

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

FACOLTÀ DI AGRARIA

Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie e Alimentari

Sezione Scienze Agroalimentari e Ambientali

Dottorato di Ricerca in

“Scienze e Tecnologie Alimentari”

XXIV Ciclo

Dott.ssa CRISTINA AVOLA

**Caratterizzazione di semi di carrubo (*Ceratonia siliqua* L.) di
differente origine geografica e proprietà tecnologiche della
farina di semi (LBG)**

Dissertazione finale

Coordinatore:

Prof. Giovanni Spagna

Tutor:

Dott. Giuseppe Muratore

Triennio 2008-2011

INDICE

INTRODUZIONE	
1. L'ALBERO DEL CARRUBO: CARATTERISTICHE GENERALI	6
1.1 Inquadramento, origine e diffusione	6
1.2 Importanza economica	8
1.3 Morfologia e fisiologia	11
1.4 Criteri di caratterizzazione	22
1.5 Filiera e trasformazione industriale	24
1.6 Composizione e campi d'impiego della polpa di carrubba	28
1.7 Composizione e campi d'impiego del seme di carrubba	31
1.8 I galattomannani	33
1.9 Principali applicazioni della farina di semi di carruba	37
2. APPLICAZIONE DELLA FARINA DI SEMI DI CARRUBA (LBG) COME EDIBILE COATING	40
2.1 Film e rivestimenti edibili	40
2.2 Film edibili a base di galattomannani	43
2.3 Effetto dell'LBG nella formulazione di coating alimentari	45
3. CARATTERISTICHE GENERALI E PROBLEMATICHE DI CONSERVAZIONE DEL GAMBERO FRESCO	46
3.1 Aspetti morfologici	46
3.2 Modalità di pesca	49
3.3 Consumo e valore nutrizionale	50
3.4 Alterazione dei prodotti ittici	51
3.4.1 Deterioramento microbico	52
3.4.2 Deterioramento enzimatico	54
3.4.3 Deterioramento chimico	55
3.5 Metodi di conservazione	56
MATERIALI E METODI	
4. CARATTERIZZAZIONE DEL SEME	57
4.1 Campionamento	57
4.2 Analisi volumetrica	60
4.3 Determinazione dell'umidità	60
4.4 Resa in gomma e in germe	61
5. DETERMINAZIONE DELLA CAPACITÀ ADDENSANTE E DEL CONTENUTO IN ZUCCHERI DELLE FARINE	62
5.1 Preparazione delle farine	62
5.2 Determinazione della viscosità dinamica di soluzioni acquose	62
5.3 Determinazione del contenuto in zuccheri	64
6. FORMULAZIONE DEI COATING ALIMENTARI E LORO APPLICAZIONE	68
6.1 Preparazione delle soluzioni filmogene	68
6.2 Determinazioni chimico-fisiche	70
6.3 Preparazione dei campioni di gambero	71
6.4 Dipping e asciugatura	73
6.5 Confezionamento e conservazione	73
6.6 Monitoraggio della shelf-life dei gamberi	74
6.6.1 pH	74

6.6.2 Colore	74
6.6.3 Texture	75
6.6.4 Azoto basico volatile totale (ABVT)	75
6.6.5 Analisi sensoriale	77
6.6.6 Analisi microbiologica	79

RISULTATI E DISCUSSIONE

7. CARATTERISTICHE GENERALI DEI SEMI	80
---	-----------

8. DETERMINAZIONE DELLA CAPACITÀ ADDENSANTE E DEL CONTENUTO IN ZUCCHERI DELLE FARINE	82
---	-----------

8.1 Viscosità delle soluzioni acquose delle farine	82
8.2 Contenuto in zucchero delle farine di semi	87
8.3 Analisi statistiche	92

9. FORMULAZIONE DEI COATING ALIMENTARI E LORO APPLICAZIONE	96
---	-----------

9.1 Viscosità e colore delle soluzioni di coating	96
9.2 Monitoraggio della shelf life dei gamberi	98
9.2.1 pH	98
9.2.2 Colore	100
9.2.3 Texture.....	103
9.2.4 Azoto basico volatile totale (ABVT).....	104
9.2.5 Analisi sensoriale	105
9.2.6 Analisi microbiologica	107

CONCLUSIONI

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

SOMMARIO

Le carrube hanno svolto per lungo tempo il ruolo di frutta secca di basso costo e di alto valore energetico nell'alimentazione delle popolazioni mediterranee, ma negli ultimi decenni l'uso alimentare è progressivamente diminuito al crescere del tenore di vita, determinando una graduale scomparsa degli alberi di carrubo dal panorama floristico italiano (Muratore, 2010).

Il principale interesse della coltivazione del carrubo oggi è rivolto alla produzione della farina di semi, LBG (Locust Bean Gum), che trova ampia applicazione come additivo tecnologico in diverse preparazioni alimentari, facendo così riscoprire e rivalutare questo frutto spesso dimenticato, che invece racchiude un'enorme ricchezza e potenzialità di utilizzo e che meriterebbe maggiore riconoscimento come coltura da impiantare.

Attualmente sono numerosi infatti i prodotti alimentari di larghissima diffusione che contengono farina di semi di carruba, da sola o in combinazione con altri ingredienti.

La ricerca condotta in questi tre anni, ha riguardato la caratterizzazione di differenti varietà di carrubo, al fine di identificare quelle più adatte all'estrazione della gomma, sia in termini di resa che di proprietà tecnologiche (Avola *et al.*, 2009).

In una seconda fase di studio si è proposta un'applicazione innovativa della farina di semi di carrubo, come ingrediente di rivestimenti edibili, a tale scopo sono state effettuate prove per valutare l'efficacia dell'LBG come coating per il prolungamento della shelf-life di prodotti deperibili come i gamberi freschi (Avola *et al.*, 2010b).

A seguito di test preliminari sono stati scelti, oltre la farina di semi di carruba, tre diversi rivestimenti costituiti da miscele di materiali

addensanti di struttura polisaccaridica: chitosano, maizena, tapioca. Il chiosano è stato scelto come ingrediente base di tutte le soluzioni di coating in quanto è un biopolimero versatile che viene spesso impiegato nella formulazione di coating alimentari. Tali soluzioni, in seguito a procedura di *dipping*, sono state testate su esemplari di gamberi della specie *Parapenaeus longirostris*.

Nel dettaglio nella presente tesi vengono preliminarmente descritte le caratteristiche generali della pianta di carrubo, sono inoltre riportate le più recenti acquisizioni della letteratura sulla composizione chimica della polpa e dei semi, sulle proprietà funzionali e le applicazioni della farina di semi nel settore alimentare. Segue una descrizione delle diverse tipologie di film edibili e delle principali problematiche legate alla shelf-life del gambero fresco.

Dopo aver illustrato le procedure sperimentali utilizzate nella ricerca, sono stati valutati il potenziale tecnologico dei semi appartenenti a differenti varietà e di differente origine geografica e l'efficacia delle soluzioni di coating formulate.

I risultati della prima parte della ricerca hanno confermato l'alto livello di variabilità intraspecifica delle proprietà reologiche della farina di semi, motivando dunque l'interesse non solo verso varietà ad elevato numero di semi ma anche con peculiari potenzialità tecnologiche della farina.

Dalle prove effettuate nella seconda fase della ricerca si è evidenziato un effetto positivo sulla shelf-life dei gamberi da parte delle soluzioni di coating, in particolare l' LBG ha evidenziato un effetto protettivo nei confronti dello sviluppo microbico e dell' ABVT.

Il Dottorato di Ricerca è stata un'esperienza di elevato profilo professionale che ha consentito di migliorare il livello delle mie conoscenze sia scientifiche e tecnologiche. Infatti l'opportunità di sviluppare la tematica di ricerca in maniera autonoma, e di mettere a punto specifici protocolli di

lavoro nonché l'uso di strumentazioni quali il gascromatografo accoppiato alla massa, hanno fatto di questa esperienza un'occasione importante di crescita professionale.

INTRODUZIONE

1. L'ALBERO DEL CARRUBO: CARATTERISTICHE GENERALI

1.1 *Inquadramento, origine e diffusione*

Il carrubo (*Ceratonia siliqua* L.), nel sistema tassonomico attuale, è classificato come segue:

Divisione:	<i>Fanerogame</i>
Sottodivisione:	<i>Angiospermae</i>
Classe:	<i>Dicotyledoneae</i>
Sottoclasse:	<i>Archiclamidae</i>
Ordine:	<i>Rosales</i>
Famiglia:	<i>Fabaceae</i>
Sottofamiglia:	<i>Cesalpinoideae</i>
Genere:	<i>Ceratonia</i>
Specie:	<i>Ceratonia siliqua</i>

Il genere *Ceratonia*, fino a qualche decennio fa, contava solo la specie *Ceratonia siliqua* L., fino a che in Arabia e Somalia ne fu descritta un'altra, *Ceratonia oreothauma* (Hillcoat *et al.*, 1980) con due sottospecie *oreothauma* e *somaliensis* (Mitrakos, 1987), spontanee in questi paesi e di cui sono state censite numerose piccole popolazioni.

Dato che il nome specifico del carrubo fa riferimento al tipo di frutto, che evidentemente non è una siliqua, in quanto il legume che produce è monocarpellare, mentre la siliqua è un frutto bicarpellare tipico di alcune

crucifere, nel 1987 fu proposto di sostituire l'attuale denominazione con quella di *Ceratonia mediterranea* S-C.

Il carrubo ed il suo frutto sono chiamati, in diverse lingue, con i seguenti nomi (**Tabella 1**) (Melgarjo e Salazar, 2003):

Tabella 1. Nome del carrubo e del suo frutto in varie lingue.

LINGUA	PIANTA	FRUTTO
Italiano	Carrubo	Carruba
Inglese	Carob tree	Carob
	Locust tree	Saint John's bread
Spagnolo	Algarrobo	Algarroba
	Garrobo	Garrofa
	Garrofero	
Portoghese	Alfarrobeira	Alfarroba
Francese	Caroubier	Caroube
Tedesco	Johannisbrotbaum	Johannisbrot
Arabo	Kharrub	Alharoba
	Charnub	
Ebreo	Kharuv	-

Il carrubo cresce rigoglioso lungo le coste del Mediterraneo ricoprendo una certa importanza in Spagna (Catalogna, Comunità Valenciana, Murcia, Andalusia, Canarie, Baleari), Italia (Sicilia, Puglia, Calabria, Campania, Puglia, Lazio, Liguria, Sardegna), Portogallo (Algarve), Francia (Provenza, Corsica), Cipro e Grecia.

È presente pure lungo le coste dell’Africa del Nord (Marocco, Algeria, Tunisia, Libia, Egitto), del Libano, di Israele della Siria e della Turchia (**Figura 1**).

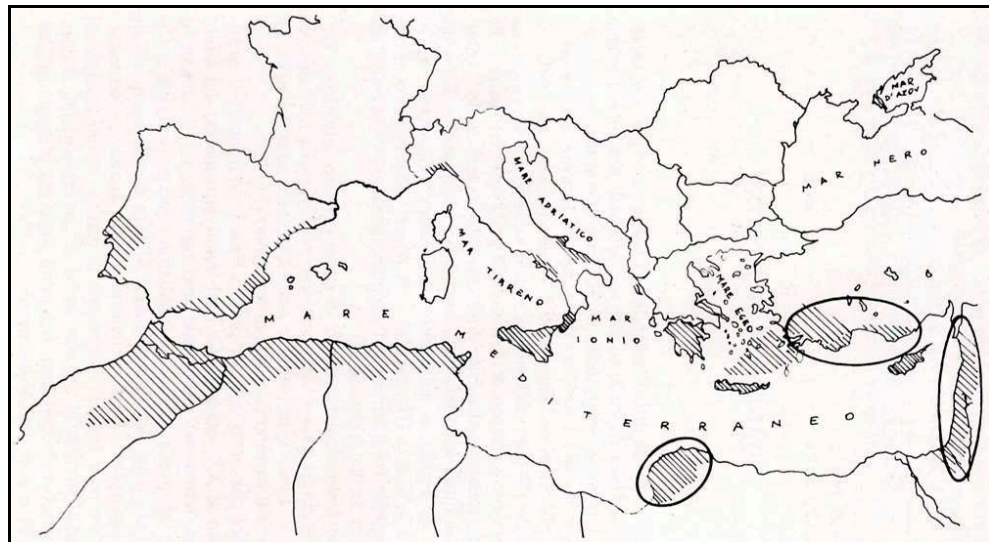


Figura 1. Aree mediterranee di diffusione del carrubo (da Spina, 1986).

Dalla penisola iberica il carrubo è stato diffuso in California, Arizona, Messico, Cile e Argentina e posteriormente da questi luoghi in Texas, in zone dell’Australia dagli emigranti mediterranei e in Sud Africa e India dagli Inglesi (Batlle e Tous, 1997) essendo oggi un albero non solo mediterraneo ma associato a tutte le zone di clima mediterraneo esistenti nel mondo.

1.2 *Importanza economica*

Dopo un periodo di relativo disinteresse nei confronti del carrubo, in Italia, in Spagna e negli altri paesi del bacino del Mediterraneo, negli ultimi anni si è mostrata una rinnovata attenzione per questa coltura, scaturita anche da nuove utilizzazioni del frutto ed, in particolare, del seme. Infatti, se in passato si utilizzava la polpa per l’alimentazione, sia animale che umana, oggi questa può considerarsi un sottoprodotto e viene utilizzata

quasi esclusivamente per l'industria mangimistica. È il seme del carrubo che ha invece assunto maggiore importanza relativa ed i suoi derivati trovano impiego nell'industria alimentare, farmaceutica e cosmetica (Damigella *et al.*, 2001).

La produzione delle carrube a livello mondiale ha registrato una significativa flessione nell'ultimo ventennio, passando da poco meno di 360 mila tonnellate a circa 250 mila tonnellate (Pecorino *et al.*, 2001). Le produzioni mondiali si concentrano in pochi paesi (Spagna, Italia, Marocco, Portogallo e Grecia), che detengono quasi l'89% della produzione mondiale.

Comunque è da sottolineare che quando si menziona l'Italia si intende la Sicilia che contribuisce per oltre il 90 % alla produzione italiana stimata, negli scorsi anni, in circa 40.000 tonnellate (circa 1/6 della produzione mondiale). Tutto ciò conferma che la carrubicoltura si estende in massima parte nel bacino del Mediterraneo, nel quale rappresenta una coltivazione caratteristica, ancorché localizzata in specifiche regioni e soprattutto in alcune aree ben delimitate.

Dall'analisi delle produzioni registrate per singolo paese emerge che nel ventennio esaminato non vi sono variazioni di rilievo nella composizione della produzione mondiale, pur registrando la Spagna le riduzioni più significative sia in termini assoluti che relative, passando da una incidenza media del 53,8 % al 48,4 % sul totale. Il secondo paese produttore è l'Italia, seguita dal Marocco, dal Portogallo, dalla Grecia, dalla Turchia e da Cipro, che mostra in termini relativi la riduzione più significativa. Due casi a parte sono rappresentati dalla Tunisia e dall'Algeria, le cui produzioni anziché diminuire, come nella generalità dei Paesi produttori, sono fortemente aumentate negli ultimi anni esaminati (**Tabella 2**).

Tabella 2. Evoluzione della produzione di carrube nel mondo (tonnellate) nell'ultimo quarantennio, Fonte FAO.

Paese	ANNO					Δ 1963-65/2003-05
	1963-65	1973-75	1983-85	1993-95	2003-05	
Spagna	373,7	256,2	157,8	113	66,5	-82,2
Italia	62,3	65,7	54,6	40,0	25,1	-59,7
Marocco	18,0	19,7	26,0	21,4	26,0	+44,4
Portogallo	42,7	34,5	20,0	20,0	20,0	-53,2
Grecia	42,7	28,1	21,4	16,0	17,9	-58,3
Turchia	13,0	14,3	13,2	14,3	14,0	+7,6
Cipro	50,5	18,5	10,4	8,6	6,4	-87,5
Algeria	21,2	13,5	2,0	3,3	3,7	-82,6
Tunisia	0,0	0,1	0,6	1,0	1,0	-----
Totale	626,1	450,6	306,1	238,1	180,5	-71,07

La coltivazione del carrubo, la produzione, trasformazione e commercializzazione dei baccelli e dei derivati sono attività economiche tipiche dell'area dell'altopiano ibleo, interessando il comparto agricolo e zootecnico, quello commerciale e quello della trasformazione eseguita sia a livello artigianale che industriale. Le province di Ragusa e Siracusa negli ultimi anni intercettano circa il 99 % della superficie regionale.

Per quanto riguarda l'utilizzazione delle carrube, è possibile individuare alcune fasi storiche. Nei primi decenni del novecento le carrube venivano in massima parte utilizzate per l'alimentazione dei bovini e degli equini. Dopo gli anni trenta, a causa della graduale sostituzione degli animali con i mezzi meccanici per lo svolgimento di diverse operazioni colturali in agricoltura, il prodotto destinato all'alimentazione del bestiame subì una significativa riduzione della domanda ed il collocamento delle carrube sul mercato divenne più difficile. Tutto ciò provocò da un lato il crollo dei prezzi e dall'altro una notevole riduzione delle superfici coltivate e la coltura rischiò l'estinzione (Maltese e Pesce, 1996). In seguito, la

nascita di nuove forme di utilizzazione delle carrube (distillazione del prodotto per la produzione di alcool etilico e, in un secondo tempo, estrazione dalle carrube di sostanze pectiche e farine neutre e la utilizzazione come addensanti nell'industria alimentare) determinò, la crescita della domanda ed una ripresa del mercato. Negli ultimi decenni si registrano alterne vicende condizionate, da un lato, dall'elevazione delle imposte sull'alcool etilico e dall'avvento nell'industria chimica di procedimenti di sintesi per l'ottenimento di prodotti in sostituzione di quelli tradizionalmente ricavati dalle carrube e, dall'altro, da nuove e distinte possibilità di impiego dei frutti e dei semi, favorendo la nascita di alcune imprese di prima e seconda trasformazione ed una ripresa del mercato delle relative produzioni (Pecorino *et al.*, 2001).

1.3 Morfologia e fisiologia

Il carrubo è un albero tipicamente xerofitico, sempreverde, di grande portamento e ramificazione abbondante, con chioma molto densa tendente ad una forma semisferica o globosa (**Figura 2**).



Figura 2. Chioma di un albero di carrubo.

È un albero molto longevo, si conoscono esemplari di circa trecento anni con diametro del tronco di 4 m e più di 15 m d'altezza.

Il sistema radicale del carrubo è molto ramificato in superficie, con grosse formazioni sulla parte superiore che, allontanandosi dal tronco, affondano nel terreno per geotropismo positivo (**Figura 3**).



Figura 3. Tronco di un albero di carrubo.

Le radici hanno un accrescimento lento ma raggiungono un elevato sviluppo finale, tanto che il volume delle radici supera di due o tre volte il volume della chioma, vale a dire che questa specie ha un sistema radicale molto esteso e specialmente distribuito in superficie. Se la pianta nasce da seme sviluppa una radice fittonante con una ramificazione progressiva che va perdendo importanza relativa (eccetto situazioni peculiari di suolo e clima) rispetto al sistema superficiale più fascicolato che si va formando con il tempo.

Così come riportato già da (Martins-Loução, 1985), dopo la fase giovanile, il sistema radicale fittonante iniziale del carrubo è praticamente sostituito da un secondo sistema di radici, formato a partire da rudimenti caulogenici specifici della base del tronco, che riescono a costituire una struttura tipo pedana che dà un aspetto caratteristico alla base del tronco, come punto d'inizio delle grosse radici principali che si formano.

Il carrubo, anche se appartenente alle leguminose, non instaura una simbiosi specifica con *Rhizobium* spp né con altri batteri fissatori di azoto atmosferico, come riportato (Martins-Loução, 1985), e come comprovato da numerosi altri autori.

Il tronco è robusto, con evidenti costolature dovute ai canali interni di circolazione della linfa, connessi con le radici più grosse, che gli danno un aspetto sinuoso, specialmente marcato in alcune varietà. Il tronco in alberi di grosse dimensioni e vecchi è particolarmente tortuoso e sinusoidale con allargamenti e noduli alla base (**Figura 4**).



Figura 4. Tronchi di carrubo.

I rami inferiori hanno uno sviluppo maggiore rispetto ai superiori, per questo motivo lo sviluppo del carrubo si definisce basitono. La prima a

germogliare è sempre la gemma apicale e durante il suo accrescimento germogliano quelle inferiori, solendo germogliare tre gemme all'estremità dei rami, comportamento che si mantiene per una settimana, dopodiché si sviluppano i due rami inferiori, mentre i superiori rallentano l'accrescimento perché la parte inferiore determina un effetto di dominanza.

I germogli hanno un colore da un verde intenso a rosso in funzione della varietà e dello sviluppo, molto legato alla disponibilità idrica ed alla buona capacità di traspirazione delle foglie (**Figura 5**).



Figura 5. Germogli appartenenti a due diverse varietà.

Le gemme del carrubo non posseggono le perule caratteristiche di altri fruttiferi e pertanto sono simili agli altri alberi sempreverdi. Si distinguono le gemme apicali che generano germogli vigorosi sia in autunno, se questo non è freddo, che in primavera, gemme ascellari e gemme stipolari (queste sono generalmente due), che si situano alla base delle foglie e che possono dare origine a legno o occasionalmente, a infiorescenze e, dato che alcune infiorescenze possiedono foglie nella loro struttura, si può parlare anche di gemme miste (**Figura 6**).



Figura 6. Gemme miste in fase di differenziazione

Il carrubo possiede foglie composte, paripennate, con un numero di coppie di foglioline compreso tra quattro e cinque, anche se in alcune varietà possono essere in numero maggiore.

Le foglioline sono disposte frontalmente da ambo le parti della rachide, ma in molte occasioni, il punto d'inserzione delle foglioline può trovarsi spostato, dando l'aspetto di essere alternate.

La lunghezza delle foglioline è molto variabile a seconda della varietà e dello stato di nutrizione della pianta potendo essere compresa generalmente tra i 5 ed i 10 cm. Le foglie sono di lunghezza variabile e possono arrivare a misurare più di 30 cm (**Figura 7**).



Figura 7. Foglie e frutto di differenti varietà.

La caratteristica più peculiare di questo albero mediterraneo per eccellenza è rappresentata dalla caulifloria, ovvero, l'inserzione diretta delle infiorescenze nelle branche e nel tronco (**Figura 8**).



Figura 8. Caulifloria.

Il carrubo è una pianta trioica, in quanto in natura esistono piante a fiori maschili (**Figura 9**), femminili (**Figura 10**) ed ermafroditi (**Figura 11**).



Figura 9. Infiorescenza maschile.



