativi che ottenuti con il metodo standard (NL e STDL) risultano essere meno adesivi delle loro rispettive parti non lievitate (STDNL e NNL). Dopo di che andando a confrontare tra di loro i due campioni di impasto lievitato tra di loro si nota che esiste una differenza significativa in particolare si nota che il campione innovativo (NL) risulta essere meno coesivo e adesivo rispetto al campione lievitato standard (STDL). Andando a confrontare tra di loro i due campioni non lievitati (STDNL e NNL), essi presentano dei comportamenti significativamente diversi, in particolare anche in questo caso si ripete la situazione precedente in cui l'impasto non lievitato innovativo risulta essere meno adesivo dello standard. Osservando questa tendenza si nota che il campione innovativo sia prima che dopo la lievitazione risulta essere meno adesivo ed elastico rispetto al corrispettivo impasto standard.

4.3.1 Risultati TPA impasti cotti

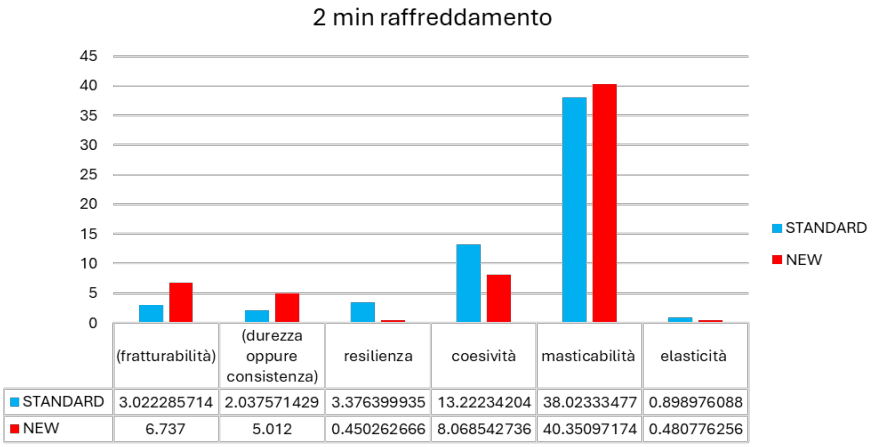


Grafico numero 11: illustra il confronto tra i parametri della TPA tra la nuova e vecchia focaccia cotta a 2 minuti dal raffreddamento.

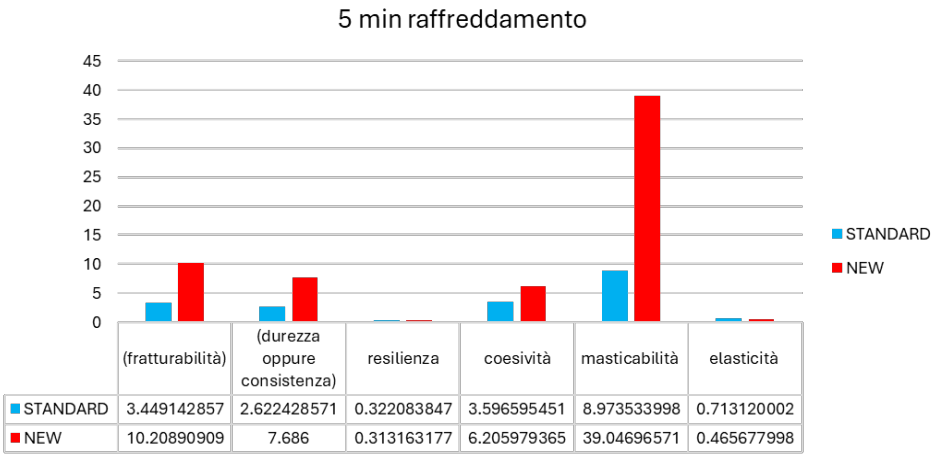
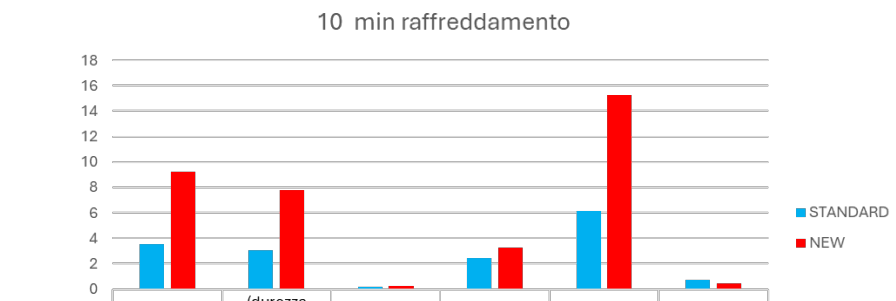


Grafico numero 12: illustra il confronto tra i parametri della TPA tra la nuova e vecchia focaccia cotta a 5 minuti dal raffreddamento.