Figura 10. Infiorescenza femminile. **Figura 11.** Infiorescenza ermafrodita.

L'esistenza di piante portanti sia fiori maschili che femminili, indicate da alcuni autori (Daris, 1964; Spina, 1986), non sembra essere una caratteristica di talune piante, bensì la conseguenza degli innesti effettuati in passato; infatti, molto spesso, i polloni che crescono alla base dei tronchi dalle piante femminili producono infiorescenze maschili, dando espressione della sessualità del portinnesto, oppure si tratta di rami maschili derivanti da innestati su piante femminili allo scopo di favorirne l'impollinazione. Tuttavia non è insolito imbattersi in piante con infiorescenze portanti sia fiori maschili che ermafroditi. Tale particolarità sembra essere determinata da fattori fisiologici interni alle piante che influenzano lo sviluppo o meno del gineceo di alcuni fiori.

Allo stesso modo, seppur ancora più raramente, è possibile trovare in piante femminili alcuni fiori ermafroditi, dove cioè, per cause non chiare, si sono differenziati stami, o per essere più precisi staminoidi, in quanto incapaci di portare a termine la differenziazione e quindi di portare a maturazione il polline contenuto nelle loro antere.

I romani denominarono il frutto del carrubo come *siliqua greca*, chiamandola successivamente *siliqua edulis*.

La carruba è un legume indeiscente dalle grosse pareti con un elevato accumulo di zuccheri e tannini che gli danno al principio del suo ciclo un aspetto carnoso, differente da una varietà all'altra nel quale è pure variabile il ritmo e l'evoluzione della sua invaiatura.

Questo legume ha forma più o meno curva e contorta, che vagamente ricorda un corno, con ingrossamenti marginali nella zona di sutura ed asse carpellare pluriloculare, con pareti polpose porose e ricettacolo peculiare per i suoi semi, presenti in numero variabile a seconda della varietà, dello sviluppo, delle condizioni ambientali e dell'efficacia dell'impollinazione. Il numero di logge vuote è basso in condizioni eco-ambientali normali.

Con la maturazione il frutto inizia a disidratarsi fino al momento della raccolta assumendo un colore da rossiccio a nero a seconda della varietà.

Durante l'accrescimento e la maturazione del frutto permangono alcune strutture fiorali; così, si ingrossa e lignifica il peduncolo, si disseccano e anneriscono i sepali, il talamo e lo stimma, che si mantiene nel frutto anche dopo la raccolta. A volte, anche dopo vari mesi dalla fioritura, è possibile trovare ancora attaccati al talamo i resti degli stami, antere comprese. In periodi dell'anno lontani dalla fioritura con la sola presenza di frutti in accrescimento, tali segni rappresentano un valido aiuto per la distinzione di piante a fiori ermafroditi da quelle a fiori femminili.

La carruba si sviluppa durante l'autunno, con un accrescimento iniziale molto lento che accelera in primavera, aumentando in maniera visibile fino all'inizio dell'inverno, quando raggiunge la sua massima dimensione (**Figura 12**).



Figura 12. Infruttescenze femminili in accrescimento.

Inizialmente il suo colore è verde chiaro, e si mantiene fino a metà estate; è durante questo periodo che si completa la formazione dei semi e l'accumulo degli zuccheri nel mesocarpo; dopo la metà dell'estate, il colore verde muta in marrone scuro o nero, estendendosi a macchie allargate, iniziando dall'apice (**Figura 13**).

La maturazione si raggiunge, generalmente, a settembre, periodo in cui sulla pianta si sovrappone la presenza di frutti e di infiorescenze del ciclo successivo.



Figura 13. Frutti della cultivar “Racemosa” prima e dopo l'invasatura.

Nel frutto (**Figura 14**) si possono distinguere tre parti:

- l'*esocarpo* o buccia, di natura fibrosa e colorata.
- Il *mesocarpo* o polpa, di consistenza carnosa, ricco in zuccheri; rappresenta circa il 70-95% in peso del frutto intero.
- L'*endocarpo*, di colore chiaro brillante, di natura fibrosa; divide l'interno del frutto in segmenti e logge, costituendo gli spazi carpellari dove si situano i semi.



Figura 14. Frutto in sezione.

Il numero di frutti allegati per ogni infiorescenza è variabile a seconda della varietà, per alcuni autori (Melgarejo e Salazar, 2003) è compreso tra 1 e 6, ma è facile trovare grappoli di 10, 20 e più frutti.

I semi, detti carati, hanno una dimensione da 9 a 10 mm di lunghezza e da 6 a 8 mm di larghezza, sono ellittici, affusolati nella zona del micropilo e appiattiti distalmente; in ogni carruba è presente un numero di carati variabile, generalmente da 6 a 18, ubicati all'interno delle logge della carruba.

Il loro colore è rossiccio marrone, occasionalmente quasi nero, hanno una superficie liscia, anche se a volte si rilevano piccole ondulazioni determinate dall'incompleto sviluppo dell'endosperma (**Figura 15**). Il carato è molto duro e resistente alla compressione.



Figura 15. Semi di carrubo.

Nei semi, che rappresentano approssimativamente il 10% in peso dell'intero frutto, è possibile distinguere tre parti:

- l'episperma, che copre i semi ed è costituito principalmente da cellulosa, lignina e tannini. In questo, a sua volta, si distinguono due strati, uno esterno detto testa, che è colorato e duro, e un altro interno detto tegmen, che è più bianco e meno compatto. Rappresenta il 30-33% del peso del seme.
- L'endosperma, che si trova sotto l'episperma e costituisce il tessuto di riserva dell'embrione, è la parte di maggior interesse economico del seme. Presenta un alto contenuto in galattomannani, combinazione molecolare di unità di mannosio e galattosio in proporzione 1:4 (Tous e Battle, 1990). Rappresenta il 42-46% del peso del seme.
- Il germe, in cui si notano i cotiledoni e l'embrione, rappresenta il 23-25% del peso dei semi.

La polpa è ricca in zuccheri (specialmente saccarosio, in una percentuale compresa tra il 37 ed il 53%), povera in proteine (tra 2,5 e 6,25%) e grassi (tra 0,24 e 1,25%) e ricca in fibre; come elementi minerali possiede fosforo, calcio e potassio ed in minor quantità magnesio e sodio.

Il seme, come detto, è molto ricco in galattomannani con caratteristiche peculiari di largo uso nel settore alimentare, chimico, farmaceutico e cosmetico, e relativamente ricco in proteine di alta qualità.

1.4 Criteri di caratterizzazione

Il livello di diversità esistente nell'ambito del carrubo è molto alto; molte cultivar derivano dalla selezione di semenzali, scelti per le buone caratteristiche espresse nell'area in cui hanno origine, e propagati dagli agricoltori reiteratamente in quelle stesse zone. Per questo motivo, molte varietà sono presenti in ambiti territoriali limitati e sono denominate sulla base di alcune loro peculiarità o con toponimi locali.

Nella carrubicoltura, nonostante si tratti di una coltura di antica tradizione e di rilevante importanza per la socio-economia di alcune aree, non è esistita e non esiste tuttora un'adeguata caratterizzazione del materiale vegetale in coltivazione.

Al momento, non esistono criteri di caratterizzazione pomologica per il riconoscimento varietale di questa specie anche se finora sono state fatte varie proposte (Brito de Carvalho, 1987; Sánchez-Capuchino *et al.*, 1987; Barracosa *et al.*, 2007).

Oggi la caratterizzazione varietale, oltre l'analisi morfologica, deve includere l'analisi molecolare, con i profili enzimatici e del DNA, la caratterizzazione fisico-chimica dei frutti e dei semi e le rispettive attitudini tecnologiche.

Un criterio di caratterizzazione dovrebbe tenere in conto il seguente schema (Brito de Carvalho, 1987):

Caratterizzazione delle piante

- Regolarità della produzione.
- Precocità nell'entrata in produzione.
- Precocità nella maturazione.
- Efficienza dell'impollinazione.
- Distribuzione delle carrube nella pianta.
- Sensibilità al freddo.
- Sensibilità alla nebbia e all'umidità ambientale.
- Sensibilità alle malattie.
- Sensibilità al vento.
- Necessità di potatura.
- Risposta alla potatura.
- Risposta all'irrigazione ed alla fertilizzazione.

Caratterizzazione dei frutti

Si propone la differenziazione delle caratteristiche della polpa e dei carati, prima di considerare la resa in seme.

Caratterizzazione della polpa

- Aroma e sapore.
- Contenuto in tannini.
- Contenuto in zuccheri.
- Contenuto in fibra.
- Valore nutritivo.

Caratterizzazione del seme

- Contenuto in gomma (LBG).
- Qualità della gomma (LBG).
- Proporzione del germe.

Altri autori propongono pure la caratterizzazione varietale basata sul numero di foglioline per foglia, la dimensione della nervatura delle foglioline, il colore della carruba, il sesso e le caratteristiche dei fiori.

Marakis *et al.* (1988) proposero una caratterizzazione basata sul contenuto in galattomannani e la composizione in acidi grassi dei lipidi del seme, dopo aver analizzato le differenze morfometriche di frutti e semi.

L'attribuzione a talune piante e carrube del giudizio di buona qualità è strettamente legato alla funzione svolta e all'uso che di esse se ne vuole fare.

L'analisi delle piante, oltre alla possibilità di basarsi su aspetti legati alla funzione paesaggistica ed ambientale, è spesso volta ad individuare e valutare quelle caratteristiche che direttamente ed indirettamente influiscono sulla loro produttività.

1.5 Filiera e trasformazione industriale

La raccolta delle carrube si effettua tra la fine di agosto e la prima decade di ottobre, anche se, negli ultimi anni, le operazioni si sono protratte fino alla seconda decade del mese, a causa del clima tendenzialmente piovoso. La tecnica utilizzata è quella dell'abbacchiatura, dopo aver disposto adeguatamente sotto l'albero teloni o reti.

Solitamente gli operatori sono componenti della stessa famiglia coltivatrice anche se, a volte, viene richiesta manodopera esterna.

Il prodotto ai fini della collocazione sul mercato viene avviato dal carrubicoltore ad una o più delle seguenti destinazioni principali:

- immagazzinato in azienda, con l'obiettivo di essere venduto in condizioni di mercato più opportune, ossia quando i prezzi risultino più elevati;
- venduto direttamente ai commercianti del luogo, che operano spesso da raccoglitori della merce ottenuta dai piccoli produttori;

- depositato nei magazzini delle imprese di trasformazione in attesa di procedere alla vendita in momenti più favorevoli attraverso la sottoscrizione di un contratto, definito “contratto a disposizione”.

Risulta, invece, quasi del tutto scomparsa la figura del mediatore, un tempo essenziale alla compravendita del prodotto.

I prodotti del carrubo presenti sul mercato sono rappresentati principalmente dalla polpa di carrube, dai semi e dai derivati di entrambi (INEA, 2001).

La **Figura 16** rappresenta il flow-sheet della lavorazione della carruba. Dal magazzino deposito, le carrube vengono prelevate attraverso dei caricatori e versate in una tramoggia la quale provvederà a distribuire le silique su un nastro trasportatore provvisto di magnete. Quest’ultimo ha il compito di eliminare le varie impurità metalliche eventualmente presenti, mentre il nastro ha il compito di portare le carrube all’impianto di molitura, che mediante delle coclee distribuiranno le silique nei “molini a martello”. Questa è una tipologia di molini che operano la frantumazione e non la macinazione del frutto sfruttando l’azione centrifuga.

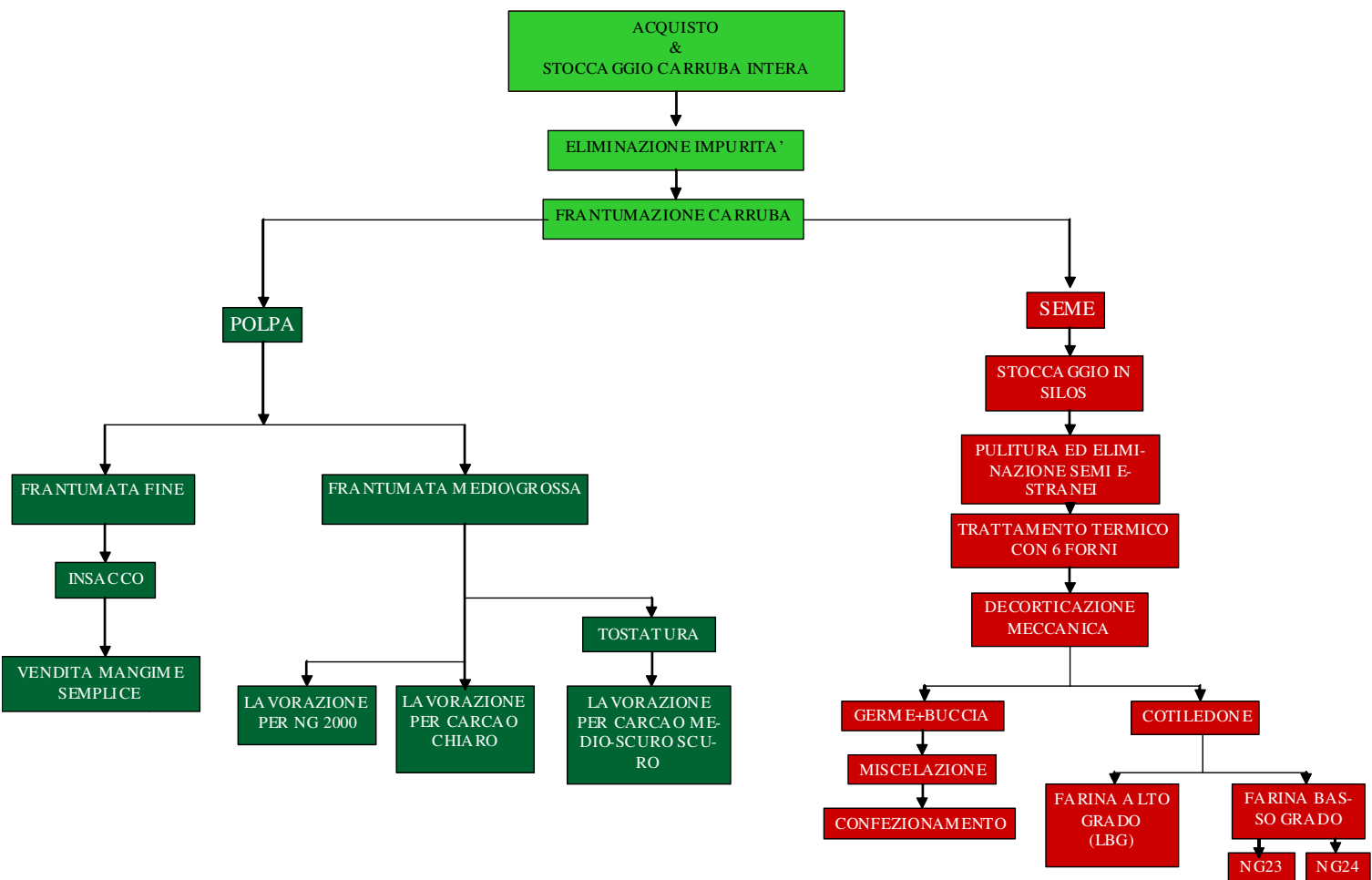


Figura 16. Flow sheet della lavorazione industriale della carruba.

Questo tipo di molino (**Figura 17**), è formato da una ruota interna che, munita di coltelli che girano velocemente, facendo saltare fuori i semi dalle silique. Le carrube frantumate, vengono fatte cadere in un crivello oscillante, dal quale le pezzature più piccole vengono fatte cadere in un recipiente che le raccoglie; quindi si ottiene polpa frantumata fine e polpa frantumata medio grossa.

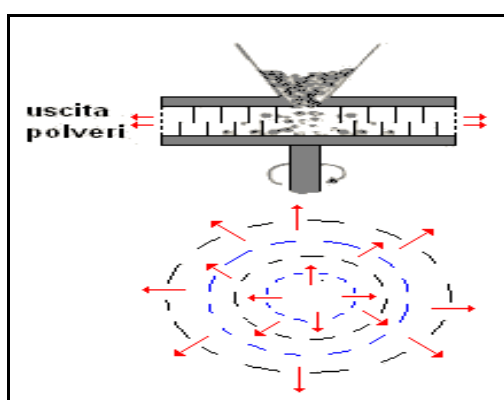


Figura 17. Schema di funzionamento di un molino a martello.

Operata la frantumazione, segue la vagliatura, operazione con conseguente separazione del seme dalla polpa, che può essere utilizzata come tal quale o come mangime per l'alimentazione del bestiame bovino, suino, ecc, oppure ancora frantumata fine o medio grossa.

Da questi due tipi di frantumazione, segue o l'insacco e la vendita come mangime semplice oppure una ulteriore lavorazione per ottenere una farina utilizzata come appetibilizzante nei concentrati alimentari per bestiame ed il carcao (farina di polpa di carruba tostata).

Il seme proveniente dai silos attraverso una coclea viene inviato nell'impianto di pulitura che opera l'eliminazione delle impurità eventualmente presenti, cioè residui di polpa, sabbia, pietrame, ecc mediante un processo meccanico. Il seme subisce quindi un processo termomeccanico

di decorticazione, che permette la separazione delle parti che lo compongono: il germe e i tegumenti dai quali viene prodotta la germina, un mangime utilizzato per l'alimentazione animale, e l'endosperma che viene ulteriormente lavorato per l'ottenimento dell'LBG.

La farina subisce una essiccazione istantanea a temperatura variabile fra 50 e 70°C a seconda della farina che si vuole ottenere; a tale processo segue il raffreddamento e la setacciatura, quindi la raccolta della farina in grossi sacchi contenenti farine di tipo A; B; C; a seconda la granulometria.

1.6 Composizione e campi di impiego della polpa di carruba

La composizione chimica della polpa dipende dalla cultivar, dall'origine geografica e dal grado di maturazione della carruba (Bravo *et al.*, 1994).

Contiene in media il 48-52% di carboidrati, principalmente costituiti da saccarosio (32-38%), glucosio (5-6%) e fruttosio (5-7%), il 18% di cellulosa ed emicellulosa e il 2-3% di ceneri, in cui prevalgono il potassio (1,1%) e il calcio (0,31%). Sono altresì presenti piccole quantità di lipidi (0,2-0,6%), con eguale proporzione di acidi grassi saturi ed insaturi (Rendina *et al.*, 1966), e di proteine contenenti gli amminoacidi alanina, fenilalanina, glicina, leucina, prolina, tirosina e valina (Batlle e Tous, 1997).

Costituisce un alimento alquanto nutriente, considerati gli elevati contenuti di zuccheri e di proteine, è fonte di diverse vitamine (A, B1, B2, B3, D) e di minerali come calcio, magnesio e potassio (Baraldi *et al.*, 2002).

Il saccarosio può essere estratto dalle polpe con particolari tecnologie e si presenta di ottima qualità se ricristallizzato. Il contenuto di saccarosio dei frutti aumenta rapidamente dalla fine del mese di maggio fino a raggiungere il massimo livello a metà agosto.

Molto interessante è il contenuto in pectine e tannini; le prime conferiscono proprietà curative e preventive di forme patologiche a carico

dell'apparato digerente, in particolare dei monogastrici, i secondi, grazie al loro potere astringente, possono coadiuvare nella terapia antidiarroica.

Dalla polpa si possono ottenere diversi prodotti, uno di questi è uno sfarinato al 10 % di umidità, che è macinato a una granulometria simile alla semola di mais e viene impiegato nella produzione di mangimi composti per l'alimentazione animale.

Una farina particolare, destinata al consumo umano, è quella che denominata commercialmente con il nome di "Carcao" (**Figura 18**). Trova largo impiego nelle produzioni dolciarie ed è notevolmente apprezzata per il gusto gradevole e l'elevato contenuto di zuccheri.



Figura 18. Carcao chiaro.

Si tratta di una farina tostata che può trovare largo impiego nel settore alimentare. Le sue caratteristiche di base ne fanno un surrogato della polvere di cacao, con il vantaggio di avere un contenuto di grassi molto basso, un'assenza quasi totale di teobromina (3,7-dimetilxantina, alcaloide naturale) e un elevato contenuto in zuccheri invertiti.

Il carcao quindi è ampiamente impiegato sia nella produzione di alimenti dietetici sia nel settore dei dolci; può essere utilizzato da solo o

in combinazione con il cacao, in quanto non ne modifica ne il gusto ne il colore.

La farina di polpa può essere aggiunta anche agli integratori minerali (Lanza *et al.*, 1995).

Le popolazioni della Sicilia, un tempo, preparavano i *mustazzoli* o mostaccioli, biscotti, pasta, dolci, mostarda, marmellata di polpa macinata. Con il frutto intero torrefatto, in diversi paesi europei, si ottiene un gustoso surrogato del caffè e del cioccolato. In Turchia, dalla polpa, si ricavano liquori e nei Paesi Arabi paste, Tamarindo, sorbetti e sciroppo.

L'elevato contenuto in zuccheri di cui è dotata la polpa, è un fattore di notevole importanza per quanto riguarda il possibile impiego nell'alimentazione delle bovine da latte: a diverso grado di frantumazione, può essere utilizzata tal quale, come mangime semplice, oppure, se sottoposta ad ulteriore lavorazione (farina micronizzata) trova impiego come appetibilizzante nei concentrati alimentari per bestiame.

Diverse ricerche hanno evidenziato il potenziale impiego delle carrube nel campo farmaceutico, la farina di polpa contiene circa il 20% di sostanze polifenoliche rappresentate in gran parte da tannini, alcuni dei quali trovano oggi impiego nel trattamento delle patologie degenerative dovute all'eccesso di radicali liberi e nella prevenzione di alcune patologie neoplastiche.

Una parte dei polifenoli è rappresentata da catechine (acido gallico, epicatechina gallato, epigallocatechina gallato). Studi condotti sulle catechine hanno evidenziato una marcata riduzione della proliferazione cellulare in modo dose-dipendente su colture cellulari tumorali epatiche (Baraldi *et al.*, 2002), risulta dunque conveniente l'estrazione delle catechine presenti nella farina di carrube per ottenere formulazioni di tipo farmaceutico. Un grande vantaggio nel possibile impiego degli estratti di carrube, rispetto agli estratti di tè verde, che presentano proprietà simili, è rappresentato dall'assenza nei primi di sostanze ad attività eccitante sul

sistema nervoso centrale per cui si possono evitare i costosi processi di decaffeinizzazione.

L'individuazione della presenza di quantità elevate di polifenoli nel carrubo e in particolare di catechine capaci di inibire in vitro la proliferazione cellulare appare un fenomeno positivo nella ricerca di composti utilizzabili nella prevenzione. Inoltre i tannini estratti dalle farine possono trovare utilizzo nella formulazione di prodotti no-food utilizzabili a scopo salutistico.

1.7 Composizione e campi d'impiego del seme di carruba

I semi di carruba, come detto precedentemente, sono costituiti dall'episperma o pellicola esterna (30-33 % in peso), dall'endosperma o gomma (42-46 %), e dal germe (23-25 %) (Newcom *et al.*, 1988).

Il tegumento è costituito da lignina e cellulosa e contiene anche pigmenti e sostanze antiossidanti, l'endosperma è caratterizzato da un elevato contenuto di galattomannani, una classe di polisaccaridi che possiede la proprietà di legare l'acqua formando soluzioni viscose e stabili già a basse concentrazioni (≤ 1 %) in un ampio intervallo di pH e temperatura.

L'embrione è ricco di proteine (5,2 %), di carboidrati (27 %) e di lipidi (8 %), costituendo pertanto un alimento idoneo per l'alimentazione umana ed animale.

La notevole variabilità della composizione del seme, oltre che alla cultivar, è dovuta anche al metodo di lavorazione adottato per separare le varie parti. Il seme di carruba è particolarmente duro; il tegumento, formato da tre strati incrociati, infatti è impermeabile e non si lascia scalfire facilmente. La parte più importante del seme è l'endosperma, che è molto ricco di carrubina, una sostanza chimica derivante dalla combinazione di mannoni e galattoni idrosolubili. Tale sostanza fornisce pseudo soluzioni di altissima viscosità ed ha la proprietà di assorbire acqua fino a 40 volte il suo

peso secco. È presente nel mercato come farina di semi di carruba (LBG) allo stato secco con la seguente composizione: D-galatto-D-mannoglicone (88%), altri polisaccaridi (5%), proteine (6%) e ceneri (1%).

Caratteristica tipica dell'LBG, inclusa nella lista positiva degli additivi autorizzati nell'Unione Europea (codice E 410), è l'elevata stabilità a caldo che ne fa un additivo insostituibile per molte applicazioni nell'industria alimentare. La sua dose giornaliera accettabile (D.G.A.) è senza limite perché i risultati di studi biochimici, tossicologici e nutrizionali hanno dimostrato che è esente da rischi per la salute umana quando il suo impiego è condotto secondo buona tecnica.

I galattomannani (**Figura 9**) sono polisaccaridi neutri di riserva costituiti da catene lineari di β -D-mannosio legate 1 \rightarrow 4, con ramificazioni di unità di α -D-galattosio legate 1 \rightarrow 6 e spaziate in modo non regolare, ci sono circa 3,5 (2,8-4,9) residui di mannosio per ogni residuo di galattosio.

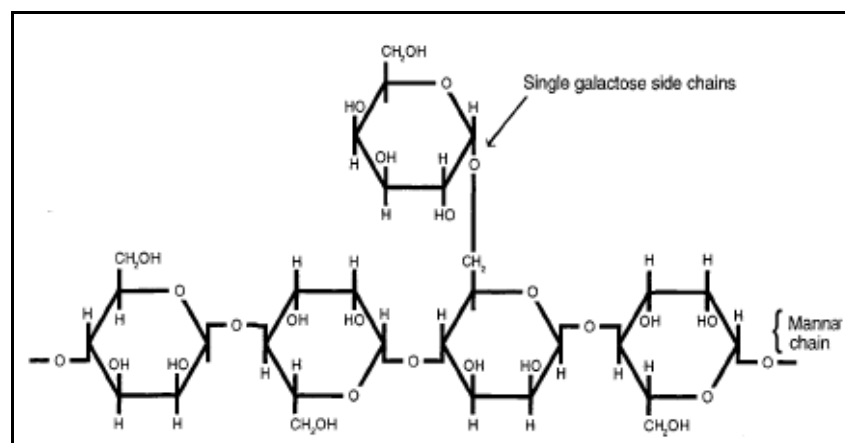


Figura 19. Struttura molecolare del galattomannano.

Nel dettaglio un più alto valore M/G è un indice di maggiore linearità dei polimeri, cioè un più ridotto numero di galattosi in catena laterale e un più grande volume effettivo delle macromolecole (Belitz e Grosch, 1999).

La sua principale funzione d'uso è quella di migliorare le proprietà addensanti dei prodotti alimentari, incrementandone la consistenza e la sofficità, per questo trova vasto impiego nel settore delle tecnologie alimentari da sola o in combinazione con altri ingredienti. Altre importanti funzioni riguardano la prevenzione della formazione dei cristalli di ghiaccio negli alimenti congelati e surgelati, la stabilizzazione delle fasi liquide immiscibili (emulsioni), delle fasi liquido-gas (schiume) e delle fasi liquido solide (dispersioni). Inoltre ha la capacità di abbassare l'aw (attività dell'acqua), contribuendo alla prevenzione dello sviluppo della carica microbica e dell'insorgenza di indesiderate trasformazioni a carico dei costituenti alimentari, come la degradazione dell'amido.

1.8 I galattomannani

I galattomannani hanno attratto considerevolmente l'attenzione scientifica ed industriale a causa delle loro specifiche proprietà chimiche e fisiche, in aggiunta alle precipue funzioni biologiche. Sono polisaccaridi neutri di riserva, aventi struttura basica, ad eccezione di quelli provenienti dai semi di carrubo, e differiscono tra loro per la percentuale variabile di residui di D-mannosio e D-galattosio, che porta ad un diverso rapporto mannosio/galattosio (M/G); differiscono anche per la distribuzione sequenziale dei sostituenti del galattopiranoside nella struttura del mannopiranoside, per il peso molecolare e per la struttura che dipende dall'origine botanica.

Quelli di maggior interesse commerciale sono isolati dall'endosperma di alcune leguminose, ed ottenuti dai semi di *Ceratonia siliqua* e da *Cyamopsis tetragolonobus* meglio noti rispettivamente come farina di semi di carruba e farina di guar o più semplicemente come gomme di LBG e guar.

In termini di relazione tra struttura chimica e proprietà, il contenuto medio in galattosio, nonché la distribuzione delle sue unità lungo la

struttura, ha dimostrato avere una forte influenza sulle proprietà fisiche di tali galattomannani.

La differenza nel grado di sostituzione del galattosio causa delle differenze nella solubilità in acqua; nella fattispecie LBG mostra bassa solubilità a temperatura ambiente ed il riscaldamento termico ($T \approx 80^\circ\text{C}$), unito ad agitazione energica, è necessario per raggiungere il suo massimo valore (Kok, *et al.* 1999b).

Poiché la solubilità in acqua di LBG è relativamente bassa a basse temperature sono stati prodotti dei derivati per aumentarne la solubilità mediante carbossilazione, idrossilazione, esterificazione e fosforilazione (Garcia-Ochoa *et al.*, 1992).

Una bassa percentuale di galattosio produce una forte interazione sinergica con altri biopolimeri ed una migliore capacità individuale nel formare gel, capacità basata sulle interazioni di mannosio non inibito con galattosio.

È stato anche dimostrato che i monomeri di galattosio sono distribuiti in modo casuale lungo la struttura del mannosio ed i galattomannani che possiedono strutture mannosiche non inibite con il galattosio mostrano maggiore efficienza (Richardson *et al.*, 1998). Alla stregua di altri idrocolloidi polisaccaridici, i galattomannani sono polimeri molto idrofilici, solubili in acqua ma insolubili in solventi organici, rigidi, ed inaspettatamente esibiscono una significativa attività superficiale; essi possono essere inoltre precipitati da soluzioni acquose per addizione di solventi idrofili come alcol etilico. Un'importante caratteristica di tali polisaccaridi è l'alta viscosità delle soluzioni acquose che mostrano un comportamento non newtoniano secondo cui la viscosità decresce con il gradiente di velocità anche a bassa concentrazione (1%) ed in un ampio range di temperatura e pH.

In soluzione, questi polisaccaridi esistono in uno stato mobile di “gomitolo disordinato” e le loro proprietà reologiche derivano strettamente da tale “random coil”.

Tale comportamento è stato indagato in termini di “associazione intermolecolare”, verificato tramite il confronto tra soluzioni in condizioni alcaline ed a pH neutro alla stessa forza ionica totale (Goycoolea *et al.*, 1995).

Il rapporto M/G controlla il meccanismo e la temperatura a cui avviene la gelificazione; per bassi contenuti in galattosio (valori di $M/G \geq \approx 3$) le interazioni sono state descritte a temperature generalmente più alte di 45°C (Bresolin *et al.*, 1999).

È stato studiato anche il comportamento di tali polisaccaridi in miscele proteiche contenenti: galattomannani provenienti da LBG ($M/G \approx 3,5$) e caseine purificate (α , β e k); si è osservata la sedimentazione delle caseine quando il sistema è mantenuto per una notte a 4°C, suggerendo una molto debole interazione tra i biopolimeri.

Sebbene le gomme siano essenzialmente usate per accrescere la stabilità di un'emulsione, aumentando la viscosità della fase acquosa, esse possono avere anche l'effetto opposto e dare origine ad una “diminuzione della flocculazione”. Questo fenomeno avviene come conseguenza dell'esclusione dei polimeri dalle particelle che si avvicinano (droplets).

In seguito ai vari trattamenti termici che i preparati alimentari subiscono, come ad esempio la sterilizzazione, le gomme vengono ad essere sottoposte ad alte temperature. Questi processi provocano la solubilizzazione del polimero, ma possono anche causare la degradazione a cui segue una perdita o un abbassamento della viscosità. L'LBG viene adoperata negli alimenti sterilizzati, da sola o in combinazione con xantano e/o carragenine, tali miscele sono infatti note per la loro azione sinergica che si esplica con una viscosità superiore a quella ottenibile con le singole gomme, alla stessa concentrazione polimerica totale (Kok *et al.*, 1999a). In

particolare le migliori capacità viscosizzanti si esplicano per rapporti 50:50 per le miscele LBG/carragenine (**Figura 20**) e 60:40 per quelle LBG/xantano (**Figura 21**).

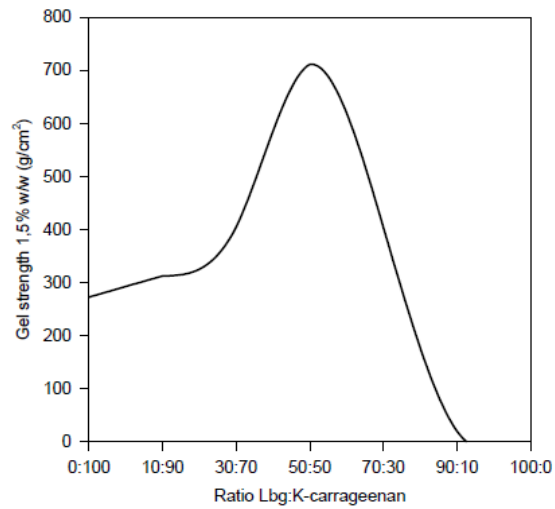


Figura 20. Andamento della viscosità in miscele LBG/carragenine.

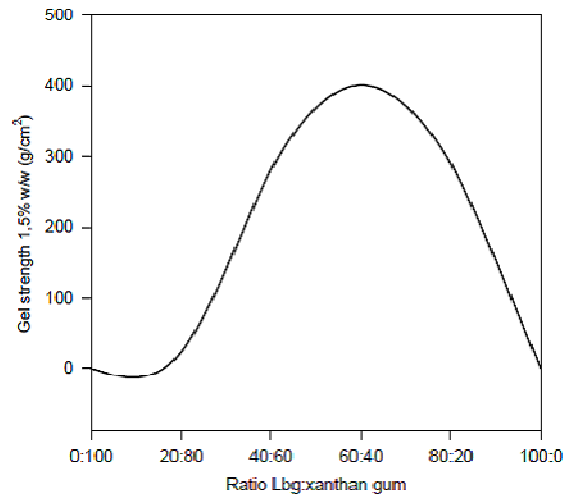


Figura 21. Andamento della viscosità in miscele LBG/xantano.

Sebbene il meccanismo molecolare di tale fenomeno sinergico sia ancora oggetto di studio, si ritiene che tale effetto sia dovuto probabilmente ad interazioni specifiche tra lo xantano e la catena di galattomannani.

1.9 Principali applicazioni della farina di semi di carruba

La farina di carruba (E410) deve possedere delle caratteristiche di purezza che sono indicate nel regolamento CEE n.2568\91 e nel Decreto Legge n. 225\94.

- Gelati;

La farina di semi di carruba impiegata in dosi di 0,1 - 0,3 % nei gelati artigianali conferisce una struttura uniforme e vellutata, evitando la formazione di cristalli di ghiaccio. Non altera inoltre le proprietà organolettiche e durante il consumo rende lenta e cremosa la fusione. Nella produzione di gelati industriali, in combinazione con altri stabilizzanti, oltre a conservare le suddette proprietà organolettiche, si adatta bene ai moderni processi di pastorizzazione.

- Salse, condimenti, maionese, prodotti in scatola;

In tutti i prodotti emulsionati, come alcune salse e maionese, la farina di semi di carruba (sola o in combinazione con altri additivi) ha ottime proprietà stabilizzanti e addensanti, specialmente quando tali emulsioni sono sottoposte a trattamenti termici e meccanici come richiesto dalle moderne tecnologie di conservazione.

La struttura conferita a questi prodotti risulta notevolmente più leggera e palatabile che non quella ottenuta con l'utilizzo di soli amidi e farine.

La resistenza di questa farina ai trattamenti termici (sterilizzazione) la rende ormai indispensabile anche per prodotti a base di carne in scatola, in combinazione con agar-agar o carragenine.

E' infatti noto che l'agar-agar e in misura anche maggiore la gelatina animale, hanno una bassa resistenza ai cambiamenti di temperatura.

Se i prodotti vengono immagazzinati a temperature troppo alte, o troppo basse, si possono avere sensibili alterazioni della consistenza della gelatina rendendola o troppo fluida, o eccessivamente dura.

Una combinazione della farina di semi di carruba con altri gelatinizzanti darà delle gelatine perfettamente stabili, anche se immagazzinate nelle condizioni più sfavorevoli.

- Prodotti surgelati;

La farina di semi di carruba esercita un'azione protettiva sulla struttura del prodotto finito, migliorandone la stabilità agli shock termici (congelamento e scongelamento) e contribuisce a dare al prodotto finito un aspetto più gradevole.

- Formaggi e altri prodotti derivati dal latte;

L'utilizzo di addensanti, quali la farina di semi di carruba, per la preparazione di alcuni tipi di formaggi freschi è pratica comune in alcuni paesi europei (Germania, Inghilterra e Stati Uniti).

L'utilizzo dell'LBG conferisce caratteristiche di cremosità e spalmabilità notevolmente migliori. Inoltre, è possibile eseguire su questi prodotti dei trattamenti termici senza incorrere in sgradevoli coagulazioni o cambiamenti della struttura del formaggio.

Negli yogurt oltre che addensare il prodotto, funziona da stabilizzante, evitando la separazione di siero.

In molti dessert a struttura gelatinizzata come i budini, l'aggiunta di farina di semi di carruba permette di evitare fenomeni di sineresi.

- Prodotti carnei;

La farina di semi di carruba, per le sue spiccate proprietà leganti e stabilizzanti delle emulsioni grasso-acqua in alcuni paesi europei viene utilizzata per la produzione di insaccati quali salsicce, wurstel, ecc. Permette di ottenere una pasta più omogenea, con maggiore stabilità e con una struttura più morbida. Inoltre, il suo effetto lubrificante facilita le operazioni di estrusione ed insaccamento.

- Semilavorati di frutta;

Sono destinati all'industria lattiero casearia e in pasticceria, l'LBG permette di mantenere la stabilità durante i processi di trasformazione cui sono sottoposti

L'LBG trova impiego anche nel settore dell'alimentazione animale; impiegata in combinazione con altri gelatinizzanti (carragenine) per la preparazione di alcuni tipi di pet-food (cibi pronti in scatola per cani e gatti).

Inoltre la farina di semi di carruba è utilizzata nell'industria tessile e cartaria come addensante per la stampa.

Nell'industria farmaceutica trova impiego come legante e disintegrante per compresse e pillole, come addensante per pomate ed ungenti e come emolliente per colliri. Altri usi si registrano nell'industria di esplosivi, nella concia delle pelli, nella formulazione di detergenti (Savarino *et al.*, 2009).

2 APPLICAZIONE DELLA FARINA DI SEMI DI CARRUBA (LBG) COME EDIBLE COATING

2.1 *Film e rivestimenti edibili*

Il confezionamento è un intervento tecnologico finalizzato ad una protezione dell'alimento dai molteplici processi di alterazione responsabili di una riduzione della qualità sensoriale, nutrizionale e igienico-sanitaria. Pertanto, le proprietà e le prestazioni dell'imballaggio svolgono un ruolo fondamentale nella definizione della vita commerciale (shelf-life) di un prodotto confezionato, poiché da esse dipende un possibile controllo dei fenomeni di permeazione tra il microambiente all'interno della confezione ed il macroambiente esterno all'imballaggio. Un elevato numero di alterazioni è correlato a scambi gassosi tra alimento e ambiente, che possono ad esempio, favorire i processi di ossidazione dei lipidi in presenza di ossigeno, i fenomeni di adsorbimento o desorbimento di umidità con conseguente modificazione della consistenza dell'alimento o lo sviluppo di microrganismi aerobi o anaerobi.

L'interesse per i film edibili è legato alla capacità di fungere da barriera con l'esterno e quindi di regolare i processi che potrebbero compromettere la salubrità e le proprietà sensoriali dell'alimento. Inoltre va diffondendosi l'uso dei film edibili anche come active packaging, ovvero come veicoli di sostanza di varia natura (antiossidanti, antimicrobici, emettitori, assorbitori, aromi) per migliorare la qualità e la shelf-life degli alimenti.

I film e i rivestimenti edibili sono definiti come “*un sottile strato di materiale commestibile applicato sugli alimenti come rivestimento, film o come componente dell'alimento stesso, quindi ingerito insieme ad esso, con l'obiettivo di estendere la shel life*” (Weber, 2000).

Non esiste una chiara distinzione tra i due termini, ma in genere si dice che i rivestimenti *commestibili* vengono applicati direttamente sugli

alimenti mediante contatto, sottoforma di soluzione inizialmente liquida, successivamente asciugata, aderendo così all'alimento. Sono parte integrante del prodotto alimentare e quindi non devono avere un impatto negativo sulle caratteristiche sensoriali dell'alimento (Guilbert *et al.*, 1997). Mentre i *film commestibili* sono una struttura a parte dagli alimenti, vengono prodotti anticipatamente, preformati attraverso le tecniche di film forming utilizzati per i materiali plastici e successivamente applicati agli alimenti (Weber, 2000).

I rivestimenti ed i film edibili non vogliono, ne possono, sostituire del tutto i materiali sintetici utilizzati per gli imballaggi alimentari nel prolungare lo stoccaggio dei prodotti, ma la loro utilità sta nella capacità di agire come ulteriore elemento per migliorare la qualità globale dell'alimento, prolungando la shelf life e incrementando l'efficacia del materiale di confezionamento (Kester et Fennema, 1986).

I film edibili rispetto ai materiali tradizionali presentano una serie di vantaggi:

- Riduzione degli scarti, in quanto possono essere consumati con l'alimento e dell'inquinamento ambientale anche se non ingeriti, poiché degradati più velocemente rispetto a quelli sintetici;
- Miglioramento delle proprietà organolettiche dell'alimento confezionato, a condizione che siano incorporati in essi aromi, coloranti ed edulcoranti;
- Miglioramento del valore nutrizionale all'alimento, in particolare se ricavato da sostanze proteiche;
- Applicati all'interno di alimenti eterogenei, nell'interfaccia tra gli strati dei diversi componenti, evitano le migrazioni tra i diversi componenti;
- Possono essere impiegati come vettori di agenti antimicrobici, antiossidanti, aromi e agenti lievitanti a rilascio;

- Possono essere utilizzati, nei materiali d'imballaggio multistrato, insieme a film non edibili, nella parte interna a diretto contatto con alimento.

Per ottenere i film edibili vengono utilizzati principalmente polisaccaridi, proteine, lipidi derivati da vegetali o animali, usati singolarmente o in miscela tra loro. Come regola generale i lipidi vengono usati per ridurre la perdita d'acqua, i polisaccaridi la perdita di ossigeno e altri gas e le proteine per fornire stabilità meccanica; Naturalmente film a composizione mista posseggono caratteristiche tipiche delle molecole che li compongono.

Le tecniche di applicazione dei film edibili sono diverse e la scelta viene fatta sia in base alle caratteristiche del film che in base al tipo di alimento che si vuole rivestire (geometria composizione, ecc.).

Esistono due modalità di applicazione, quella indiretta e quella diretta.

Tra le modalità indirette la più usata è il casting o laminazione. Questa tecnica permette di ottenere film auto supportanti che non vengono formati direttamente sull'alimento. La laminazione è una tecnica semplice che permette di ottenere film dello spessore desiderato stendendo uno strato di soluzione o dispersione filmogena su una superficie piana e liscia dove questa viene asciugata (cutter), ottenendo film più o meno flessibili da avvolgere intorno l'alimento, il metodo più utilizzato è l'estrusione.

Tra i metodi di applicazione diretta troviamo lo spraying o nebulizzazione e il dipping o immersione; lo spraying (metodo a spruzzo) consiste nell'applicazione della base filmogena all'alimento mediante nebulizzazione attraverso un sistema di ugelli. È una tecnica usata su alimenti che devono essere rivestiti solo su una superficie o per l'applicazione di un secondo strato di film, anche perché lo spessore del film risulta più sottile rispetto a quello ottenuto per immersione. Tale tecnica è

utilizzata per proteggere la base croccante della pizza dall'umidità della salsa di pomodoro.

Il Dipping (metodo per immersione) è una tecnica che si presta per alimenti che richiedono diverse applicazioni di materiali di rivestimento o per ricoprire in modo omogeneo una superficie irregolare. Dopo l'immersione nella soluzione filmogena il materiale in eccesso viene fatto sgocciolare dal prodotto e la copertura viene lasciata asciugare o solidificare. È un metodo usato soprattutto per l'applicazione di film edibili a piccole quantità di prodotto, per ricoprire carne pesce, frutta e verdura.

2.2 Film edibili a base di galattomannani

La bibliografia inerente l'uso dei mannani nella formulazione dei film edibili non è molto vasta, i più studiati sono i rivestimenti a base di mannani estratti dal tubero di konjac (*Amorphophallus konjac*, pianta erbacea perenne appartenente alla famiglia delle Aracee) e in misura minore quelli a base LBG e nella gomma di Guar.