	(fratturabilità)	(durezza oppure consistenza)	resilienza	coesività	masticabilità	elasticità
STANDARD	3.511571429	3.038285714	0.210430568	2.433166213	6.1627707	0.707972526
NEW	9.241	7.790090909	0.238708367	3.270832012	15.24772766	0.460472175

Grafico numero 13: illustra il confronto tra i parametri della TPA tra la nuova e vecchia focaccia cotta a 10 minuti dal raffreddamento.

Confrontando le due focacce STANDARD e NEW si nota che presentano delle differenze. La prima a risaltare è la masticabilità: la focaccia innovativa presenta una masticabilità leggermente più alta dopo 2 minuti di raffreddamento, ma la differenza maggiore sta nella maggiore stabilità della stessa man mano che trascorre il tempo. La coesività è maggiore nel cotto standard dopo 2 minuti, tuttavia, questo parametro è meno stabile nel prodotto standard e pertanto a 5 e 10 minuti risulta essere il New ad avere questo parametro più elevato. La durezza è maggiore nel NEW rispetto allo standard; questo parametro con il trascorrere del tempo aumenta, soprattutto nel nuovo prodotto. Il parametro della fratturabilità è maggiore nel nuovo prodotto rispetto allo standard e nel tempo varia soprattutto nel nuovo impasto: da 2 a 5 minuti si ha un aumento e poi da 5 a 10 cala leggermente, mentre nello standard è relativamente stabile. Nel complesso si può dire che a prodotto cotto ci sono differenze tra i due, essendo l'unica differenza tra i due prodotti il metodo produttivo dato che il New fa utilizzo dell'incubatore/abbattitore mentre lo Standard no, si può presumere che queste differenze siano causate da ciò.

4.4 Contenuto di amido resistente

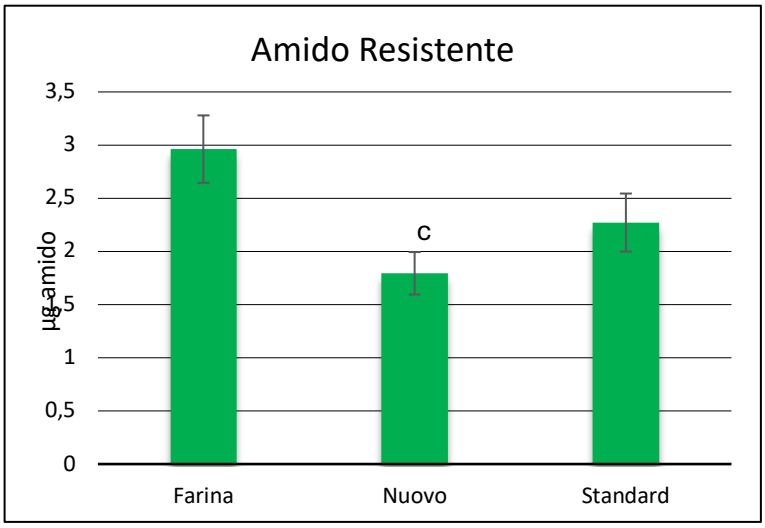


Grafico numero 14: Illustra la media e deviazione standard del contenuto di amido resistente nei 3 campioni Farina, Nuovo (impasto innovativo) e Standard (impasto classico), espressa in µg/g.

Il grafico numero 14 mette in evidenza che tra i tre campioni la farina risulta essere il campione che presenta il più alto contenuto di amido resistente con un valore di circa 3 µg/g; tuttavia, risulta essere anche il campione che presenta una deviazione standard maggiore e quindi presenta un margine di errore più ampio. Il prodotto panificato ottenuto dall'impasto nuovo che ha subito il trattamento tecnologico che fa utilizzo dell'incubatore/abbattitore durante la sua preparazione è il campione che presenta il valore più basso in termini di amido-resistenza, con un contenuto di circa 1,8 µg/g, mentre quando si utilizza l'impasto standard si ha una situazione intermedia con un valore di circa 2,3 µg/g di amido-resistenza. Probabilmente la sensazione di maggiore "leggerezza e digeribilità" dell'impasto percepita dai dipendenti dell'azienda sull'impasto nuovo è dovuta ad una minore presenza di amido resistente.