A differenza dei mannani dell'LBG e della gomma di Guar, quelli presenti nella radice di konjac (KGM) sono costituiti da una catena di unità β -1,4-D-glucosio e β -1,4-D-mannosio, circa il 5% dei quali acetilato, con un rapporto di mannosio/glucosio di 1,6:1 (Takigami, 2000). Le masse molecolari dei mannani della gomma di guar, dell'LBG e della radice di Konjac sono circa di 1000 kDa (Dea e Morrison, 1975;. Li *et al.*, 2006a).

Il glicerolo e il sorbitolo sono i plasticizzanti più comunemente utilizzati per questi film, il KGM si distingue perché in grado di formare film anche senza aggiunta di plasticizzante.

Per migliorare le proprietà meccaniche dei film, KGM è spesso mescolato con altri polimeri, quali pullulan, alginato, polivinilalcol, carbossimetilcellulosa, chitosano e gelatina.

I film sono stati comunemente caratterizzati con prove di trazione, DSC, diffrazione ai raggi X, FTIR e SEM. alcune ricerche riportano anche i

risultati di misure termogravimetriche (TGA), analisi dinamico meccanica (DMA), trasmissione luminosa, water vapor permeabilità (WVP).

Aydinli e Tutas (2000) hanno studiato la permeabilità al vapore acqueo (WVP) di film LBG plastificato con polietilene glicole (PEG) 200, PEG 400, PEG 600 e PEG 1000. la WVP più bassa si è avuta per il film plastificato con PEG 200. Gli autori hanno concluso che i valori di WVP del film di LBG erano allo stesso livello di quelli di cellulosa derivata da film. In un altro lavoro è stato anche esaminato l'effetto della quantità e la massa molare del PEG sulla trasmissione della luce e sulle proprietà meccaniche (Aydinli *et al.*, 2004). Il PEG 200 è risultato essere il plasticizzante più adatto sia in termini di proprietà meccaniche che di trasmissione della luce.

I film a base di KGM sono forti e flessibili, con resistenza alla trazione pari a 80 MPa e allungamento a rottura pari al 33% (Ye *et al.*, 2006). Tuttavia, gli autori non hanno segnalato l'umidità relativa (RH) in cui è stata fatta la misurazione, e l'effetto della plastificazione sull'acqua dovrebbero essere preso in considerazione (Talja *et al.*, 2007). I lavori sui film di KGM composti riportano un rapporto di miscela ottimale che migliora le prestazioni del film, per esempio, quando mescolato con chitosano, la resistenza alla trazione massima è stata raggiunta in corrispondenza del rapporto KGM- chitosano pari a 80:20 (Ye *et al.*, 2006). La migliore resistenza alla trazione di film KGM / gelatina si ha per un contenuto in KGM pari al 40% (Li *et al.* 2006b).

La parziale idrolisi di KGM porta a una riduzione del peso molecolare e ad una maggiore polidispersità, che comporta un aumento del modulo di Young e della resistenza alla trazione di film (Cheng *et al.* 2007). Tuttavia, al crescere del grado di idrolisi aumentano l'acqua di assorbimento e WVP del film. L'aggiunta di gelatina migliora la resistenza del film alla termosaldatura, il più alto calore di saldatura si può applicare al film con un contenuto di KGM del 40% (Li *et al.*, 2006b). La solubilità in acqua dei film KGM è una proprietà desiderata per pacchetti utilizzati per prodotti come

spaghetti istantanei, caffè solubile, tè e latte in polvere (Hartman *et al.*, 2006a).

2.3 Effetto dell'LBG nella formulazione di coating alimentari

I principali polisaccaridi, utilizzati per la produzione di film e rivestimenti edibili, sono le pectine, l'amido, l'alginato, il chitosano, la carragenina e derivati della cellulosa; questi impartiscono ai film compattezza, durezza, qualità d'ispessimento, viscosità, adesività e abilità nel formare gel (Baldwin *et al.*, 1995; Ben et Kurth, 1995; Cutter et Sumner, 2002; Glicksman, 1983; Nisperos-Carriedo, 1994; Whistler e Daniel, 1990).

Mentre i film lipidici possono indurre a condizioni anaerobiche, film composti da polisaccaridi presentano eccellente permeabilità ai gas, con conseguente produzione di atmosfere modificate prolungando il periodo di conservazione del prodotto senza creare condizioni anaerobiche (Baldwin *et al.*, 1995). Inoltre, i film e i rivestimenti a base di polisaccaridi possono essere utilizzati per estendere la shelf-life degli alimenti base di carne prevenendo la disidratazione, l'irrancidimento ossidativo e l'imbrunimento della superficie (Nisperos e Carriedo, 1994).

A causa della costituzione delle catene polimeriche, film polisaccaridici possono esibire dunque bassa permeabilità ai gas, ma per la loro natura idrofila posseggono una buona capacità di barriera al vapore acqueo (Ben e Kurth, 1995).

L'LBG presenta queste caratteristiche di permeabilità ai gas e di barriera al vapor d'acqua tipiche delle molecole polisaccaridiche.

Uno studio recente, che ha valutato l'effetto di un rivestimento di LBG su salsicce, ha dimostrato da un lato l'effetto barriera nei confronti dell'umidità che ha migliorato la shelf-life (fino a 12 giorni a 5°C) dei preparati carnei e dall'altro ha evidenziato le ricadute positive del film anche nella fase di cottura, diminuendo l'assorbimento di grassi da parte della carne durante la frittura.

Un'altra ricerca ha valutato la resistenza al calore dell'LBG mostrando che questo polimero resiste fino a 300°C, può trovare applicazione quindi anche nel settore dei prodotti da forno (Aydinli *et al.*, 2004).

3 CARATTERISTICHE GENERALI E PROBLEMATICHE DI CONSERVAZIONE DEL GAMBERO FRESCO

3.1 Aspetti morfologici

Il Parapenaeus longirostris (Lucas, 1846), noto come gambero bianco o gambero rosa, è un crostaceo di elevato valore commerciale, per tanto intensamente sfruttato; abbastanza comune, distribuito nell'intero bacino Mediterraneo e nell'Atlantico, sia occidentale (dal Massachusetts alla Guyana Francese) che orientale (dal Portogallo all'Angola).

La specie, pur essendo diffusa in tutti i mari italiani, risulta molto più abbondante nel Tirreno centrale, nel canale di Sicilia e nello Ionio.

P. longirostris appartiene al vasto ordine dei Decapodi e rientra, insieme ad altre importanti specie commerciali come la mazzancolla (*Melicertus kerathurus*), nella Famiglia *Penaeidae*. L'ordine dei Decapodi, con oltre 10.000 specie, è il più vasto dei crostacei e raggruppa organismi che è possibile grossolanamente individuare nei gamberi, granchi, paguri e aragoste.

Il corpo dei Decapodi è diviso in due regioni: il cefalotorace, che deriva dalla fusione di 6 metameri o segmenti cefalici e di 8 metameri toracici; l'addome composto da 6 segmenti. I diversi segmenti sono muniti di appendici specializzate, deputate allo svolgimento di varie funzioni. I primi tre segmenti toracici presentano appendici specializzate nella funzione masticatoria (massillipedi), mentre le 5 paia di appendici dei metameri posteriori hanno funzione locomotoria (da cui deriva il nome Decapodi, 10 zampe) e sono dette pereiopodi. Le appendici dell'addome prendono invece

il nome di pleopodi. I Decapodi vengono suddivisi in due grandi gruppi o sottordini in base alla morfologia del corpo, che è strettamente legata alle abitudini e all'ambiente di vita: i Natanti, abili nuotatori caratterizzati da corpo compresso lateralmente, addome sviluppato, pleopodi adatti al nuoto; i Reptanti, che invece hanno corpo compresso dorso-ventralmente, pleopodi piccoli e non natatori. Il gambero rosa rientra nel sottordine dei Natanti, conosciuti con il nome generico di gamberi.

Come tutti i Peneidi il corpo del gambero rosa è compresso lateralmente e la parte anteriore (cefalotorace) è ricoperta da un carapace da cui si diramano 13 paia di appendici (**Figura 22**).



Figura 22. Esemplare di *P. longirostris*.

Sul carapace, in corrispondenza del quale l'esoscheletro è più calcarizzato ed ispessito, è presente a livello della regione gastrica un caratteristico dente che permette di distinguere facilmente il gambero rosa dagli altri Peneidi (Falciai et Minervini, 1992); sulla superficie laterale sono presenti due suture longitudinali ben evidenti. Sono, poi, presenti le spine antennale, epatica e branchiostegale. La superficie esterna del gambero rosa è praticamente liscia e priva di setole.

Il rostro del gambero rosa è diritto o appena sinuoso e leggermente incurvato verso l'alto, dotato di 5-9 spine nella parte dorsale e privo di spine in quella ventrale. Il rostro prosegue posteriormente in una carena fin quasi al bordo del carapace. Il telson, che presenta un solco mediano dorsale, è ristretto, acuto, con tre denti fissi.

Gli occhi sono pedunculati e privi di tubercoli. La colorazione di *P. longirostris* è rosa-arancio tendente al rosso-violaceo sul carapace e, soprattutto, sul rostro. Nelle femmine la colorazione delle gonadi varia dal bianco al verde in funzione dello stadio di maturità sessuale; nelle femmine mature, come succede in molti crostacei, è possibile osservare in trasparenza gli ovari verdi. Questa specie presenta dimorfismo sessuale e le femmine sono più grandi dei maschi; la lunghezza totale massima riscontrata è stata di 19 cm su individui femmina (Fischer *et al.*, 1987).

Dagli studi effettuati sembra che il gambero rosa possa raggiungere i 3-4 anni (Levi *et al.*, 1995). Il nome inglese della specie è *deep-water rose shrimp*; infatti, il gambero rosa popola i fondali da 20 a 700 m di profondità risultando però più abbondante su fondi sabbio-fangosi del piano batiale tra 100 e 400 m (Bombace, 1972).

La distribuzione batimetrica di *P. longirostris* sembra essere legata alle dimensioni degli individui; infatti, generalmente gli esemplari di dimensioni minori si rinvencono a profondità ridotte (massimo 200 m), mentre gli individui più grandi appaiono molto più abbondanti oltre i 200 m (Ribeiro-Caschallo et Arrobas, 1987). Già Frogliani (1974) aveva osservato questo fatto nelle acque siciliane, sottolineando come la taglia media degli esemplari catturati aumentasse all'aumentare della profondità; in particolare, individui con carapace inferiore a 20 mm erano abbondanti in fondali inferiori a 250 m e praticamente assenti oltre i 400 m.

Il gambero rosa presenta uno spettro alimentare piuttosto ampio; infatti, alterna fasi di predazione attiva in cui si ciba di cefalopodi, pesci e crostacei di piccole dimensioni ad altre in cui invece si limita a setacciare il

fondale in cerca di prede più facili come bivalvi, vermi policheti, gasteropodi ed echinodermi.

3.2 *Modalità di pesca*

Il gambero rosa viene pescato principalmente con reti a strascico e rappresenta un'importante specie commerciale per le flotte di tutti i paesi Mediterranei, soprattutto italiane e francesi; la specie viene intensamente pescata anche al largo del Senegal; tuttavia, in questa zona la sua importanza economica è minore. In Italia, come accennato, le aree di maggior abbondanza della specie sono il Tirreno centro meridionale, il Canale di Sicilia, lo Ionio e il sud Adriatico. Negli ultimi anni, tuttavia, la risorsa sembra aver subito un incremento anche nel centro-nord Adriatico.

Il gambero rosa non rappresenta mai la principale specie bersaglio di un'attività di pesca, ma viene sempre catturato in associazione ad altre specie che vivono nella stessa zona e che hanno un'importanza commerciale superiore, come naselli, seppie, rane pescatrici, ecc.; ma, forse pure in dipendenza di un aumento della richiesta di mercato, ultimamente i pescatori pongono molta più attenzione e pazienza durante le fasi di cernita del prodotto a poppa, anche durante i periodi in cui l'abbondanza della specie è minore.

Le catture più abbondanti di gambero rosa vengono realizzate nei mesi invernali, fino a primavera inoltrata, nonostante la specie sia reperibile nei mercati in piccole quantità tutto l'anno. Inoltre, una certa stagionalità nella cattura è osservata in relazione alle condizioni meteo-marine o alla maggiore disponibilità di altre specie commercialmente in competizione con il gambero rosa, quali il gambero rosso (*Aristaeomorpha foliacea*) e il gambero viola (*Aristeus antennatus*). Sia la normativa italiana che quella europea non stabiliscono taglie minime di cattura per questa specie; in Italia, solo la Regione Sardegna con un Decreto dell'Assessore della difesa dell'ambiente (n. 412 del 10/5/1995) ha definito una dimensione minima di

cattura per il gambero rosa, ponendo come limite i 2 cm di lunghezza di carapace, anche se è ammessa una tolleranza del 10% in peso di esemplari sotto misura sul totale catturato.

3.3 *Consumo e valore nutrizionale*

Il gambero rosa ha carni molto buone e dal gusto delicato, ma il valore economico è inferiore rispetto ad altri peneidi come la mazzancolla. Viene commercializzato sia fresco che congelato.

In particolare la carne dei crostacei ha una composizione simile a quella del pesce magro. Per ogni 100 grammi di parte edibile, cioè di polpa privata di scarto, il contenuto in acqua oscilla tra 80-82 grammi mentre quello in grassi, molto basso, tra 1-2 grammi. Anche le proteine, come quelle dei pesci sono di elevata qualità: nei crostacei il loro contenuto oscilla tra i 14 e i 17 grammi ogni 100 grammi di parte edibile. Nei crostacei c'è da segnalare un contenuto in colesterolo più elevato che nei molluschi e nei pesci. I gamberi ne possono contenere da 95 a 180 mg ogni 100 grammi di parte edibile. Sono una buona fonte di zinco, magnesio, iodio e ferro. Il valore energetico è piuttosto limitato (al di sotto delle 100 kcal).

A livello commerciale il gambero rosa entra in diretta concorrenza con il gambero rosso e il gambero viola sebbene la sua durata di conservazione sia superiore a queste specie. La freschezza del prodotto, come in generale tutti i crostacei, è valutabile tramite alcuni fattori oggettivi: il gambero non deve odorare di ammoniaca, la testa non si deve staccare facilmente dal resto del corpo e non deve essere annerita, le carni devono essere sode, compatte e non frollate o liquefatte.

3.4 *Alterazione dei prodotti ittici*

Il pesce fresco ed i prodotti della pesca sono altamente deperibili in virtù della loro composizione. In normali condizioni di refrigerazione, la shelf life di questi prodotti è limitata dal deterioramento enzimatico e microbico. Tuttavia, a causa dell'incremento di richiesta da parte dei consumatori di prodotti freschi con una più ampia shelf life e con l'aumento dei costi energetici associati ai sistemi di conservazione con l'applicazione del freddo, l'industria di lavorazione del pesce sta attivamente cercando metodi alternativi per la preservazione della qualità e la commerciabilità dei prodotti ittici freschi e allo stesso tempo ridurre i costi energetici.

L'anno 2006 ha rappresentato un periodo di transizione nell'applicazione dei nuovi Regolamenti in materia igienico sanitaria (il *pacchetto igiene*: Reg. CE N. 852-853-854/2004 e i Reg. CE 2073-2074/2005), sia per i pescatori/acquacoltori, sia per i servizi ufficiali di controllo. Le nuove disposizioni comunitarie sono finalizzate alla massima tutela del consumatore, e definiscono chiaramente le responsabilità di ogni operatore della catena alimentare: produttori, trasformatori, commercianti, distributori, inserendo per la prima volta i produttori primari fra gli operatori del settore alimentare.

Questi regolamenti, applicabili in tutti i loro elementi a partire dal 2006 (ad esclusione del Reg. 178/2002, applicato già dal gennaio 2005), fissano i principi generali della legislazione sanitaria e riguardano tutte le attività del settore alimentare. Con il loro ingresso sono stati sostituiti i D.L. vi 530/92, 531/92, 155/97 e relative note, circolari e decreti collegati.

I potenziali rischi per la salute del consumatore, associati ad un'alta richiesta di pesce lontano dai luoghi di cattura, hanno intensificato l'attenzione verso tecniche di conservazione a lungo termine. Inoltre, la crescita della popolazione mondiale sottolinea la necessità di prevenire il deterioramento mantenendo l'alta qualità e la sicurezza soddisfacendo così la richiesta del mercato per cibi altamente proteici. A causa dell'alta

suscettibilità al deterioramento dei prodotti ittici subito dopo la pesca, i metodi di preservazione sono destinati a mantenere la freschezza e la qualità dal momento della cattura, proseguendo con la refrigerazione lavorazione e distribuzione fino al consumo. L'efficacia di ogni metodo di conservazione dipende dai meccanismi di deterioramento implicati.

Così, lo studio delle modificazioni biochimiche post-mortem nei prodotti ittici e la loro relazione con i vari meccanismi del deterioramento, è fondamentale per formulare strategie più efficaci per il prolungamento della shelf life dei prodotti della pesca.

La shelf life dei crostacei è molto breve, in particolare dei gamberi freschi, a causa del naturale deterioramento del prodotto e dello sviluppo di melanosi che lo rende non commerciabile facendolo apparire meno appetitoso.

Il deterioramento si riferisce ad ogni cambiamento dello stato dell'alimento tale da renderlo meno appetibile o addirittura tossico; questi cambiamenti possono accompagnarsi ad alterazioni del sapore, dell'odore, del colore e della consistenza. Il deterioramento dei prodotti ittici è il risultato di cambiamenti causati da reazioni biologiche e dall'attività metabolica dei microrganismi. La comparsa di questi due processi dipende da fattori specifici quali la composizione chimica del pesce, essenzialmente costituiti da quattro elementi: proteine, lipidi, carboidrati ed acqua.

In generale i meccanismi di deterioramento sono suddivisi in tre tipi: microbici, enzimatici e chimici.

3.4.1 *Deterioramento microbico*

A differenza di altri crostacei che possono essere venduti vivi, il gambero rosa anche per la tecnica di pesca adottata, dopo la cattura è soggetto rapida morte (Ray, 1996). Tenendo conto che il prodotto in genere viene venduto senza previa eviscerazione, i cambiamenti autolitici post-mortem si verificano più velocemente, inoltre i crostacei contengono un

elevato contenuto di composti azotati non proteici, facilmente metabolizzati dai microrganismi (Liston, 1982).

Particolare attenzione deve essere posta sul ruolo dei microrganismi nel deterioramento del pesce e sullo studio di strategie per ridurre la proliferazione microbica negli alimenti. I batteri presenti sulla superficie cominciano a metabolizzare i composti a basso peso molecolare, producendo composti volatili responsabili del deterioramento; inoltre l'uso improprio delle temperature e la non attenta manipolazione favoriscono l'invasione dei microrganismi nei muscoli naturalmente sterili, favorendo il deterioramento.

Molti studi hanno accertato che i microrganismi presenti sui prodotti ittici riflettono la popolazione microbica del loro ambiente. Prodotti ittici pescati in acque calde presentano una popolazione primariamente composta da mesofili Gram positivi come *Micrococcus*, *Cyreneformi*, *Bacillus*.; le specie pescate in acque fredde presentano microrganismi psicrofili Gram negativi come *Moraxella / Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* e *Vibrio*. Ciò spiega perché i prodotti ittici pescati in acque temperate, ricchi di psicrofili Gram negativi, si deteriorano più velocemente di quelli pescati in acque tropicali o fredde. Inoltre alcuni diminuiscono la lag fase prima del conseguente deterioramento se refrigerati o conservati in ghiaccio, come nel caso dei gamberi della specie *Panoidi* e *Pandalidi*. Microrganismi Gram negativi presenti sui gamberetti, *Aeromonas* e *Proteus*, attaccano le proteine muscolari rilasciando triptofano che sarà convertito successivamente in indolo attraverso l'azione un enzima triptofanasi, questi mostrano un notevole sviluppo a temperature relativamente elevate tra i 15 e 35 °C. La produzione di indolo è attualmente utilizzata per l'analisi sensoriale come indice correlato al forte odore del deterioramento caratteristico dei gamberi. Piccole quantità di indolo sono prodotte da batteri non proteolitici come i *Flavobacterium* solo dopo che il triptofano è stato

rilasciato dalla microflora psicrotofica come i *Pseudomonas* (Smith *et al.*, 1984).

Un altro composto volatile prodotto dall'attività enzimatiche dei microrganismi è l'ossido di trimetilammina (TMAO) prodotto sia per opera di enzimi edogeni come la trimetilammina ossidasi o batterici, quest'ultimi utilizzano la trimetilammina come accettore terminale di idrogeno, così possono crescere in condizioni atossiche.

3.4.2 Deterioramento enzimatico

Sebbene il deterioramento dei prodotti ittici è attribuito all'attività dei microrganismi contaminanti, la perdita di freschezza che spesso precede il deterioramento, implica inizialmente reazioni autolitiche controllate dagli enzimi endogeni presenti nei tessuti muscolari e provenienti dall'intestino producendo cambiamenti su diversi caratteri quali odore, colore e consistenza. Anche se questi cambiamenti qualitativi non necessariamente condizionano la qualità dell'alimento, spesso ne riducono l'appetibilità. La modificazione dei lipidi durante la manipolazione e l'immagazzinamento è responsabile del deterioramento chimico e sensoriale del prodotto. Queste specie ad alto contenuto lipidico, in particolare di acidi grassi poliinsaturi sono soggetti all'ossidazione enzimatica. Gli enzimi come la lipossigenasi, la perossidasi e gli enzimi microsomiali iniziano la perossidazione dei lipidi producendo idroperossidi. I prodotti di scarto di questi idroperossidi, aldeidi e chetoni, possono essere responsabili della perdita di odore.

Il problema della perdita dell'intensità del colore è uno dei più seri per quanto concerne i crostacei che si deteriorano rapidamente in virtù delle loro caratteristiche biologiche e biochimiche. Il fenomeno di decoloramento definito imbrunimento o melanosi inizialmente era attribuito all'attività microbica, adesso riconosciuto come un processo biochimico dovuto ad un complesso enzimatico definito polifenolossidasi (PPO). Questo complesso enzimatico attivo catalizza l'idrossilazione a benzochinoni dei *o*-

diidrossifenoli. I benzochinoni reagiscono non enzimaticamente con diversi componenti come le ammine, gli amminoacidi o O₂ formando le melanine, pigmenti bruni responsabili della colorazione scura che si sviluppa durante la conservazione (Martinez-Alvarez *et al.*, 2005).

L'interazione dei lipidi con proteine e altri costituenti muscolari genera implicazioni con i contenuti nutritivi e le caratteristiche del muscolo. I livelli di acidi grassi liberi, che si innalzano durante lo stoccaggio del pesce possono causare la denaturazione delle proteine e minare così la tessitura e la capacità di tenuta dell'acqua ovvero causare il "drip-loss".

3.4.3 Deterioramento chimico

L'effetto degli enzimi autolitici sul deterioramento dei prodotti ittici è il risultato della formazione di idroperossidi. Tuttavia, vi sono altri tipi di deterioramento legati alla formazione di perossidi come quelli non enzimatici, vale a dire la rancidità ossidativa e l'imbrunimento non enzimatico, dovuti a cambiamenti chimici nel tessuto muscolare legati a vari fattori tra cui la natura dei lipidi.

Infine possiamo affermare che i principali fattori influenzanti il deterioramento sono essenzialmente l'iniziale manipolazione, la temperatura ed il pH. In particolare i processi di lavaggio, sgusciatura e blanching se condotti adeguatamente possono contribuire al prolungamento della shelf life. Infatti il lavaggio può ridurre la contaminazione superficiale ma deve essere regolato in modo da non danneggiare fisicamente il prodotto, mentre l'eviscerazione riduce la carica psicrotrofica anche se non in maniera statisticamente significativa. Allo stesso modo la temperatura è associata alla popolazione di microrganismi deterioranti. L'abbassamento dell'attività biochimica e microbica a basse temperature ha contribuito ad adottare le temperature di refrigerazione per la conservazione del pescato.

Con la fase post-mortem il pH scende a causa dell'acido lattico derivante dalla glicogenolisi in condizioni di anaerobiosi, favorendo la flora

microbica contaminante. Quando il pH tende ad aumentare a seguito di una riduzione erronea della temperatura, che consente l'accumulo di ammoniaca il deterioramento è incrementato.

3.5 *Metodi di conservazione*

Il miglioramento della conservabilità dei prodotti ittici è spesso associato allo sviluppo di tecnologie di lavorazione innovative. L'affumicamento, il lavaggio e la salatura, tecniche ormai conosciute mirano a ridurre l'attività dell'acqua (a_w) allo scopo di inibire la proliferazione dei microrganismi deterioranti ed attivare gli enzimi autolitici. Se da un lato tali trattamenti favoriscono il prolungamento della shelf life dall'altro modificano drasticamente le caratteristiche sensoriali del pesce. Possono infatti essere adottati altri metodi che garantiscono entrambe le cose, tra questi esistono i metodi tradizionali come la conservazione a basse temperature e trattamenti chimici (solfiti e bisolfiti) e nuove tecniche come l'irradiazione a basso dosaggio, le alte pressioni isostatiche e il confezionamento in atmosfera protettiva.

I trattamenti più comunemente utilizzati già durante le fasi di pesca, sono per la riduzione dell'imbrunimento delle carni fresche di gambero consiste in un bagno in soluzione contenente il metabisolfito di potassio, grazie al quale si ritarda l'ossidazione dei diidrossifenoli, un altro additivo recentemente aggiunto alla lista, utilizzabili sui crostacei in sostituzione dei solfiti è il 4-esilresorcinolo previsto dalla direttiva 2006/52/CE, mentre le basse temperature (0-2°C) per ritardare il deterioramento microbico. La refrigerazione ha il vantaggio di mantenere la freschezza e la qualità organolettiche dei prodotti ittici, ma non distrugge né elimina completamente i microrganismi parzialmente patogeni. Esistono infatti patogeni psicotropi come *Aeromonas hydrophyla* e il *Clostridium botulinum* tipo E che riescono a crescere e produrre tossine anche a temperature di refrigerazione.

MATERIALI E METODI

4. CARATTERIZZAZIONE DEL SEME

4.1 *Campionamento*

Il processo che ha portato all'ottenimento delle farine ha previsto la frantumazione iniziale delle carrube, effettuata con un martello in modo tale da non danneggiare i semi, che sono stati poi raccolti e suddivisi in campioni numerati dall'uno al dodici e classificati in base alla cultivar e alla provenienza (**Tabella 3**). I campioni dall'uno al sette provengono dalla collezione DISPA dell'Università di Catania, mentre quelli dall'otto al dodici, forniti dalla Cesalpinia food s.p.a., sono stati classificati solo per provenienza, essendo sconosciuta la varietà (**Figure 23, 24, 25, 26**).

Tabella 3. Descrizione dei campioni.

	Campione	Provenienza	Varietà	Sesso
1	C1IS	ITALIA	SANGIMIGNANA	Ermafrodita
2	C2II	ITALIA	IBLA	Femminile
3	C3IR	ITALIA	RACEMOSA	Femminile
4	C4IP	ITALIA	PASTA	Femminile
5	C5IL	ITALIA	LATINISSIMA	Femminile
6	C6IT	ITALIA	TANTILLO	Ermafrodita
7	C7SR	SPAGNA	RAMELLETE	Ermafrodita
8	C8S0	SPAGNA	Non nota	-
9	C9SM	SPAGNA	Non nota	-
10	C10Tn	TUNISIA	Non nota	-
11	C11Tr	TURCHIA	Non nota	-
12	C12M	MAROCCO	Non nota	-



Figura 23. Baccello e semi delle varietà Pasta e Tantillo



Figura 24. Baccello e semi della varietà Ramellete



Figura 25. Baccello e semi delle varietà Latinissima e Sangimignana

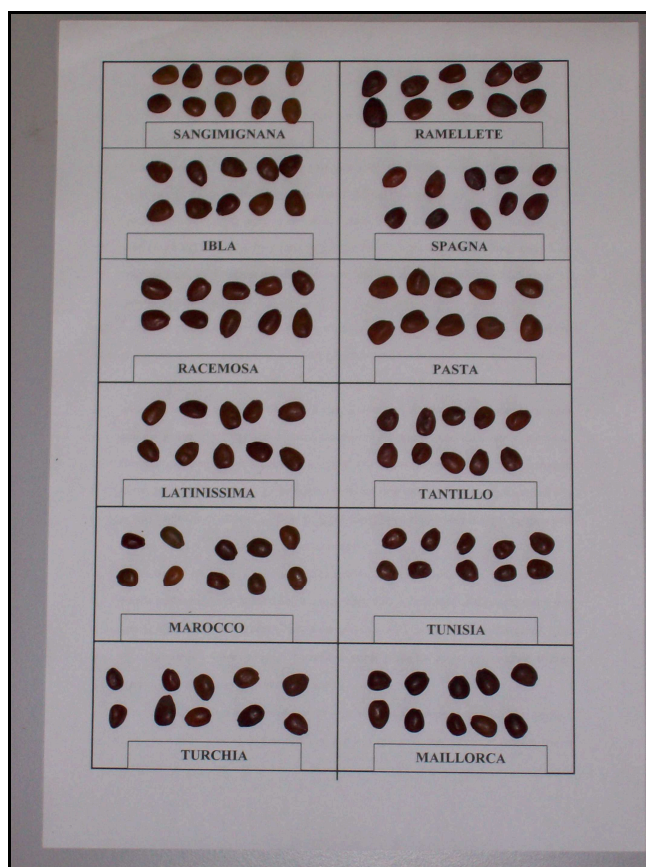


Figura 26. Semi dei campioni analizzati

4.2 *Analisi volumetrica*

Un cilindro graduato è stato riempito accuratamente dei semi di ciascun campione fino a 100 ml annotandone ogni volta il numero ed il relativo peso (**Figura 27**).



Figura 27. Cilindri riempiti con semi di varietà diverse

4.3 *Determinazione dell'umidità*

La determinazione dell'umidità è stata effettuata sui semi interi, le capsule vuote e numerate sono state messe in stufa a 105°C fino a peso costante, e quindi poste in essiccatore fino al raggiungimento della temperatura ambiente.

Una volta raffreddate sono state pesate, riempite con i semi e sottoposte a nuova pesata. Successivamente sono state rimesse in stufa per un'ora, riposte in essiccatore fino a raggiungere di nuovo la temperatura ambiente. Una volta raffreddate sono state ulteriormente pesate e rimesse in stufa, ripetendo il ciclo fino ad ottenere un peso costante.

Si è proceduto calcolando il peso secco ed il relativo contenuto in acqua dei semi in valore percentuale, mediante la seguente relazione:

$$(b-c) : (b-a) = x : 100$$

a = peso capsula vuota;

b = peso capsula + campione umido;

c = peso capsula + campione secco;

x = % umidità.

4.4 Resa in gomma e in germe

La separazione delle diverse parti del seme, tegumento, gomma e germe è stata effettuata immergendo i semi in acqua a 90°C per 45 minuti, fino al rigonfiamento della cuticola. Il giorno seguente, dopo averli lasciati per l'intera notte in imbibizione, si è proceduto dividendo la buccia dal seme e quindi la gomma dal germe.

La quantità di germe e di gomma ottenuta dai semi è stata pesata e poi con un i seguenti calcoli si è ricavata la resa di entrambi:

$$b : a = x : 100$$

dove x (% resa in gomma) = $b \cdot 100/a$

$$c : a = x : 100$$

dove x (% resa in germe) = $c \cdot 100/a$

a = peso semi

b = peso gomma

c = peso germe

5. DETERMINAZIONE DELLA CAPACITÀ ADDENSANTE E DEL CONTENUTO IN ZUCCHERI DELLE FARINE

5.1 *Preparazione delle farine*

Preliminarmente si è proceduto alla separazione delle tre parti che costituiscono il seme. Questa fase del lavoro è stata particolarmente laboriosa, essendo i semi di carruba caratterizzati da un'elevata durezza che ha reso difficoltosa la separazione del tegumento legnoso esterno dal germe e dalla gomma.

I semi sono stati bolliti per 45 minuti, quindi lasciati a riposo per venti ore al fine di ammorbidire il tegumento esterno e facilitarne la rimozione. Successivamente si è proceduto alla separazione del germe dalla gomma.

Questa procedura, prevedendo un breve tempo di bollitura, permette di ridurre la possibilità di danno termico a carico dei costituenti del seme (carboidrati complessi, lipidi e proteine).

Dopo aver effettuato la separazione dei vari componenti dei semi la gomma è stata messa in stufa a 75°C per circa 15 ore in modo da eliminare tutta l'acqua in essa contenuta.

Una volta essiccata la gomma è stata tritata con mulino rotativo (Ika labortechnik MF10 basic) e setacciata per ottenere la farina con una dimensione dei granuli pari a 106 µm (140 mesh) che ha costituito la materia prima delle successive analisi.

5.2 *Determinazione della viscosità dinamica di soluzioni acquose*

L'analisi della viscosità è stata effettuata preparando per tutti i campioni delle soluzioni acquose all'1 % con la farina ottenuta dalla macinazione dell'endosperma dei semi. Le misurazioni sono state effettuate

utilizzando un viscosimetro rotazionale (**Figura 28**) modello “Visco Star R”.



Figura 28. Viscosimetro rotazionale.

Tale strumento permette la determinazione della viscosità di prodotti in base al principio rotazionale. Consiste nell'immergere un rotore nel materiale da testare e farlo ruotare a velocità costante. La resistenza generata dal campione sul rotore del viscosimetro è direttamente proporzionale alla sua viscosità. Per mezzo di un microprocessore, il viscosimetro determina la viscosità direttamente in forma digitale, espressa in cps (mPa*s).

Lo strumento utilizzato è costituito infatti da una struttura fissa alla quale è possibile collegare vari tipi di “spindles” o rotori, formati da un asse con alla base una struttura piatta e di forma rotonda e aventi diametri differenti. Le misurazioni sono state effettuate con il rotore R2 a tutte le velocità (da 10 a 100 giri al minuto) a 25°C.

Per tutti i campioni le determinazioni sono state effettuate a pH 4,5, valore in corrispondenza del quale si registrano le viscosità più alte, mentre per i campioni che hanno avuto le migliori rese in farina, sono stati determinati i valori delle viscosità anche a pH 3 e pH 6 impiegando una soluzione di tampone citrato (acido citrico 0,1 molare e sodio citrato 0,1

molare). Dato che i galattomannani sono polisaccaridi neutri, l'influenza del pH è da attribuire alla presenza di proteine, responsabili del cambiamento di forza ionica delle soluzioni al variare del pH (Goicholea *et al.*, 1995).

Cinque grammi di ciascun campione sono stati disciolti in 500 ml di tampone in modo tale da avere una diluizione dell' 1% di farina.

L'LBG è poco solubile in acqua alla temperatura ambiente, è quindi necessario il riscaldamento della sospensione per solubilizzare la farina. Inoltre Garcia- Ochoa e Casas (1992) osservarono che la viscosità apparente delle soluzioni acquose di LBG cresce al crescere della temperatura di solubilizzazione. Questo risultato è stato attribuito alla differenza dei pesi molecolari medi dei galattomannani solubili alle diverse temperature, che determina un differente rapporto M/G alle diverse temperature, da 2,56 a 25°C a 3,57 a 80°C. Per tale ragione i diversi campioni sono stati preliminarmente preriscaldati a 85°C al fine di ottenere valori omogenei delle misure di viscosità e dei rapporti M/G.

Prima di procedere alla determinazione della viscosità i campioni sono stati raffreddati fino a 25°C.

5.3 *Determinazione del contenuto in zuccheri*

La composizione chimica e in particolar modo il rapporto mannosio/galattosio che dà la misura del grado di ramificazione del polimero, sono parametri importanti che influiscono sulle proprietà addensanti delle farine.

Le farine sono state sottoposte a idrolisi acida per ottenere i monosaccaridi liberi e quindi determinarli quantitativamente mediante analisi gascromatografica dopo derivatizzazione e formazione di trimetilsililderivati volatili. A tal scopo sono stati preliminarmente determinati i fattori di risposta al FID, utilizzando soluzioni di zuccheri standard sottoposte al normale work up di derivatizzazione.

Gli zuccheri standard utilizzati per la messa a punto del metodo sono stati fruttosio, glucosio, saccarosio, galattosio, mannitolo, xilosio, maltosio, sorbitolo, cellobiosio, raffinoso, mannosio e arabinosio (Fluka).

La soluzione di tali standard è stata preparata come segue: sono stati pesati 10 mg di ciascun zucchero in una vials, ai quali, successivamente, sono stati aggiunti 2 ml di una soluzione contenente lo standard interno a concentrazione nota. Lo standard interno utilizzato è il fenil- β -D glucopiranoside. La soluzione è stata preparata pesando 0,25 g di idrossilammina e 0,6 g di fenil- β -D glucopiranoside e portando al volume di 100 ml con piridina (stock solution).

Dopo aver aggiunto la soluzione contenete lo standard interno, la vial è stata posta in stufa per 30 minuti a 75°C. Successivamente la soluzione è stata raffreddata e portata a temperatura ambiente ed in seguito è stato addizionato 1 ml di esametildisilazide (HMDS) e 0,1 ml di acido trifluoroacetico (TFA) come derivatizzante. Il contenuto della vials è stato agitato per 30 secondi e fatto decantare per 30 minuti a temperatura ambiente. Il surnatante è stato prelevato, evitando l'asportazione del deposito e trasferito in un'altra vials. Di questa soluzione madre sono stati prelevati 0,75 ml e sono stati aggiunti 0,25 ml di isotano per preparare la diluizione finale da iniettare al gascromatografo.

L'analisi gascromatografica è stata effettuata mediante un gascromatografo SHIMADZU 2014 munito di detector FID, utilizzando le seguenti modalità operative:

Colonna: Supelco SLB5NS	
Lunghezza	30.0
Spessore film interno	0.25 mm/D
Diametro interno	0.25 µm
Gas carrier	Elio
Flusso totale	24.0 ml/min
Flusso della colonna	1.0 ml/min
Velocità lineare	25.4 cm/sec
Rapporto di splittaggio	20.0 ml/min
Temperatura	50.0 °C
Tempo di equilibrio	1 min
FID	
Temperatura	280 °C

Il programma di temperatura utilizzato è stato il seguente:

Rate °C/min	Temperatura	Hold time
-	50.0	1.00
10.0	120.0	0.0
2.0	200.0	0.0
10.0	280.0	30.0

L'analisi degli standard di zuccheri ha permesso di determinare i tempi di ritenzione di ciascun composto standard e di calcolare i singoli fattori di risposta, rispetto allo standard interno.

Il fattore di risposta dà una misura della sensibilità che lo strumento ha nei confronti di un dato analita rispetto allo standard interno.

I fattori di risposta (RF) sono calcolati applicando la seguente formula:

$$RF = \left[\frac{Ci \text{ zucchero std}}{\text{Area zucchero std}} \right] \times \left[\frac{Ci \text{ std}}{\text{Area std}} \right]$$

dove:

Ci: concentrazione dello zucchero standard

Area Zucchero std: area del picco dello zucchero standard

Ci STD: concentrazione dello standard interno

Area STD: area del picco dell standard interno

Per la determinazione degli zuccheri costituenti le farine oggetto di studio, è stata preliminarmente effettuata l'idrolisi con acido trifluoroacetico, aggiungendo 1 ml di TFA a 50 mg di LBG e ponendo in stufa per 1 ora. Dopo aver portato a secco al rotavapor a 45 °C sono stati uniti 2 ml di stox solution e si è messo in stufa a 75°C per 30 minuti.

Si è proceduto quindi come precedentemente descritto per l'analisi degli zuccheri standard.

I risultati ottenuti sono stati sottoposti ad elaborazione statistica: l'analisi della varianza (ANOVA) ha permesso di valutare la significatività dei risultati, il confronto delle medie di tre repliche è stato effettuato con il test di Duncan ($P < 0,01$), l'analisi discriminante ha poi fornito delle indicazioni sulla classificazione delle farine nei corrispondenti gruppi di appartenenza.

6. FORMULAZIONE DEI COATING ALIMENTARI E LORO APPLICAZIONE

6.1 *Preparazione delle soluzioni filmogene*

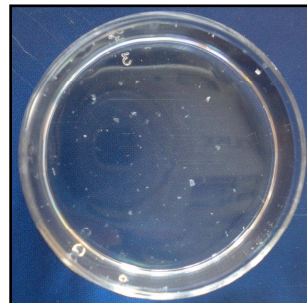
Quattro soluzioni filmogene sono state preparate impiegando chitosano ad alto peso molecolare (0,5%), chitosano con farina di tapioca, chitosano con farina di maizena e infine chitosano con farina di semi di carruba (Avola *et al.*, 2010b).

Nelle diverse preparazione si è aggiunto un quantitativo di acido lattico tale da raggiungere un pH di 2,8, valore sufficientemente basso da inibire lo sviluppo microbico.

Tutte le soluzioni per il coating sono state preparate il giorno prima del dipping dei campioni e sottoposte ad analisi del pH, viscosità e colore.

Soluzione di chitosano:

Il *coating* è stato realizzato dissolvendo lo 0,5% di chitosano ad alto peso molecolare in una soluzione all'1% di acido lattico. La dispersione è stata riscaldata su piastra a temperatura di 80 °C sotto continua agitazione per 1 ora, in modo da favorire il completo dissolvimento del chitosano. Successivamente è stato aggiunto lo 0,5% di glicerolo.



Si è notato che il chitosano si è disciolto molto velocemente in soluzione acida e la soluzione finale è risultata caratterizzata da una blanda colorazione, da una buona limpidezza e dall'assenza di odori sgradevoli.

Soluzione di chitosano-tapioca

La soluzione per il coating è stata realizzata miscelando nelle stesse quantità una soluzione di chitosano e una di tapioca così preparate:

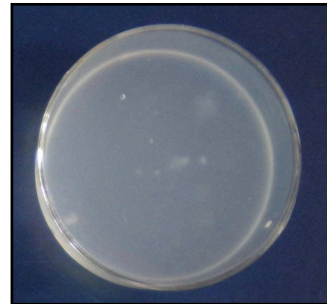
-Soluzione di chitosano: 0,5 % di chitosano ad alto peso molecolare è stato dissolto

in una soluzione all'1% di acido lattico. La dispersione è stata riscaldata su piastra a temperatura di 80 °C sotto continua agitazione per 1 ora, per favorire il completo dissolvimento del chitosano.

-Soluzione di amido di tapioca: il 4 % di “perle” di tapioca sono state dissolte in una soluzione all'0,5% di glicerolo, a temperatura al di sopra di 80 °C sotto agitazione per 1 ora, in modo da dissolvere completamente le perle di tapioca.

Successivamente le due soluzioni sono state miscelate e lasciate raffreddare a temperatura ambiente sotto agitazione per 15 minuti.

La soluzione risulta priva di aromi, scarsa limpidezza e elevata viscosità.



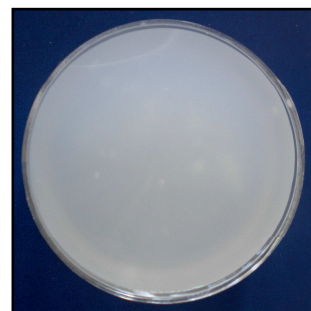
Soluzione di chitosano-maizena

Anche in questo caso le soluzioni di chitosano e maizena sono state preparate separatamente:

- Soluzione di chitosano: 0,5% di chitosano ad alto peso molecolare è stato dissolto in una soluzione all'1% di acido lattico. La

dispersione è stata riscaldata su piastra a temperatura di 80 °C sotto continua agitazione per 1 ora, per favorire il completo dissolvimento del chitosano.

- Soluzione di amido di mais (maizena): la maizena è stata dissolta in una soluzione all'0,5% di glicerolo ottenendo una concentrazione del 4%,



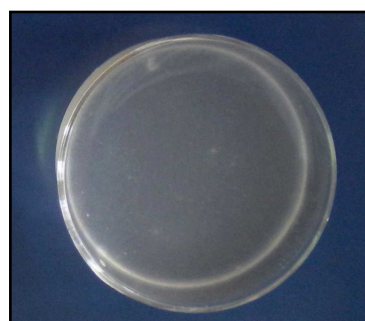
a temperatura al di 80 °C in agitazione per 30 minuti, in modo da dissolvere completamente l'amido.

Successivamente le due soluzioni sono state miscelate e lasciate raffreddare a temperatura ambiente sotto agitazione per 15 minuti.

La soluzione risulta essere di colore bianco opaco, con assenza di odori sgradevoli e viscosità paragonabile alle altre soluzioni.

Soluzione di chitosano-carruba

Come nei casi precedenti, la *blend solution* per il coating è stata realizzata miscelando nelle stesse quantità la soluzione di chitosano e la soluzione di farina di semi di carruba.



- Soluzione di chitosano: 0,5% di chitosano ad alto peso molecolare è stato dissolto in una soluzione all'1% di acido lattico. La dispersione è stata riscaldata su piastra a temperatura di 80 °C sotto continua agitazione per 1 ora, per favorire il completo dissolvimento del chitosano.

- Soluzione di farina di semi di carruba: l'1% di farina di semi di carruba è stata dissolta in una soluzione all'0,5% di glicerolo, a temperatura al di 80 °C e mantenuta in agitazione per 30 minuti, in modo da solubilizzare completamente l'amido.