L'amido resistente non viene digerito nell'intestino tenue, ma raggiunge il colon, dove subisce un processo di fermentazione e agisce da prebiotico favorendo la salute intestinale. Tuttavia, un contenuto minore di amido resistente è generalmente associato a una maggiore digeribilità a livello dell'intestino tenue, dove avviene la digestione enzimatica. Pertanto, l'impasto innovativo che presenta un più basso contenuto di amido resistente rispetto allo standard potrebbe risultare più digeribile e adatto a chi presenta difficoltà digestive. La farina, presenta un contenuto maggiore di amido resistente, quindi, risulta meno digeribile ma potenzialmente sarebbe più efficace dal punto di

vista prebiotico. Però questo vantaggio rimane teorico, poiché la farina non viene consumata cruda. L'impasto rappresenta un compromesso tra digeribilità e potenziale effetto prebiotico. In conclusione, il nuovo impasto favorisce la digeribilità a scapito però di una minore azione prebiotica. La scelta ottimale tra i due dipende dunque dalle esigenze individuali: prediligere la facilità di digestione oppure un prodotto che ha una attività prebiotica maggiore.

4.5 Profilo elettroforetico delle albumine, globuline, gliadine e glutenine

A) Albumine e Globuline

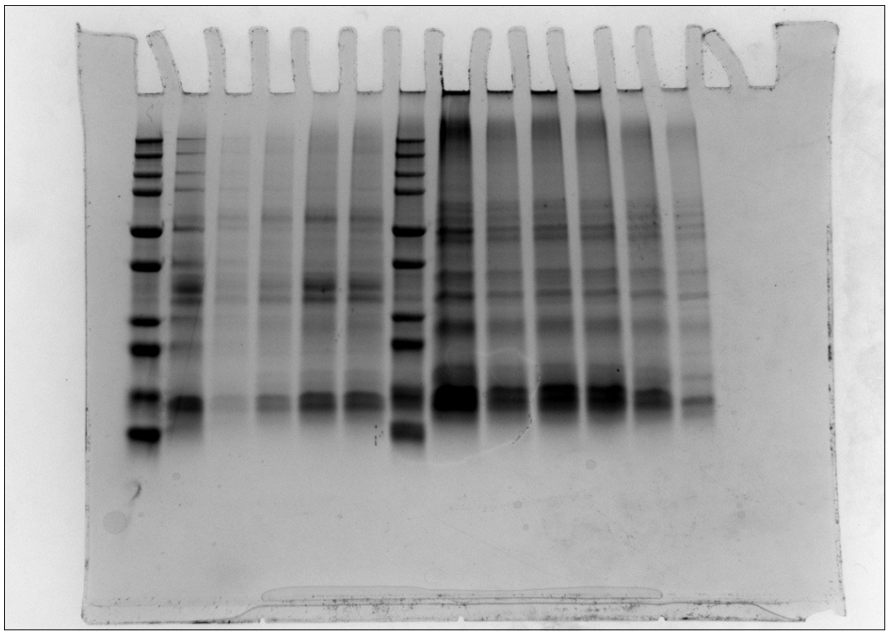


Figura numero 5: foto del gel dell'elettroforesi. 1° colonna standard albumine, 2° colonna albumine farina, 3° colonna albumine NL, 4° colonna albumine NNL, 5° colonna albumine STDL, 6° colonna albumine STDLN. 7° colonna standard globuline, 8° colonna farina globuline, 9° colonna NL globuline, 10° colonna NNL globuline, 11° colonna STDL globuline, 12° colonna STDLN globuline.

L'elettroforesi ha permesso di valutare il profilo delle Albumine e globuline negli impasti e nella farina. Ciò che si può notare sono alcune differenze di intensità di colorazione delle bande tra i campioni. Tuttavia, ad una prima analisi visiva i pattern proteici sono gli stessi in tutti i campioni analizzati.