Successivamente le due soluzioni sono state miscelate e lasciate raffreddare a temperatura ambiente ed in agitazione per 15 minuti.

La soluzione si mostra di colore giallo pallido priva di odore caratteristico e con elevata viscosità.

6.2 Determinazioni chimico-fisiche

Per le diverse soluzioni di *coating* sono stati misurati: la concentrazione idrogenionica (pH), il colore e la viscosità:

pH: la misurazione è stata effettuata con un pHmetro (pH-meter MP 220, Mettler Toledo, Greifensee, Svizzera), preventivamente tarato con soluzioni tampone a pH noto. La determinazione è stata ripetuta tre volte., in modo da verificare il raggiungimento del prefissato valore di 2,8.

Viscosità: la viscosità è stata misurata adoperando un viscosimetro di tipo rotazionale digitale “Visco Star R” Selecta, che consente la lettura sul display di tutti i parametri di interesse e di seguito riportati:

- Velocità espressa in rpm;
- Rotore (spindle);
- Viscosità in cps;
- Percentuale del fondoscala;

Colore: è stato utilizzato un colorimetro portatile a riflessione (NR-3000, Nippon Denshoku Ind. Co. Ltd, Giappone).

La misura dei parametri del colore è stata effettuata con illuminante C/2°, rilevando cinque punti per ognuna delle soluzioni del coating. Per ogni punto di misurazione sono state ricavate le coordinate L*, a*, b*, ed i valori di C (chroma) ed H (hue) corrispondenti a croma e tinta.

6.3 Preparazione dei campioni di gambero

I gamberi freschi della specie *Parapenaeus longirostris*, catturati a largo della costa orientale siciliana, nel Mar Ionio (zona Fao 37), tra i mesi di novembre e febbraio; prelevati in lotti da 4 Kg nei pescherecci a strascico di



Augusta subito dopo la cattura, sono stati immersi durante la notte, in soluzione contenete 200 mg/L di metabisolfito di potassio (E224) come espresso dalla direttiva 2006/52CE, per 5 ore. Prelevati dalla soluzione sono

stati ulteriormente suddivisi in lotti da 1 kg e portati nei laboratorio del dipartimento D.O.F.A.T.A. in borsa termica con ghiaccio, dove sono stati processati ed esaminati entro 6 ore dall'arrivo.

Sono stati ottenuti 4 differenti tipologie di prodotto, procedendo al dipping nelle quattro soluzioni di coating e un controllo, costituito da gamberi non trattati con tali soluzioni ma confezionati e conservati sotto le medesime condizioni.

I gamberi appena arrivati in laboratorio sono stati sgusciati, sottoposti a dipping e asciugatura, confezionati e refrigerati (**Figura 29**).

Una parte dei gamberi, confezionata subito dopo la sgusciatura senza subire dipping, ha costituito il controllo.

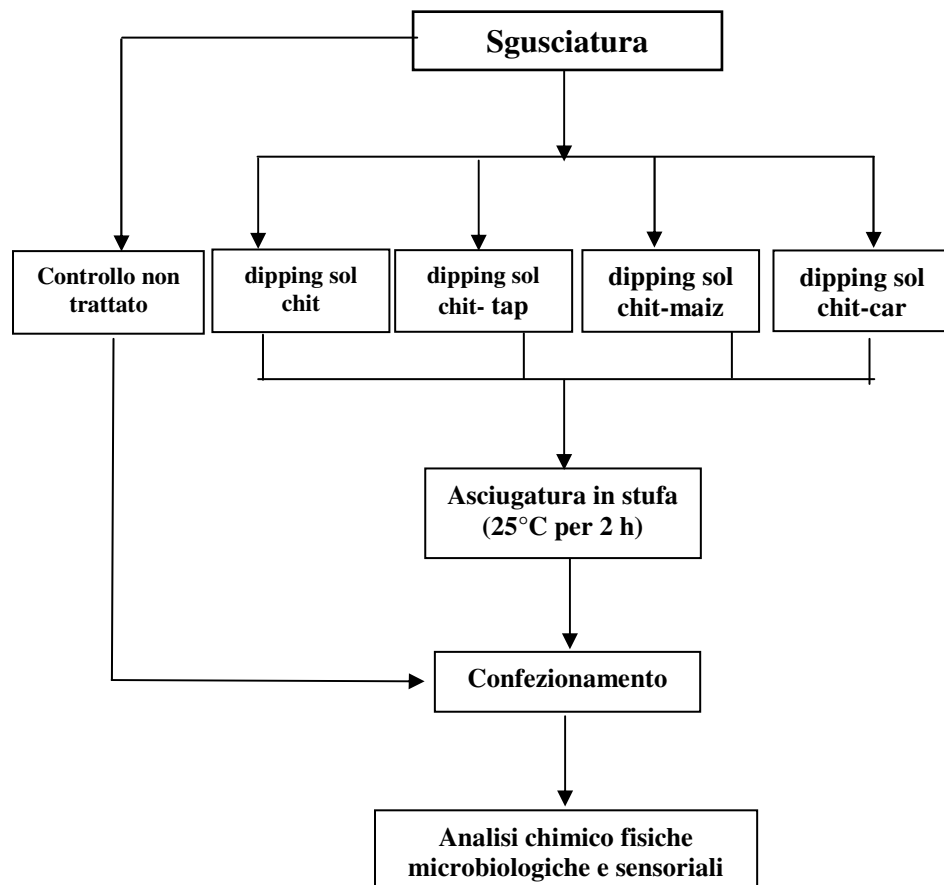


Figura 29. Flow sheet del protocollo del lavoro di ricerca

6.4 *Dipping e asciugatura*

Il *dipping* dei gamberi è stato effettuato con le soluzioni di coating preparate il giorno prima.

Ogni campione è stato sottoposto al processo di *dipping*, immergendo i gamberi due volte nelle diverse tipologie di soluzioni per 30 secondi ad intervalli di due minuti.



Dopo diverse prove di asciugatura si è scelto di fare asciugare i gamberi in una stufa ventilata su carta forno G[®]-Therm 075 (Galli, Milano, Italia) a 25 °C per 2 ore, ruotando i gamberi ogni ora in modo da ottenere l'asciugatura omogenea del coating.

6.5 *Confezionamento e conservazione*

I gamberi una volta asciugati sono stati confezionati in vaschette di polipropilene in condizioni ipobariche in modo da ridurre al minimo lo spazio di testa e quindi refrigerati a 4 °C per un limite di tempo massimo di 9 giorni.



Sono state monitorate le caratteristiche chimiche, fisiche, microbiologiche e sensoriali dei campioni effettuando le analisi sul prodotto fresco e su quello al terzo, sesto e nono giorno di conservazione.

6.6 Monitoraggio della shelf life dei gamberi

Sul campione fresco, sui campioni trattati e su un campione non trattato (controllo) al 3°, 6° e 9° giorno di conservazione, sono state effettuate le seguenti analisi: la concentrazione idrogenionica (pH), il colore, la texture l'azoto basico volatile totale (ABVT).

L'analisi sensoriale è stata effettuata il 1° e l'8° giorno di conservazione. L'analisi microbiologica invece è stata effettuata sul fresco e all'8° giorno di conservazione.

La prova è stata ripetuta tre volte e tutte le analisi, per ogni ciclo, sono state effettuate in triplo.

6.6.1 pH

La misurazione del pH, effettuata con un pHmetro (pH-meter MP 220, Mettler Toledo, Greifensee, Svizzera), preventivamente tarato con soluzioni tampone a pH noto, è stata rilevata sulla purea di gamberi ottenuta omogeneizzando, con un frullatore da immersione, 20 g di campione con 40 ml di acqua distillata, per un tempo di 30 secondi. La determinazione è stata ripetuta tre volte.

6.6.2 Colore

La variazione del colore è un parametro di notevole importanza per la valutazione della shelf life dei prodotti alimentari.

I parametri del colore sono stati determinati mediante colorimetro portatile a riflessione (NR-3000, Nippon Denshoku Ind. Co. Ltd, Giappone).

Anche in questo caso la determinazione dei parametri del colore è stata effettuata con illuminante C/2°, rilevando cinque punti per ognuna delle soluzioni del coating. Per ogni punto di misurazione sono state ricavate le coordinate L*, a*, b*, ed i valori di C (chroma) ed H (hue) corrispondenti a croma e tinta.

6.6.3 Texture

La reologia è quella parte della fisica che studia l'origine, la natura e le caratteristiche di deformazione dei corpi sotto l'azione di forze esterne. Questi fenomeni determinano spesso le proprietà funzionali degli alimenti e intervengono a livello di processo produttivo (comportamento meccanico), durante il magazzinaggio (stabilità fisica) ed al momento del consumo (consistenza, masticabilità, gommosità, adesività).

La texture è la manifestazione sensoriale e funzionale delle proprietà strutturali, meccaniche e di superficie di un alimento che vengono rilevate mediante i sensi della vista, dell'udito, del tatto e durante la masticazione e la manipolazione (Sensory analysis-Methodology-Texture profile; ISO 11036).

Per la misura della texture è stato utilizzato un penetrometro TR[®] mod. 53205 (Forlì, Italia) munito di puntale di 8 mm di diametro ed il risultato è stato espresso come la forza necessaria (kg/cm^3) per penetrare nei tessuti.

6.6.4 Azoto basico volatile totale (ABVT)

Il processo di decomposizione cui va in contro il pesce porta alla formazione di odori sgradevoli a causa della degradazione delle sostanze azotate, degli amminoacidi, dei grassi e degli zuccheri, con sviluppo di nuove molecole chimiche quali ammoniaca, trimetilammina (TMA) e idrogeno solforato.

L'ammoniaca che rappresenta la quasi totalità dell'azoto basico volatile totale (ABVT), origina dal catabolismo amminoacidico durante i fenomeni di deterioramento quindi la sua determinazione rappresenta uno degli indici più attendibili per valutare la freschezza e l'idoneità al consumo del prodotto.

L'ABVT è stato determinato mediante il metodo descritto nel REG CE 2074/2005 nel quale viene definito un indice di qualità per i prodotti

della pesca, e fissato come limite massimo la concentrazione di 35mg di azoto/100 di carne, per diverse specie di pesci ma non per i crostacei.

Sono stati omogenizzati 100 g di gamberi con frullatore ad immersione. È seguita una fase di estrazione: dissolvendo 10 g di omogeneizzato in 90 ml di una soluzione di acido perclorico 0,6 mol/L. L'estratto è stato sottoposto a centrifuga per 10 minuti a 4000 giri alla temperatura di 5 °C.

Successivamente l'estratto è stato filtrato con filtro a scanalature. 50 ml del filtrato sono stati trasferiti in un provettone aggiungendo alcune gocce di fenoltaleina, antischiuma ai siliconi e 6,5 ml di una soluzione di idrossido di sodio al 20%. Si è quindi proceduto alla distillazione mediante un distillatore Gerhardt, vapodest

Il distillato ottenuto è stato raccolto in una beuta contenente 100 ml di una soluzione di acido borico al 3% e alcune gocce dell'indicatore di Tashiro. La concentrazione di ABVT è ottenuta tramite titolazione con una soluzione di acido cloridrico 0,01 N delle basi assorbite. Il valore della concentrazione di azoto basico volatile, espresso in mg/100g, è stato calcolato seguendo il metodo di riferimento, presente nel capitolo III del suddetto Regolamento (CE) mediante la seguente relazione:

$$\text{ABVT (mg/100 g di campione)} = \frac{(V_1 - V_0) \times 0.14 \times 2 \times 100}{M}$$

V_1 = Volume della soluzione di acido cloridrico 0,01 mol, espresso in ml, per il campione;

V_0 = Volume della soluzione di acido cloridrico 0,01 mol, espresso in ml, per il bianco;

M = il peso del campione, espresso in g.

6.6.5 Analisi sensoriale

Le caratteristiche sensoriali, sapore e soprattutto odore, rappresentano senza altro uno strumento di primaria importanza per valutare lo stato di freschezza del pesce.

Per valutare dal punto di vista sensoriale i campioni in esame è stato svolto il test descrittivo, utile per l'ottenimento del profilo sensoriale di un prodotto alimentare, in quanto permette di valutare quali sono le caratteristiche sensoriali legate all'aspetto, all'odore, al sapore, alla sensazione tattile in bocca e alla consistenza, che meglio rappresentano la qualità sensoriale di un prodotto e quanto queste sono percepibili nel prodotto analizzato (Lawless e Heymann, 1999).

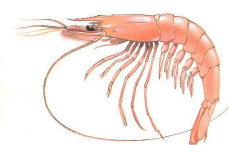
Nel presente studio, la determinazione del profilo sensoriale è stata condotta da 8 giudici addestrati. Il piano di lavoro ha previsto la valutazione dei campioni allo stato crudo.

I campioni sono stati presentati ad ogni giudice in piattini di plastica siglati con un codice a tre cifre. L'ordine di presentazione è stato randomizzato giudice per giudice e seduta per seduta (MacFie *et al.*, 1989). Le valutazioni sono state effettuate nelle cabine del laboratorio di analisi sensoriale (UNI 8589, 1990) del DOFATA della Facoltà di Agraria di Catania dotato di uno specifico software per l'acquisizione e l'elaborazione dei dati sensoriali (Fizz *Biosystèmes*) utilizzando una scala discontinua da 1 (assenza del descrittore) a 9 (massima intensità del descrittore) (Pagliarini, 2002). Ai giudici, durante la seduta di generazione dei termini sono stati forniti, oltre i campioni in esame, dei campioni freschi presenti in commercio. Durante tali sedute, basandoci su una frequenza di citazione superiore al 50%, sono stati generati i seguenti descrittori: aspetto (colore, lucentezza, freschezza visiva), compattezza visiva, odore (odore di gambero, odore di mare, odore di alghe, odore di ammoniaca, off odour), texture (resistenza al taglio), a cui segue una valutazione complessiva.

Questi descrittori sono stati presentati ai giudici in schede in formato elettronico, strutturate come nella **Figura 30**.

I dati ottenuti sono stati elaborati con analisi della varianza ad 1 via (ANOVA), i valori medi sono stati sottoposti al test statistico del confronto multiplo in base al calcolo dell'LSD (Least Significance Differences) per determinare quali descrittori differenziano i campioni.

ANALISI SENSORIALE DEL GAMBERO ROSA



giudice.....

campione.....

Valutate i campioni posti di fronte a voi, assegnando ad ogni descrittore un punteggio da 1 (assenza del descrittore) a 9 (massima intensità del descrittore)

Descrittori visivi	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Intensità colore rosso	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Freschezza visiva	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Lucentezza	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Compattezza visiva	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Descrittori olfattivi									
Odore di gambero	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Odore di mare	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Odore di alghe	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Odori ammoniaci	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Off-odor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Descrittori reologici									
Resistenza al taglio	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Valut. complessiva	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Figura 30. Scheda di valutazione sensoriale del gambero rosa

6.6.6 Analisi microbiologica

Le valutazioni microbiologiche sono state eseguite confrontando campioni di gambero fresco non trattato e campioni di gambero trattato con le diverse soluzioni di *coating*. I campioni sono stati valutati dopo otto giorni di conservazione in regime di frigo-conservazione (Avola *et al.*, 2010a).

Per ogni prova i campioni di gambero sgusciato, prelevati direttamente dalle confezioni (vaschette), sono stati trasportati in laboratorio mediante sacchetti sterili per le successive analisi microbiologiche.

Per ogni campione è stata eseguita la determinazione della carica batterica mesofila aerobia totale a 30 °C secondo i protocolli suggeriti dall'Istituto Superiore di Sanità (Rapporti ISTISAN, 1996).

Per ogni tipologia di trattamento sono state preparate n. 3 unità campionarie da 10 gr ciascuna. Ogni campione è stato diluito con 90 ml di soluzione fisiologica sterile (0,85%) ed omogeneizzato per 1 minuto in stomacker. Dal campione così preparato, (diluito 10^{-1}) sono allestite sempre in soluzione fisiologica diluizioni scalari fino a 10^{-5} (Rapporti ISTISAN, 1996).

La determinazione della carica batterica mesofila aerobia totale è stata effettuata utilizzando come terreno di coltura il Plate Count Agar (PCA, Oxoid), substrato generico per il conteggio della carica microbica totale riferita ai batteri mesofili aerobi.

Dopo agitazione in vortex, 100 µl di ciascuna diluizione sono stati seminati (con la tecnica della semina in superficie) su piastre Petri contenenti il suddetto terreno. Le piastre sono poste ad incubare a 30 °C per 24-48 ore; quindi si è eseguita la conta di tutte le colonie sviluppatesi, espressa in UFC/g.

L'analisi della varianza (ANOVA) è stata usata per valutare la significatività dei risultati. Il confronto delle medie di tre repliche è stato effettuato con il test di Duncan ($P < 0,01$).

RISULTATI E DISCUSSIONE

7. CARATTERISTICHE GENERALI DEI SEMI

La **Tabella 4** mostra le caratteristiche di base dei campioni analizzati. Il numero di semi in 100 ml varia da un massimo di 653,67 per la cultivar Tantillo, ad un minimo di 382,67 per la cultivar Pasta.

Tabella 4. Analisi volumetrica ponderale dei semi^a

Campione	N° semi in 100 ml	Dev. Standard	Peso semi in 100 ml (g)	Dev. Standard
Sangimignana	574,33	1,53	87,89	0,16
Ibla	428,33	1,53	85,68	0,46
Racemosa	450,00	2,00	88,92	0,54
Pasta	382,67	1,53	89,41	0,21
Latinissima	455,67	1,53	89,24	0,28
Tantillo	653,67	1,53	87,96	0,31
Ramellete	432,67	2,08	88,35	0,35
Spagna	503,67	1,53	86,18	0,39
Maillorca	436,33	1,15	86,06	0,19
Tunisia	552,01	2,00	88,15	0,36
Turchia	567,00	2,65	85,34	0,13

^aCiascun valore è la media di tre determinazioni. La deviazione massima dei valori riportati non supera il 5%.

Il peso dei semi in 100 ml oscilla invece fra un minimo di 85,34 g per il seme proveniente dalla Turchia ad un massimo di 89,41 g per la cultivar “Pasta”.

Si evince dunque, che il seme proveniente dalla Turchia è quello che presenta i semi di dimensioni minori con un peso medio per ciascun seme di 0,150 g, mentre la cultivar “Pasta” si caratterizza per l’elevata dimensione dei semi che si attesta a 0,233 g. Il volume dei semi è una caratteristica importante nel processo di sgusciatura dove sono da preferire i semi con volume maggiore.

Nella **Tabella 5** si evidenzia che la percentuale di umidità per ciascun campione varia da un minimo di 5,73 % per la cultivar Pasta, ad un massimo di 9,72 % per il seme proveniente dalla Tunisia.

Tabella 5. Resa percentuale in germe, gomma e tegumento^a.

Campione	U.R (%)	Germe (% ss)	Gomma (% ss)	Tegumento (% ss)
Sangimignana	6,41	18,86	49,10	32,03
Ibla	8,06	18,23	54,01	27,75
Racemosa	7,60	17,51	52,41	30,08
Pasta	5,73	17,70	51,03	31,27
Latinissima	7,25	17,42	47,43	35,14
Tantillo	7,71	18,67	42,26	39,08
Ramellete	7,84	18,15	32,06	49,78
Spagna	8,57	17,13	51,61	31,25
Maillorca	9,72	16,39	49,28	34,33
Tunisia	6,12	16,94	51,87	31,19
Turchia	5,95	17,68	43,19	39,12
Marocco	7,14	16,59	53,78	29,62

^aCiascun valore è la media di tre determinazioni. La deviazione massima dei valori riportati non supera il 5%.

Al fine di conoscere le reali differenze di resa in germe e gomma nelle differenti varietà, le percentuali in peso delle varie parti del seme sono state calcolate come sostanza secca, riferita al seme secco.

Si nota che la cultivar che ha dato la miglior resa in gomma è stata la “Ibla” con una percentuale di 54,01 mentre il valore più basso invece è stato fatto rilevare dalla cultivar “Ramellete”. La cultivar “Tantillo” che si era evidenziata per aver dato un numero maggiore di semi in 100 ml, ha dato una resa in percentuale di 42,26, per quanto riguarda la cultivar “Pasta” che ha fatto rilevare il più basso numero di semi in 100 ml, ha avuto una resa in percentuale di 51,03 valore di notevole interesse.

8. DETERMINAZIONE DELLA CAPACITÀ ADDENSANTE E DEL CONTENUTO IN ZUCCHERI DELLE FARINE

8.1 Viscosità delle soluzioni acquose delle farine

La **Tabella 6** riporta i valori di viscosità a 25°C a pH 4,5. Le viscosità più elevate sono state ottenute dal seme proveniente dal Marocco che ha fatto registrare i valori più alti a 10 rpm e 20 rpm rispettivamente 432 e 419 cps (**Figura 31**).

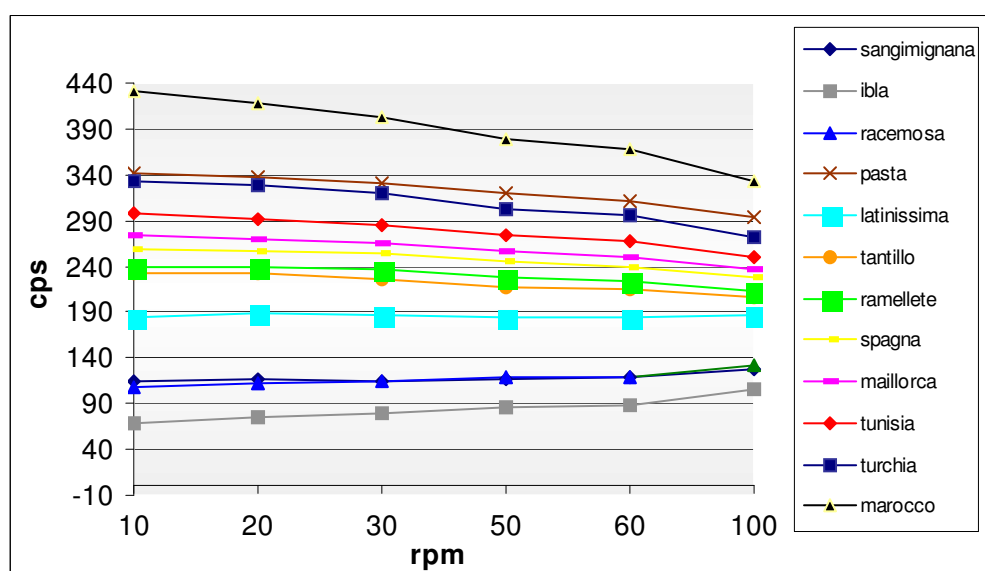


Figura 31. Andamento della viscosità (cps) delle soluzioni all'1% di farine di semi monovarietalità a pH 4,5 e 25°C in funzione della velocità di rotazione (rpm).

Dalla **figura 31** si nota come la cultivar “Ibla” ha dato il più basso valore di viscosità a 10 rpm attestandosi al valore di 69,5 cps, mentre la cultivar “Pasta” ha fatto registrare valori di 341,5 cps a 10 rpm, valore che si posiziona subito dopo quello ottenuto dalle farine del seme “Marocco”.

Nei campioni caratterizzati da più alte viscosità i valori mostrano una lieve diminuzione all'aumentare della velocità di rotazione.

Tabella 6. Valori della viscosità (cps) delle soluzioni all'1% di farine di semi monovarietalità a pH 4,5 e 25°C in funzione della velocità di rotazione (rpm).

VARIABILI	CAMPIONI											
	ITALIA						SPAGNA					
	Sangimignana	Ibla	Racemosa	Pasta	Latinissima	Tantillo	Ramellete	Spagna	Maillorca	Tunisia	Turchia	Marocco
V10	113,50±13,43 ^c	69,50±0,71 ^a	107,00±1,14 ^b	341,50±4,95 ^m	184,50±0,71 ^d	232,50±4,95 ^e	249,00±4,24 ^f	258,00±0,00 ^g	273,50±4,95 ^h	297,50±4,95 ⁱ	333,50±9,20 ^l	432,00±7,07 ⁿ
V20	117,00±15,56 ^c	75,50±2,12 ^{1a}	112,00±2,83 ^b	337,50±7,78 ^m	188,00±1,41 ^d	231,50±4,95 ^e	239,50±3,54 ^f	256,50±2,12 ^g	270,50±4,95 ^h	291,00±4,24 ⁱ	329,50±9,43 ^l	419,00±5,66 ⁿ
V30	115,00±5,56 ^b	79,50±2,12 ^a	115,00±0,00 ^b	237,00±0,00 ^l	187,50±2,12 ^c	226,00±4,24 ^d	236,50±3,54 ^e	254,00±1,41 ^f	265,00±2,83 ^g	285,50±3,54 ^h	319,00±9,73 ⁱ	402,50±3,54 ^m
V50	117,50±13,43 ^b	85,50±1,12 ^a	119,00±0,00 ^c	315,00±0,00 ^m	185,50±3,54 ^d	218,00±4,24 ^e	229,00±2,83 ^f	244,50±2,12 ^g	255,50±2,12 ^h	274,00±1,41 ⁱ	302,00±7,07 ^l	378,00±2,83 ⁿ
V60	119,00±2,73 ^b	88,50±0,71 ^a	119,00±1,41 ^b	309,00±0,00 ^l	185,00±2,83 ^c	214,00±2,83 ^d	224,50±3,53 ^e	239,00±1,41 ^f	250,50±2,12 ^g	267,00±1,41 ^h	295,00±7,01 ⁱ	367,00±4,24 ^m
V100	127,00±9,31 ^b	105,50±0,71 ^a	133,00±0,00 ^c	291,00±0,00 ^m	186,00±1,41 ^d	206,00±2,83 ^e	213,00±1,41 ^f	233,50±6,36 ^g	236,50±0,71 ^h	249,00±1,41 ⁱ	272,00±5,66 ^l	332,00±2,83 ⁿ

Media di tre repliche indipendenti. Valori con la stessa lettera in apice non hanno differenze significative (P < 0.01, *Duncan test*).

Andamento inverso si registra nei campioni caratterizzati da valori più bassi di viscosità.

Per i campioni che hanno avuto una resa maggiore, sono stati determinati i valori di viscosità anche a pH 3 e pH 6 (**Tabelle 7 e 8**).

Tabella 7. Valori della viscosità (cps) delle soluzioni all'1% di farine di semi monovarietali a pH 3 e 25°C in funzione della velocità di rotazione (rpm).

Rpm	Ibla (cps)	Racemosa (cps)	Marocco (cps)
10	35,0	55,5	260,5
20	39,0	61,5	251,5
30	40,5	64,0	243,5
50	46,0	64,5	227,5
60	47,0	66,0	220,0
100	54,0	68,5	191,0

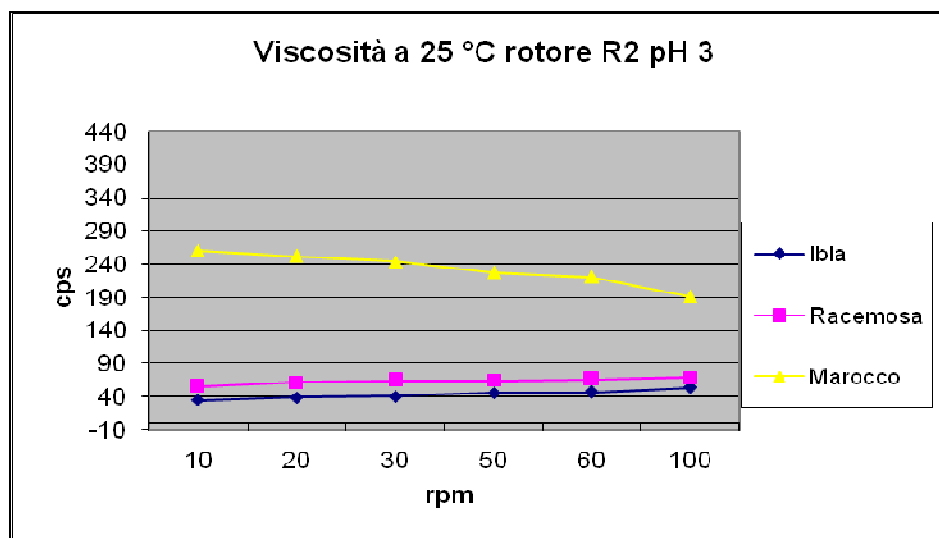


Figura 32. Andamento della viscosità (cps) delle soluzioni all'1% di farine di semi monovarietali a pH 3 e 25°C in funzione della velocità di rotazione (rpm).

I valori di viscosità riportati nella **Figura 32** hanno subito un decremento considerevole rispetto ai valori ottenuti a pH 4,5. Tale

decremento si attesta intorno al 40%, si noti anche che le cultivar Ibla e Racemosa a pH 3 presentano una bassa viscosità attestandosi rispettivamente a 35 cps e 55,5 cps a 10 rpm, va inoltre evidenziato che solo per il campione Marocco si ha andamento di viscosità decrescente all'aumentare del numero di giri, quindi si può concludere dicendo che le farine provenienti dai campioni Ibla e Racemosa non si prestano a svolgere le proprietà richieste al valore di pH 3.

La **Tabella 8** riporta i valori di viscosità riportati determinati a pH 6.

Tabella 8. Valori della viscosità (cps) delle soluzioni all'1% di farine di semi monovarietalì a pH 6 e 25°C in funzione della velocità di rotazione (rpm).

Rpm	Ibla (cps)	Racemosa (cps)	Marocco (cps)
10	85,5	145,0	330,0
20	93,0	151,5	322,0
30	99,0	157,5	313,0
50	104,5	154,5	302,5
60	108,0	155,5	289,0
100	123,5	159,5	265,5

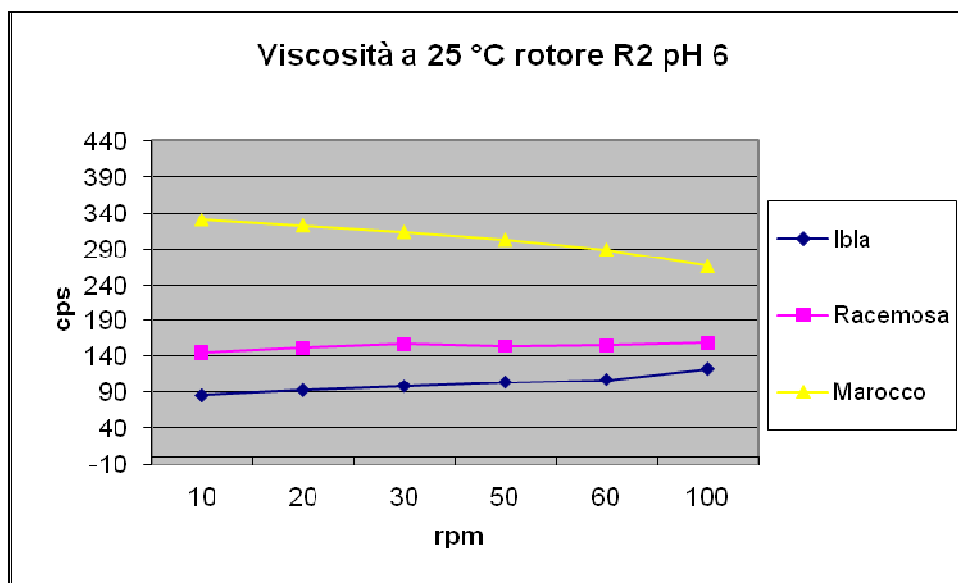


Figura 33. Andamento della viscosità (cps) delle soluzioni all'1% di farine di semi monovarietali a pH 6 e 25°C in funzione della velocità di rotazione (rpm).

Dalla **Figura 33** si nota come l'andamento della viscosità del campione Marocco decresca all'aumentare dei giri, mentre quella del campione Racemosa si mantiene quasi costante, valori crescenti si hanno invece per il campione Ibla.

A valore di pH 6 i valori di viscosità in confronto a quelli ottenuti a pH 4,5 sono cresciuti solo per i campioni Ibla e Racemosa, per il campione Marocco il valore di viscosità ha subito invece un decremento.

8.2 *Contenuto in zucchero delle farine di semi*

L'analisi degli zuccheri standard previamente derivatizzati, ha permesso di determinare i tempi di ritenzione di ciascun composto standard e di calcolare i singoli fattori di risposta (RF), rispetto allo standard interno (Figura 34).

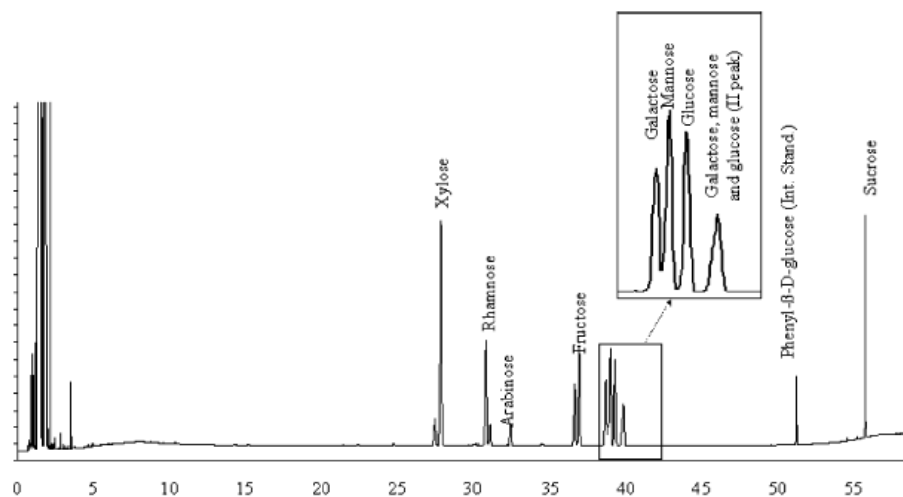


Figura 34. Gascromatogramma della miscela di zuccheri standard dopo la derivatizzazione.

Ogni zucchero aldoso o chetoso, sottoposto all'azione dell'idrossilammina fornisce due stereoisomeri (sin e anti) perché la rotazione intorno al doppio legame C=N è fortemente impedita. I due stereoisomeri permangono anche dopo il trattamento di silanizzazione dei gruppi ossidrilici. Pertanto ogni zucchero si manifesta con la presenza di due picchi nel gascromatogramma, il primo a più basso tempo di ritenzione probabilmente da attribuire alla forma sin ed il secondo alla forma trans.

Le coppie di picchi relativi agli stereoisomeri dello xilosio, del ramnosio, dell'arabinosio e del fruttosio sono ben separate, e pertanto possono essere facilmente determinate.

Il saccarosio si manifesta con un solo picco (saccarosio silanizzato) perché essendo di struttura acetalica non dà luogo alla formazione di

ossime, tuttavia le condizioni sperimentali dell'idrolisi acida portano alla formazione di glucosio e fruttosio.

Il glucosio, il mannosio ed il galattosio forniscono anche essi due picchi, tuttavia quello a più alto tempo di ritenzione risulta accidentalmente isocrono per i tre zuccheri (**Figura 34**). Il contributo di ciascun zucchero all'area comune del secondo picco è stato determinato mediante apposite prove di calibrazione (Rizzo *et al.*, 2004).

Per il calcolo dei fattori di risposta è stata scelta l'area del picco a 45,236 min per il galattosio, a 45,517 min per il mannosio e a 45,777 min per il glucosio. Mentre per gli altri zuccheri che presentano due picchi (xilosio, arabinosio, fruttosio) per il calcolo del fattore di risposta è stato scelto il picco avente il valore dell'area più elevata. La **Tabella 9** riporta i tempi di ritenzione e i fattori di risposta determinata per ciascun composto.

Tabella 9. Tempi di ritenzione e RF degli zuccheri.

Zucchero standard	Tempo di ritenzione	Fattore di risposta
Arabinosio	34,450	1,08
	34,634	
Fruttosio	43,104	1,05
	43,495	
Galattosio	45,236	0,98
	46,509	
Glucosio	45,777	0,94
	46,509	
Mannosio	45,517	0,69
	46,509	
Saccarosio	57,636	1,68
Xilosio	34,039	2,77
	34,450	

Il contenuto in galattomannani e il rapporto M/G sono i parametri principali che determinano le capacità addensanti della farina di semi di carruba.

Al fine di correlare la viscosità osservata con suddetti parametri sono stati identificati e quantificati gli zuccheri liberi e legati dopo l'idrolisi della farina grezza in mezzo acido.

La **Tabella 10** riporta la distribuzione % degli zuccheri nelle 12 farine di semi di carruba analizzate. Nei diversi campioni il valore di ciascun zucchero, ad eccezione del saccarosio, varia in maniera significativa, confermando l'alto livello di variabilità intraspecifica.

In tutti i campioni il mannosio è lo zucchero presente in maggiore quantità (66,02 % in valore medio), seguito dal galattosio (16,70 %). Glucosio (6,46 %), fruttosio (2,26 %), arabinosio (3,24 %), xilosio (3,48 %) sono anche presenti. Il saccarosio è stato rilevato solo in alcuni campioni: le varietà italiane Sangimignana, Ibla e Tantillo, la varietà turca e quella marocchina. La presenza di modeste quantità di saccarosio è indice di zuccheri semplici nella farina non facenti parte della struttura dei polisaccaridi. Inoltre la presenza di glucosio e fruttosio potrebbe essere dovuta all'idrolisi acida del saccarosio. In particolare si può notare che la più bassa quantità di fruttosio rispetto al glucosio può essere dovuta alla parziale degradazione termica caratteristica del fruttosio in ambiente acido. È noto infatti che il fruttosio si degrada con velocità maggiore del glucosio con formazione di 5-idrossimetilfurfurale (Arena *et al.*, 2001).

Questi zuccheri comunque non fanno parte della struttura dei polisaccaridi e quindi non forniscono alcun contributo alle proprietà addensanti delle farine.

Nel dettaglio i livelli di mannosio variano dal valore minimo di 54,60 % per la varietà italiana Tantillo a quello massimo di 71,00 % del campione italiano Pasta. Questo campione si è distinto anche per il più alto rapporto M/G pari a 5,14.

Valori alti di mannosio sono stati determinati anche nelle varietà italiane Racemosa (70,35%) e Latinissima (67,83%), nelle varietà spagnole Ramellete (70,16%) e Maillorca (68,62%), e nel campione marocchino (67,33%).

I campioni Latinissima e quello marocchino presentano anche un buon rapporto M/G, pari rispettivamente a 4,66 e 4,40.

I risultati sono pertanto congruenti con i valori di viscosità osservati per le soluzioni delle corrispondenti farine.

Tabella 10. Monosaccaridi e saccarosio (%) in farine di differenti campioni di carruba.

VARIABILI	CAMPIONI											
	ITALIA						SPAGNA					
	Sangimignana	Ibla	Racemosa	Pasta	Latinissima	Tantillo	Ramellete	Spagna	Maillorca	Tunisia	Turchia	Marocco
ARA.	1,83 ± 0,11 ^a	2,39 ± 0,54 ^c	3,41 ± 0,24 ^h	2,40 ± 0,10 ^c	3,10 ± 0,12 ^f	5,64 ± 0,33 ^m	2,64 ± 0,55 ^c	3,37 ± 0,12 ^g	2,35 ± 0,30 ^b	4,59 ± 0,24 ^l	3,94 ± 0,01 ⁱ	2,59 ± 0,18 ^d
FRU.	2,95 ± 0,34 ^g	2,01 ± 0,37 ^f	0,90 ± 0,25 ^b	4,31 ± 0,46 ^m	3,20 ± 0,32 ⁱ	3,99 ± 0,42 ^l	0,58 ± 0,13 ^a	2,99 ± 0,36 ^h	0,59 ± 0,90 ^a	1,73 ± 0,67 ^c	1,95 ± 0,16 ^c	1,92 ± 0,41 ^d
GAL.	15,50 ± 0,23 ^d	17,10 ± 0,70 ^g	16,13 ± 0,21 ^f	13,81 ± 1,37 ^a	14,55 ± 0,24 ^b	15,79 ± 0,68 ^e	17,33 ± 0,16 ^h	18,48 ± 0,33 ⁱ	19,76 ± 0,34 ^m	19,34 ± 0,15 ^l	17,33 ± 0,17 ^h	15,31 ± 0,41 ^c
GLU.	8,60 ± 0,35 ^m	7,79 ± 0,56 ⁱ	5,80 ± 0,13 ^b	6,07 ± 0,13 ^d	8,21 ± 0,04 ^l	13,86 ± 0,20 ⁿ	6,65 ± 0,33 ^f	5,94 ± 0,05 ^c	5,33 ± 0,03 ^a	7,42 ± 0,01 ^g	7,76 ± 0,32 ^h	6,55 ± 0,82 ^e
MAN.	66,10 ± 0,90 ^f	66,00 ± 0,55 ^e	70,35 ± 0,85 ^m	71,00 ± 1,50 ⁿ	67,83 ± 2,09 ^h	54,60 ± 0,45 ^a	70,16 ± 1,46 ^l	65,12 ± 1,25 ^d	68,62 ± 0,73 ⁱ	62,32 ± 0,42 ^b	62,80 ± 0,58 ^c	67,33 ± 0,40 ^g
SAC.	3,20 ± 0,29 ^f	1,84 ± 0,19 ^c	-a	-a	-a	0,48 ± 0,08 ^b	-a	-a	-a	-a	2,31 ± 0,96 ^d	2,43 ± 0,08 ^e
XIL.	1,83 ± 0,11 ^a	2,89 ± 0,55 ^d	3,41 ± 0,24 ^g	2,40 ± 0,10 ^b	3,10 ± 0,12 ^c	5,64 ± 0,33 ⁿ	2,64 ± 0,55 ^c	4,10 ± 0,15 ^l	3,35 ± 0,11 ^m	4,59 ± 0,24 ^f	3,91 ± 0,58 ^m	3,86 ± 0,16 ^h
M/G.	4,26	3,86	4,36	5,14	4,66	3,46	4,05	3,52	3,47	3,22	3,62	4,40

Media di tre repliche indipendenti. Valori con la stessa lettera in apice non hanno differenze significative (P < 0.01, *Duncan test*).

8.3 *Analisi statistiche*

I risultati sono stati elaborati usando lo “Statgraphics Plus”, software per Window (Manugistic Inc. Rockville, MD, USA) mediante l’analisi della varianza (ANOVA) e discriminante.

L’analisi della varianza (ANOVA) ha permesso di evidenziare le differenze significative tra i campioni mentre l’analisi discriminante lineare ha fornito le funzioni discriminanti per classificare correttamente le farine nei corrispondenti gruppi di appartenenza (origine geografica).

Dai valori dei coefficienti di correlazione (**Tabella 11**), si nota che il galattosio e il mannosio sono fortemente correlati con i valori di viscosità.

Tabella 11. Matrice di correlazione tra le variabili.

	V10	V20	V30	V50	V60	V100
Arabinosio	.491	.492	.483	.483	.513	.532
Fruttosio	.747	.732	.748	.748	.715	.659
Galattosio	.891	.914	.870	.870	.908	.948
Glucosio	.425	.422	.399	.399	.381	.341
Mannosio	.815	.829	.839	.839	.889	.952
Xilosio	.140	.142	.137	.137	.155	.169

L’analisi discriminante lineare, sviluppando un set di funzioni discriminanti che permettono di prevedere l’appartenenza di una farina ad un determinato gruppo e non ad un altro, ha fornito delle indicazioni sulla classificazione delle farine nei corrispondenti gruppi di appartenenza (origine geografica).

Nel caso specifico le 12 farine sono state suddivise in 5 gruppi in base alla loro origine geografica (Italia, Spagna, Tunisia, Turchia, e Marocco), utilizzando le variabili predittive, costituite dalle percentuali dei sette zuccheri e dai valori di viscosità. Sono ottenute due funzioni discriminanti che spiegano cumulativamente il 99% della variabilità

osservata con un alto valore di correlazione canonica ($R = 0,988$) e valori di P ($< 0,05$) statisticamente significativi al 95% di livello di confidenza (**Tabella 12**).

L'associazione componenti-parametri sperimentali è espressa nella **Tabella 13** dalla quale si evince che alla prima componente (PC1= 80%) sono associati gli zuccheri ad esclusione del saccarosio, glucosio e fruttosio, mentre alla seconda (PC2=19%), sono associate le viscosità.

Le farine italiane e quelle spagnole sono state correttamente classificate nel proprio gruppo di appartenenza, mentre quelle tunisina, turca e marocchina sono state associate al gruppo di provenienza italiana (**Tabella 14**).

Il risultato è mostrato nella **Figura 35** che rappresenta il piano definito dai valori che le due funzioni discriminanti assumono per ciascuna farina (score plot).

Tabella 12. Analisi discriminante.

Autovalori				
Funzione	Autovalore	% di varianza	% cumulata	Correlazione canonica
1	41.314 ^a	80.0	80.0	.988
2	9.818 ^a	19.0	99.0	.953
3	.490 ^a	.9	100.0	.573
4	.013 ^a	.0	100.0	.113

a. Per l'analisi sono state usate le prime 4 funzioni discriminanti canoniche.

Tabella 13. Matrice di correlazione tra le variabili e le funzioni discriminanti.