Lane and band analysis

Questa è una analisi qualitativa e ci dà delle informazioni indicative sulla quantità in funzione delle aree sotto i picchi, mentre in funzione della distanza percorsa dalle proteine si può ottenere una indicazione approssimativa sulla dimensione delle proteine. Quelli sottostanti sono i parametri utilizzati ad eccezione delle glutenine in cui la band detection è manuale. Lane and band analysis è stata effettuata su tutte le colonne; tuttavia, nella tesi saranno presenti solo alcuni grafici a scopo dimostrativo.

Band Detection	Automatically detected bands with sensitivity: Low
Lane Background	Lane background subtracted with disk size: 10

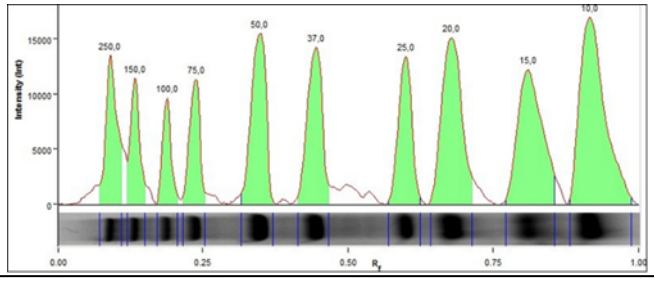


Grafico 15: lane 1 - Bio-Rad Precision Plus albumine y = -1.51 * x + 2.33 R-squared value: R^2 = 0.95538

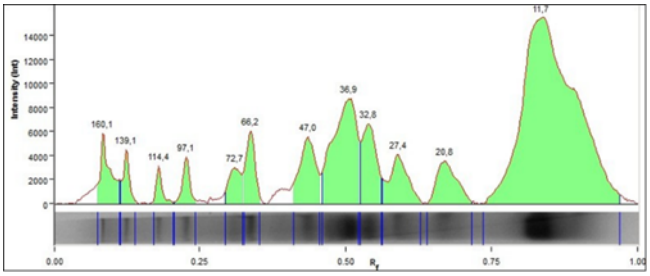


Grafico 16: lane 2 albumine farina y = -1.51 * x + 2.33 R-squared value: R^2 = 0.955047

Confrontando le albumine degli impasti NL e STDL si nota un maggiore numero di bande nel NL, quindi una migliore divisione in funzione delle dimensioni delle proteine, ma a vista non sembrano esserci differenze sostanziali, mentre tra NNL e STDLN sono molto simili le une alle altre. Anche confrontando lievitati e non lievitati non si notano differenze sostanziali.

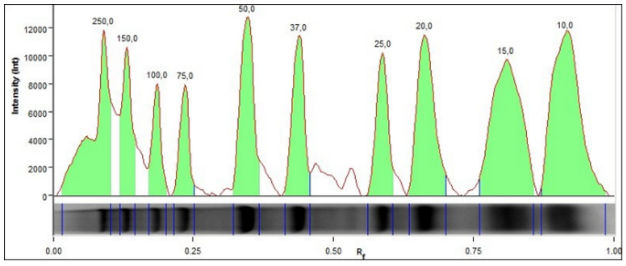


Grafico 17: Lane 7 - Bio-Rad Precision Plus standard globuline y = -1.52 * x + 2.33 R-squared value: R^2 = 0.953019

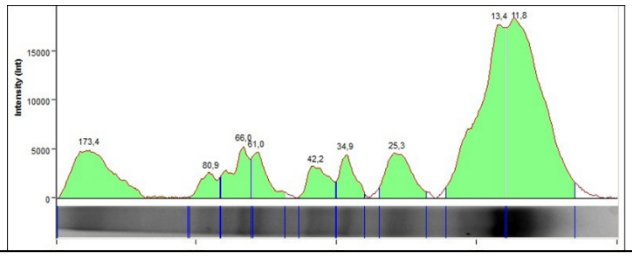


Grafico 18: globuline STDL y = -1.52 * x + 2.33 R-squared value: R^2 = 0.953019

Confrontando le globuline tra gli impasti NL e STDL le dimensioni dei picchi sono molto simili, l'unica differenza è che nel NL si ha una banda in più rispetto al STDL. Tra i picchi di NNL e STDLN non sembra esserci una differenza evidente, questa volta è il campione STDLN ad avere una banda in più. Anche tra i panificati lievitati e non apparentemente non sono presenti differenze significative.

B) Gliadine e glutenine

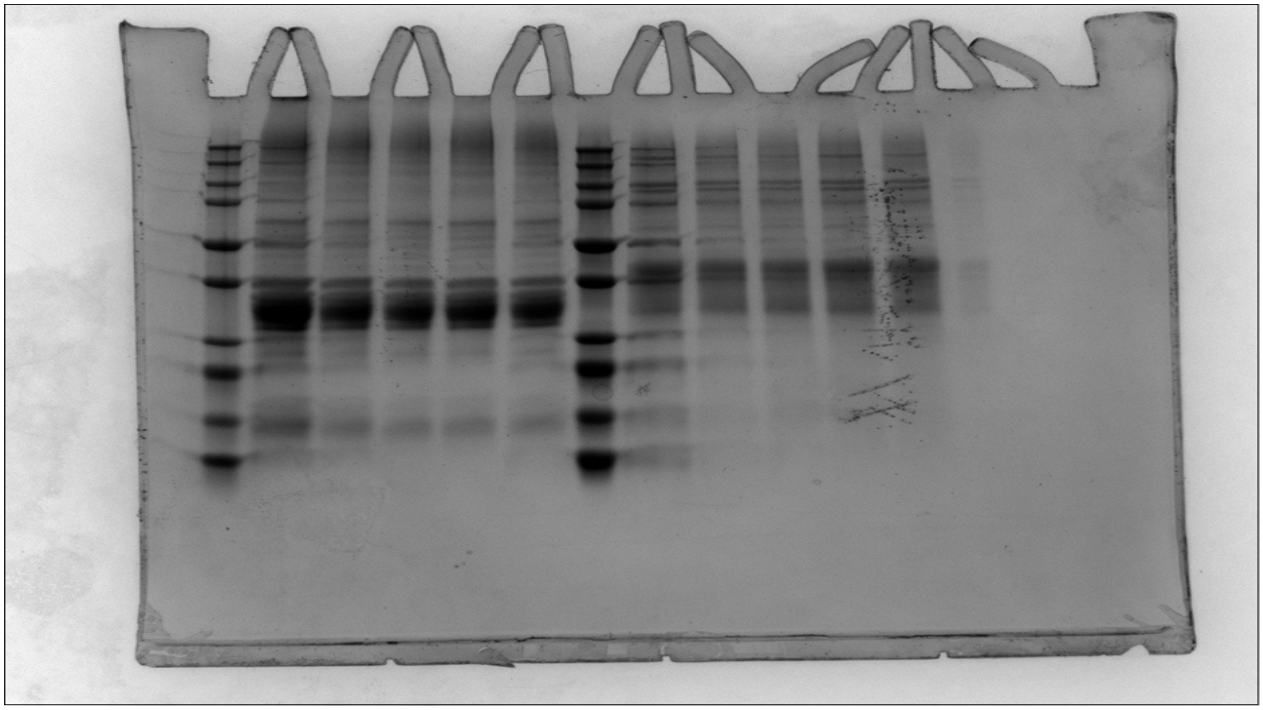


Figura numero 6: foto del gel dell'elettroforesi. 1° colonna standard gliadine, 2° colonna gliadine farina, 3° colonna gliadine NL, 4° colonna gliadine NNL, 5° colonna gliadine STDL, 6° colonna gliadine STDLN. 7° colonna standard glutenine, 8° colonna farina glutenine, 9° colonna NL glutenine, 10° colonna NNL glutenine, 11° colonna STDL glutenine, 12° colonna STDLN glutenine.

L'analisi elettroforetica ha permesso di studiare il profilo proteico delle Gliadine e glutenine presenti negli impasti. Si possono notare alcune differenze tra i campioni a confronto in termini di intensità di colorazione delle bande. Tuttavia, i pattern proteici sono gli stessi in tutti i campioni analizzati.

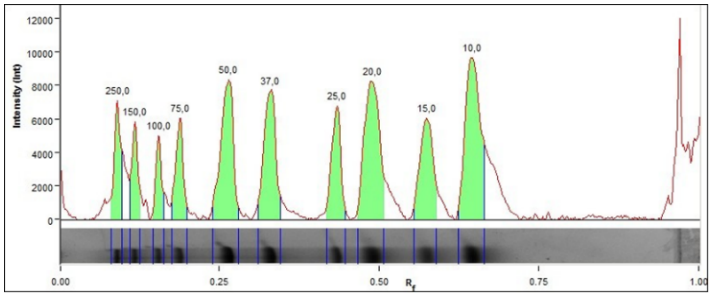


Grafico 19: Bio-Rad Precision Plus standard gliadine y = -2.24 * x + 2.39 R-squared value: R^2 = 0.95498

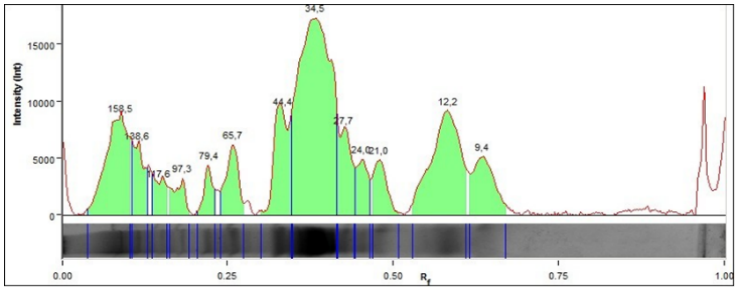


Grafico 20: gliadine farine y = -2.25 * x + 2.39 R-squared value: R^2 = 0.954613

Confrontando i picchi delle gliadine tra i campioni NL e STDL non sembrano esserci differenze in termini di dimensione dei picchi e distribuzione; tuttavia, nel campione NL si assiste ad una migliore risoluzione delle bande. Tra NNL e STDNL si ripresenta la stessa situazione, ma questa volta la risoluzione migliore è sul campione STDNL. Anche confrontando tra di loro lievitati non si assistono a differenze evidenti.

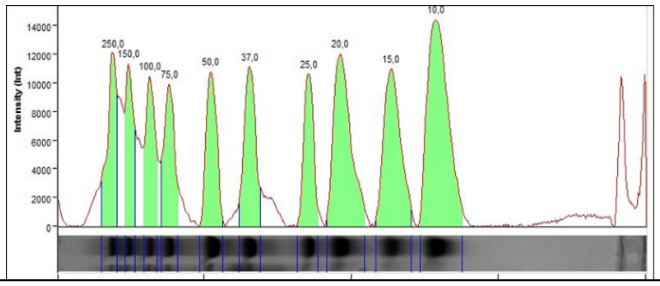


Grafico 21: Bio-Rad Precision Plus standard glutenine y = -2.28 * x + 2.4 R-squared value: R^2 = 0.952935

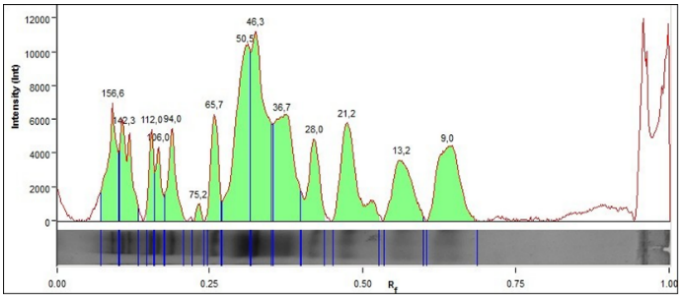


Grafico 22: glutenine farina y = -2.28 * x + 2.4 R-squared value: R^2 = 0.952935

Confrontando le glutenine tra NL e STDL le bande sembrano simili tra di loro, anche se nell'impasto NL sono più distinte. Anche tra NNL e STDNL non sembrano esserci differenze evidenti. A vista i picchi dei campioni lievitati sembrano essere più alti rispetto a quelli dei campioni non lievitati.

5. CONCLUSIONI:

In conclusione, si può dire che il nuovo metodo produttivo che fa utilizzo dell'innovativo abbattitore durante le fasi comporta l'ottenimento di un prodotto differente rispetto a quello ottenuto con il metodo standard senza l'utilizzo del nuovo strumento durante la fase di produzione. Sia a livello degli impasti non lievitati che lievitati si hanno delle differenze, ma anche per il prodotto finito "pizza in teglia" si ottengono dei risultati diversi l'uno dall'altro. Ovviamente questo partendo dalle stesse materie prime "farina integrale, lievito e acqua", tenendo invariate anche le quantità. Più precisamente negli impasti sia non lievitati che lievitati non si hanno differenze significative sulle analisi del cartellino, quindi sul contenuto di umidità, sostanza secca, percentuali ceneri tal quale e sul secco ed anche sul contenuto di proteine e lipidi sul prodotto essiccato. Anche l'elettroforesi, che ha permesso di valutare il profilo proteico delle albumine, globuline, gliadine e glutenine non ha messo in evidenza differenze tra i campioni dei vari impasti. Tuttavia, gli impasti hanno mostrato significativi discostamenti nel profilo gascromatografico dello spazio di testa e anche nell'analisi della texture "TPA". Più nello specifico, nel processo di gascromatografia si nota che il profilo delle componenti volatili è differente sia nel confronto tra gli impasti non lievitati (STDNL, NNL), che negli impasti lievitati (STDL, NL), questo ci suggerisce che l'utilizzo della nuova tecnologia ha un impatto sia prima che durante la lievitazione, portando ad un diverso profilo della componente volatile negli impasti. La TPA ha messo in evidenza le seguenti differenze sugli impasti: la durezza è maggiore negli impasti NL rispetto agli impasti STDL, mentre non ci sono differenze significative tra quelli non lievitati. La coesività è simile negli impasti lievitati, ma negli impasti non lievitati si ha una coesività maggiore sui campioni STDNL rispetto ai NNL. Infine, l'adesività risulta essere significativamente differente sia negli impasti lievitati che non, in particolare sono meno adesivi gli impasti ottenuti con il nuovo metodo produttivo rispetto alle controparti ottenute con il metodo standard. Infine, per quanto riguarda il confronto tra i prodotti finiti, le pizze in teglia "Standard" e "New" hanno mostrato differenze sia nei parametri della TPA, valutati a 2, 5 e 10 minuti di raffreddamento dopo la cottura, che nel test dell'amido resistenza, che ha messo in evidenza un contenuto maggiore di amido resistente nel prodotto standard. Nella TPA viene messo in evidenza un valore leggermente più alto nella masticabilità nel prodotto ottenuto con il nuovo metodo ma soprattutto questa risulta essere più stabile mentre nello standard crolla. La coesività è inizialmente più alta nello standard, ma è meno stabile rispetto al prodotto "New" e col passare del tempo il valore si inverte. La durezza risulta essere più alta nel prodotto "New" rispetto allo "Standard" e lo stesso vale per la fratturabilità. Per quanto riguarda l'analisi d'immagine accennata ad inizio tesi, non si ha

avuto una differenza significativa a livello statistico tra i diversi impasti in seguito all'utilizzo del programma ImageJ, tuttavia il sistema VIT, che sfrutta l'intelligenza artificiale a seguito di un addestramento dello stesso con diverse immagini degli impasti, si è dimostrato in grado di riconoscere gli impasti nuovi da quelli vecchi con una precisione elevata, quindi si può dire che le immagini differiscono, anche se ciò non è visibile all'occhio umano. In conclusione, si può dire che l'utilizzo dello strumento innovativo "abbattitore modificato" sia prima che durante la lievitazione comporta dei significativi cambiamenti sia negli impasti che nel prodotto finito, portando ad ottenere due prodotti diversi l'uno dall'altro, resta da capire l'influenza che questi cambiamenti hanno sui consumatori. Sarebbe opportuno svolgere un consumer test per valutare le loro risposte e preferenze.

6. BIBLIOGRAFIA:

- Alekhina, N. N., et al. "The impact of the freezing process on the grain bread quality." IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Vol. 1052. No. 1. IOP Publishing, 2022.
- Alsaffar, Ayten Aylin. "Effect of food processing on the resistant starch content of cereals and cereal products–a review." International journal of food science and technology 46.3 (2011): 455-462.
- Amaral, Olga, et al. "Resistant starch production in wheat bread: effect of ingredients, baking conditions and storage." European Food Research and Technology 242 (2016): 1747-1753.
- Banu, Iuliana, and Iuliana Aprodu. "Assessing the performance of different grains in gluten-free bread applications." Applied Sciences 10.24 (2020): 8772.
- Bourne, Malcolm. Food texture and viscosity: concept and measurement. Elsevier, 2002.
- Brandt, Margaret A., Elaine Z. Skinner, and John A. Coleman. "Texture profile method." Journal of food science 28.4 (1963): 404-409.
- Chimica analitica strumentale 2°edizione Skoog, Holler, Crouch
- Coldline S.r.l. (2020). Manuale tecnico abbattitori Life W.
- Dr. George Latimer, Jr. Editor 2019 Edition Official Methods of Analysis
- Elansari, Atef, and Alaa El-Din A. Bekhit. "Processing, storage and quality of cook-chill or cook-freeze foods." Minimally processed foods: Technologies for Safety, quality, and convenience. Cham: Springer International Publishing, 2014. 125-150.
- Ergün, Ahsen Rayman, Murat Yanat, and Taner Baysal. "The effects of the novel home freezing system on microstructure, color, antioxidant activity, and microbiological properties of strawberries." International Journal of Refrigeration 121 (2021): 228-234.
- Izzreen, MN Nor Qhairul, Åse S. Hansen, and Mikael A. Petersen. "Volatile compounds in whole meal bread crust: The effects of yeast level and fermentation temperature." Food chemistry 210 (2016): 566-576.
- Li, Dongmei, Zhiwei Zhu, and Da-Wen Sun. "Effects of freezing on cell structure of fresh cellular food materials: A review." Trends in Food Science & Technology 75 (2018): 46-55.
- Makhoul, Salim, et al. "Volatile compound production during the bread-making process: Effect of flour, yeast and their interaction." Food and Bioprocess Technology 8 (2015): 1925-1937.
- Mao, Yanwei, et al. "Effect of rapid chilling on beef quality and cytoskeletal protein degradation in M. longissimus of Chinese Yellow crossbred bulls." Asian-Australasian journal of animal sciences 25.8 (2012): 1197.

- Marilita M. Moschos; “Physiology and Psychology of Vision and it’s Disorders, a Review”Med hypothesis Discov Innov Opthalmol; 2014; vol3; pag 83-90
- Materiale didattico del corso di “metodologie avanzate per l’analisi degli alimenti 2023-2024” del professore Carletti Paolo.
- Nakamura, Toshihide, Satoru Tomita, and Katsuichi Saito. "Metabolite profiling in dough during fermentation." Food Science and Technology Research 24.3 (2018): 509-517.
- Oxford Academic Book cover for Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (22nd Edition) Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL (22nd Edition) Dr. George W Latimer, Jr. (ed.)
- Pico, Joana, Åse S. Hansen, and Mikael A. Petersen. "Comparison of the volatile profiles of the crumb of gluten-free breads by DHE-GC/MS." Journal of Cereal Science 76 (2017): 280-288.
- Radeka, Sanja, et al. "Effect of different vinification techniques on the concentration of volatile aroma compounds and sensory profile of Malvazija istarska wines." Fermentation 9.7 (2023): 676.
- Reg. CE 852/2004 (igiene dei prodotti alimentari)
- Russ J. C.; “Image Analysis for Food”; Journal of Food Science; vol80; pag 1974-1987
- Rybarczyk, Artur, et al. "The effects of blast chilling on pork quality." Meat Science 101 (2015): 78-82.
- Sanders, Lisa M., et al. "Whole grain intake, compared to refined grain, improves postprandial glycemia and insulinemia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials." Critical Reviews in Food Science and Nutrition 63.21 (2023): 5339-5357.
- Stern, Norman J., and Carl S. Custer. "Salmonella growth in cooked beef at selected cooling rates." Journal of food protection 48.12 (1985): 1046-1050.
- Terrazas-Avila, Paulina, et al. "The effects of fermentation time on sourdough bread: An analysis of texture profile, starch digestion rate, and protein hydrolysis rate." Journal of Texture Studies 55.2 (2024): e12831.
- Terrazas-Avila, Paulina, et al. "The effects of fermentation time on sourdough bread: An analysis of texture profile, starch digestion rate, and protein hydrolysis rate." Journal of Texture Studies 55.2 (2024): e12831.
- Thiex N, Novotny L, Crawford A. Determination of ash in animal feed: AOAC official method 942.05 revisited. J AOAC Int. 2012 Sep-Oct;95(5):1392-7. doi: 10.5740/jaoacint.12-129. PMID: 23175971.

- Trinh, Khanh Tuoc, and Steve Glasgow. "On the texture profile analysis test." Proceedings of the Chemeca. Vol. 2012. Wellington, New Zealand: Chemeca, 2012.
- Yu, Shifeng, et al. "Impact of cooling rates on the staling behavior of cooked rice during storage." Journal of Food Engineering 96.3 (2010): 416-420.
- Yusoff, Norhayati Mat, et al. "Challenges on the implementation of cook-chill system in school foodservice." *Environment-Behaviour Proceedings Journal* 7.19 (2022): 85-92.
- Zdolec, Nevijo, et al. "Systematic review and meta-analysis of the efficacy of interventions applied during primary processing to reduce microbial contamination on pig carcasses." Foods 11.14 (2022): 2110.