	Matrice di struttura			
	Funzione			
	1	2	3	4
XIL	-.864*	.171	.079	.227
ARAB	-.826*	.312	.002	.041
MAN	.623*	.124	.011	.000
GALAT	-.408*	.015	.008	-.146
rpm50	.069	.865*	-.127	.229
rpm100	.056	.864*	-.109	.230
rpm60	.078	.864*	-.121	.229
rpm30	.060	.863*	-.130	.227
rpm20	.069	.856*	-.143	.227
rpm_10	.069	.851*	-.150	.231
SACC	.030	-.241	-.795*	-.268
GLUC	-.030	.069	-.782*	.204
FRUTT	-0.20	.012	.427*	-.840

Correlazioni comuni entro gruppi tra variabili discriminanti e funzioni discriminanti canoniche standardizzate

Variabili ordinate in base alla dimensione assoluta della correlazione entro la funzione.

Tabella 14. Classificazione dei campioni in funzione all'origine.

Origine	Italia	Spagna	Tunisia	Turchia	Marocco
Italia	6	0	0	0	0
Spagna	0	3	0	0	0
Tunisia	1	0	0	0	0
Turchia	1	0	0	0	0
Marocco	1	0	0	0	0
<i>%</i>					
Italia	100.0	.0	.0	.0	0
Spagna	.0	100.0	.0	.0	.0
Tunisia	100.0	.0	.0	.0	0
Turchia	100.0	.0	.0	.0	0
Marocco	100.0	.0	.0	.0	0

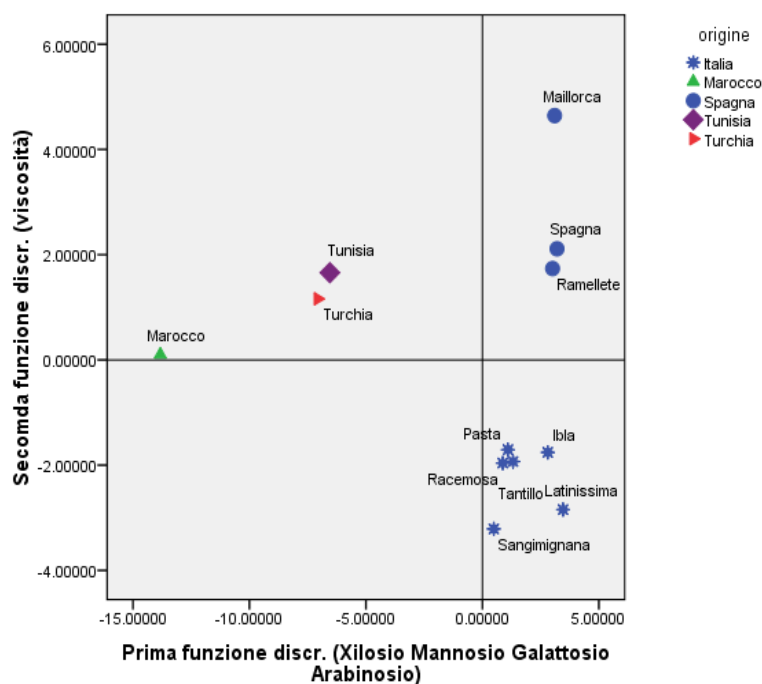


Figura 35. Plot delle funzioni discriminanti.

9. FORMULAZIONE DEI COATING ALIMENTARI E LORO APPLICAZIONI

9.1 Viscosità e colore delle soluzioni di coating

Le soluzioni hanno mostrato differenze in termini di viscosità, in particolare la soluzione di chitosano si è caratterizzata per una viscosità inferiore rispetto le altre, mentre la soluzione chitosano-carruba ha mostrato maggiore viscosità rispetto a tutte le soluzioni, quelle a base di chitosano-maizena e di chitosano-tapioca hanno mostrato viscosità intermedia come evidenziato nelle **Figure 36 e 37**.

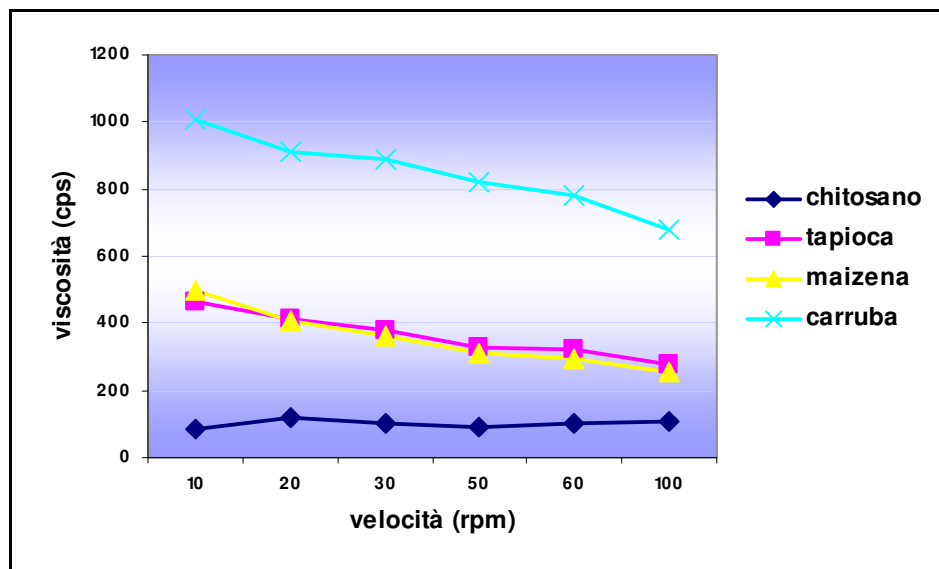


Figura 36. Valori di viscosità delle soluzioni filmogene al variare della velocità del rotore R3.

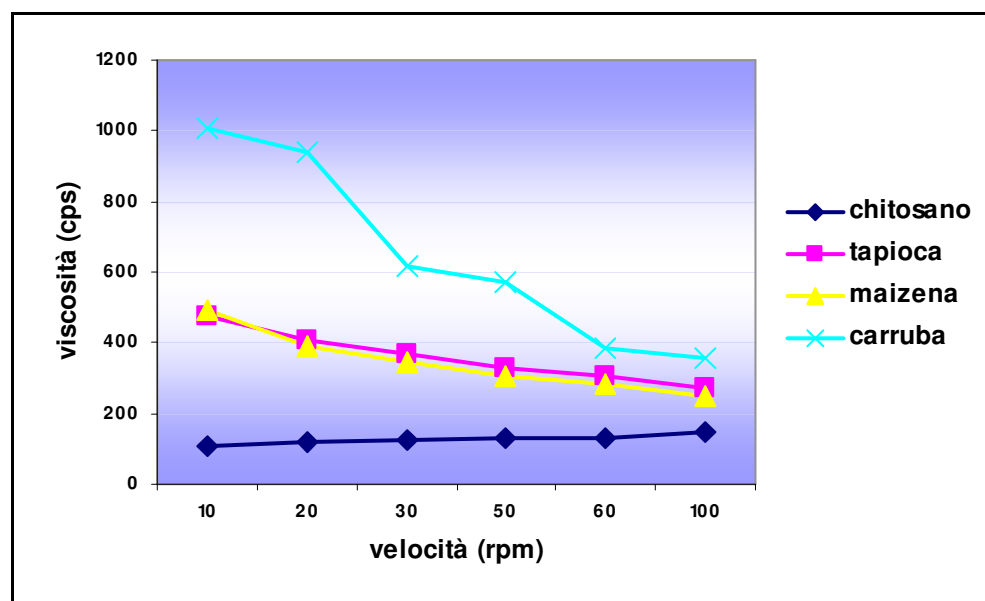


Figura 37. Valori di viscosità delle soluzioni filmogene al variare della velocità del rotore R2.

Per quanto riguarda il colore, dall'osservazione empirica delle soluzioni ha evidenziato una maggiore trasparenza del preparato a base di chitosano, mentre la soluzione chitosano-carruba, che ha presentato un'opacità intermedia, si è distinta dalle altre per un colore tendente al giallino. Le soluzioni di chitosano-maizena e chiosano-tapioca hanno presentato dei valori interme alle altre soluzioni.

Queste osservazioni sono confermati dai rispettivi valori di b^* (indica la tendenza verso il giallo o il blu) L^* (misura la maggiore o minore trasparenza) rilevati con il colorimetro (**Tabella 15**).

Tabella 15. Valori di dei parametri del colore.

Coordinate	chitosano	chitosano tapioca	chitosano maizena	chitosano carruba
C	27,5	26,1	15,7	41
H	190,6	133,2	222,3	201,9
L*	17	21,4	18,3	23,1
a*	13,3	1,6	14,7	-15,8
b*	0,6	8,7	0,7	13

Nonostante le differenze di trasparenza tra soluzioni, una volta applicate come coating sui gamberi sgucciati, hanno formato un sottile strato di rivestimento dal colore uniforme, non permettendo né influenzando la differenziazione tra i diversi campioni trattati.

9.2 *Monitoraggio della shelf life dei gamberi*

9.2.1 *pH*

I dati ottenuti dalla misurazione del pH sono stati elaborati calcolando le medie dei valori ottenuti in ciascuna prova.

Per evidenziare la variazione di questo parametro nel tempo sono stati confrontati i valori relativi ai campioni rivestiti con quelli del controllo durante i diversi giorni di conservazione.

La **Figura 38** riporta i valori di pH durante il periodo di conservazione. I campioni trattati con le diverse soluzioni di coating hanno mostrato differenze; nei campioni trattati con la soluzione di chitosano si è ottenuta una minore variazione di pH che si è mantenuto inferiore rispetto alle altre soluzioni fino al 3° giorno di conservazione; dal 6° al 9° giorno tali valori hanno avuto un andamento crescente pur attestandosi al di sotto dei valori di pH del controllo. I campioni rivestiti con la soluzione di chitosano-tapioca, nonostante abbiano presentato un andamento crescente, raggiungono un valore di pH finale minore rispetto agli altri campioni e al controllo. Anche i campioni trattati con la soluzione di chitosano-carruba hanno evidenziato un andamento crescente di pH fino al 6° giorno di conservazione, il valore si è mantenuto costante fino al 9° giorno, avvicinandosi al valore di pH finale della soluzione contenente tapioca.

Per i campioni rivestiti con le soluzioni di chitosano-tapioca e chitosano-carruba il valore di pH durante il periodo monitorato non ha

superato il valore di 7.8, valore riconosciuto come margine critico di accettabilità (Chung et Lain, 1979).

I campioni rivestiti con la soluzione a base di chitosano-maizena hanno mostrato un andamento di pH crescente, paragonabile al comportamento del campione non trattato.

In conclusione si può affermare che anche se tutte le soluzioni presentano un andamento crescente durante il periodo in esame, i valori di pH si mantengono comunque sempre inferiori al controllo.

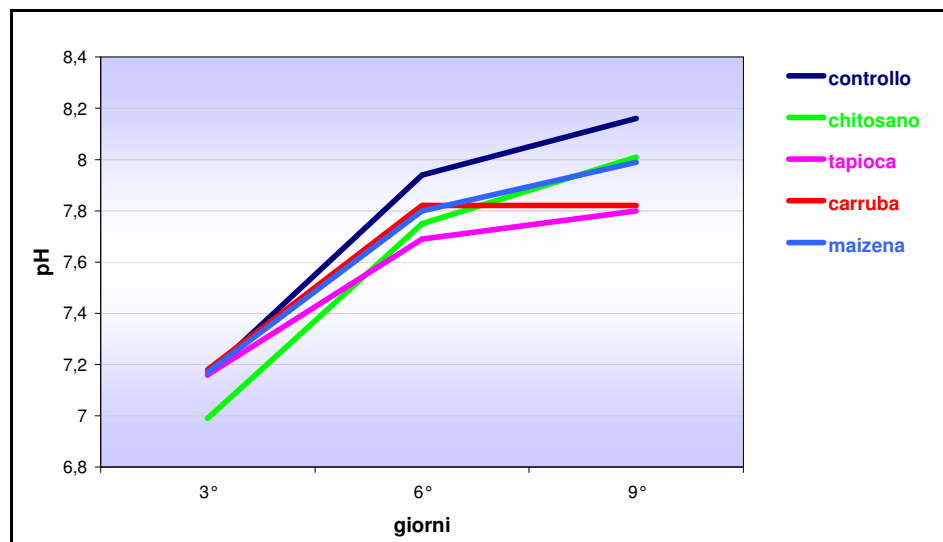


Figura 38. Andamento del pH in campioni di gambero rosa conservati a 2°C.

9.2.2 Colore

L'elaborazione dei dati riguardanti il colore è stata effettuata in modo da calcolare il ΔE , parametro che consente di definire una differenza visiva tra due colori ed esprimibile numericamente come segue:

$$\Delta E = [(L_f - L_i)^2 + (a_f - a_i)^2 + (b_f - b_i)^2]^{1/2}$$

dove f e i rappresentano rispettivamente il valore finale ed iniziale del parametro (Riva, 2003).

Sia i campioni che il controllo mostrano una variazione del colore rispetto al gambero fresco non trattato, i valori di ΔE variano da un minimo di 6 per i campioni trattati con la soluzione di chitosano carruba ad un massimo di 15 per quelli trattati con chitosano-maizena, con un andamento crescente nel tempo ad eccezione della soluzione di carruba.

Per quanto concerne i campioni con il film a base di chitosano (**Figura 39**), la variazione di colore al 3° giorno di conservazione è inferiore rispetto al controllo, mentre nel 6° e 9° si attesta a valori superiori.

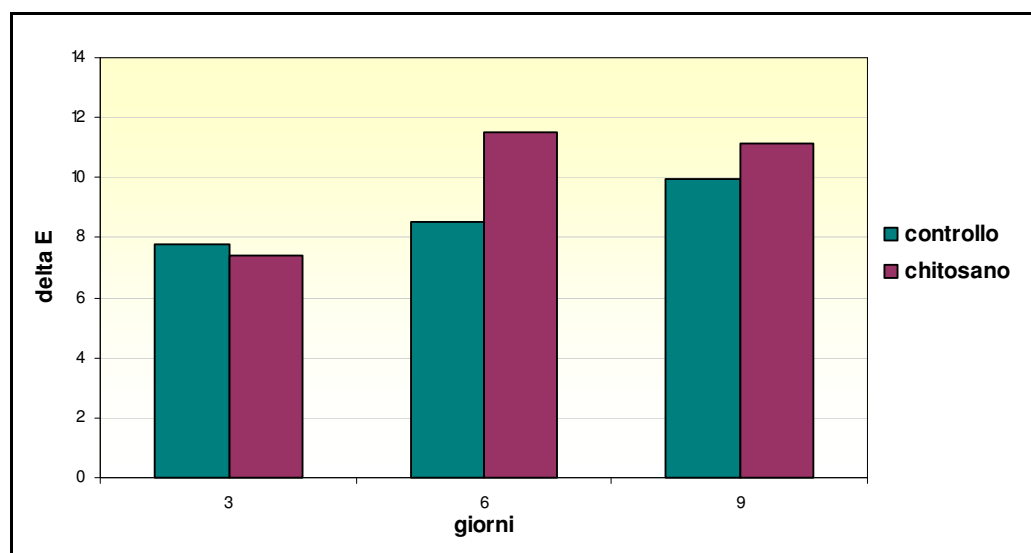


Figura 39. Andamento nel tempo dei valori di ΔE nei campioni trattati con chitosano rispetto al controllo.

I campioni che hanno subito il dipping nella soluzione chitosano-tapioca, presentano invece una variazione di colore maggiore al 3° e 6° giorno di conservazione rispetto al controllo, mentre un ΔE inferiore al 9° giorno (**Figura 40**).

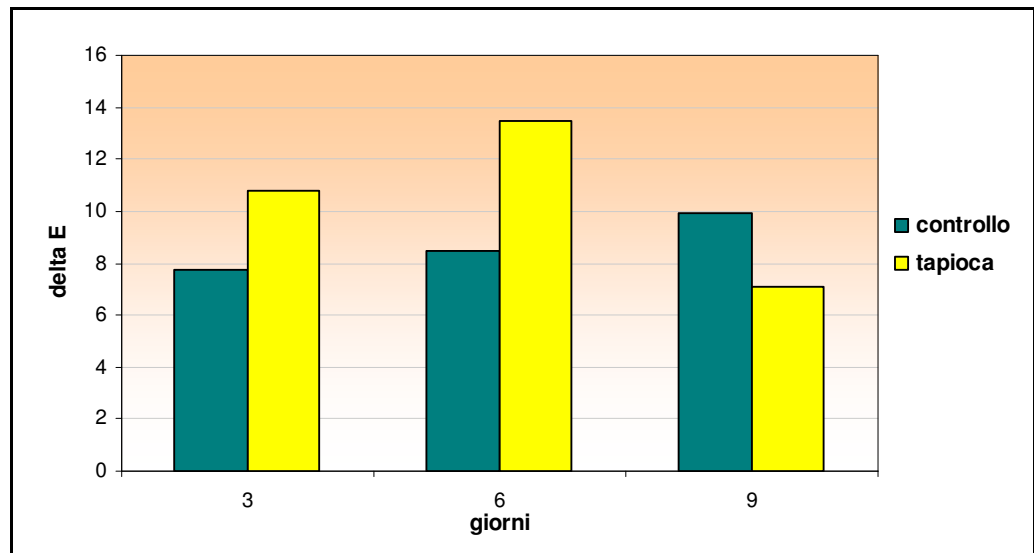


Figura 40. Andamento nel tempo dei valori di ΔE nei campioni trattati con chitosano-tapioca rispetto al controllo.

I campioni trattati con la soluzione di chitosano-maizena presentano per ciascun giorno di monitoraggio una variazione di colore maggiore rispetto al controllo (**Figura 41**).

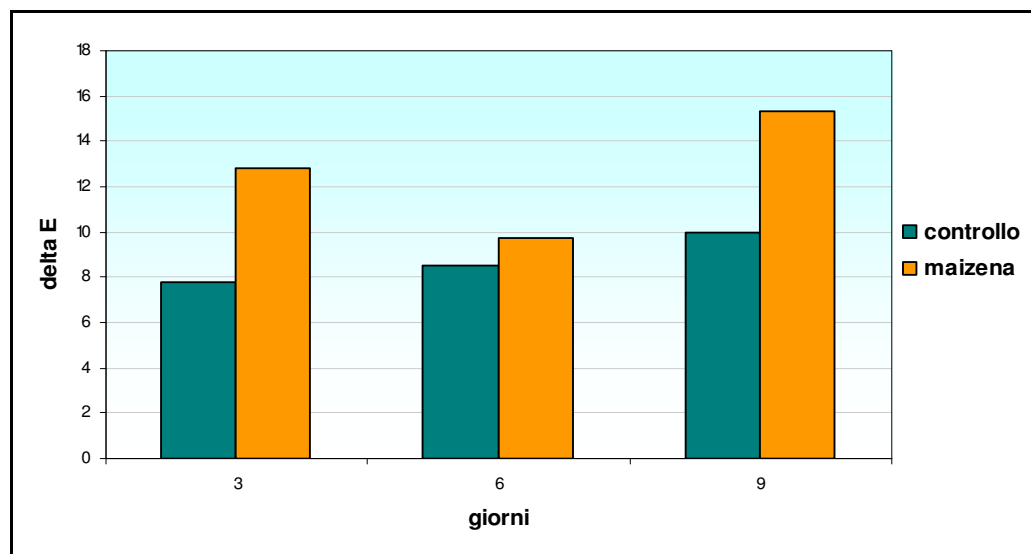


Figura 41. Andamento nel tempo dei valori di ΔE nei campioni trattati con chiosano-maizena rispetto al controllo.

I campioni trattati con la soluzione di chitosano-carruba mostrano una variazione di colore maggiore rispetto al controllo al 3° e 9° giorno mentre il ΔE è inferiore al 6° giorno di conservazione (**Figura 42**).

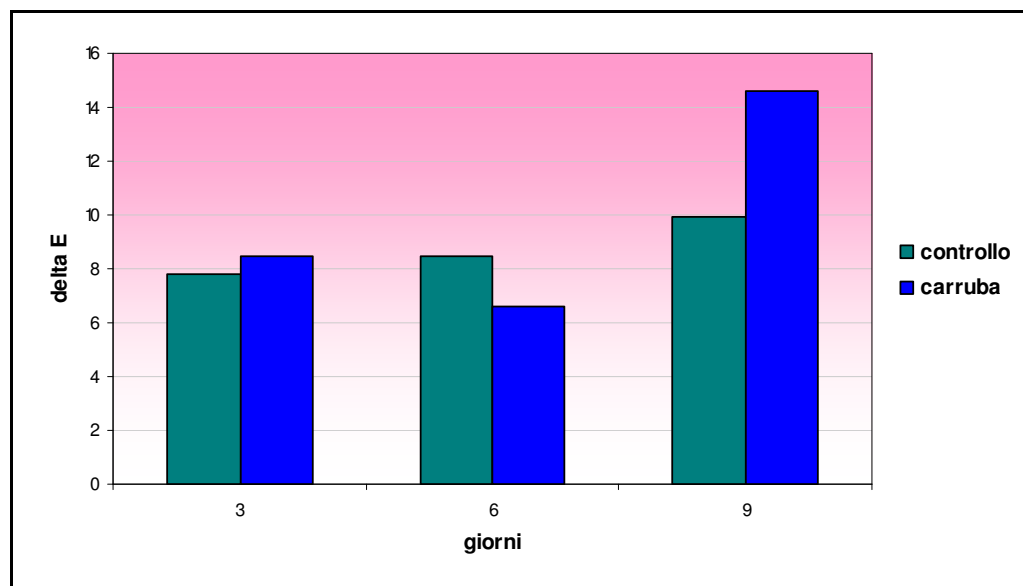


Figura 42. Andamento nel tempo dei valori di ΔE nei campioni trattati con chiosano-carruba rispetto al controllo.

Le prove confermano quanto riportato in bibliografia, in quanto i coating non posseggono capacità inibente la variazione di colore, a tal proposito il trattamento più efficace è quello con bisolfiti che contrasta l'imbrunimento tipico dei crostacei.

9.2.3 Texture

La misurazione della texture dei campioni di gamberi ha fornito dati che sono stati elaborati calcolando dapprima le rispettive medie e deviazioni standard ed in seguito confrontando i risultati nel tempo.

La texture dei campioni di gamberi trattati con tutte le soluzioni non ha mostrato alcun risultato positivo a seguito del trattamento di coating, e nessuna differenza significativa emerge rispetto al controllo. L'unica eccezione si ha per campioni trattati con il film a base di chitosano che si distinguono per valori maggiori di texture in corrispondenza del sesto giorno di conservazione (**Figura 43**).

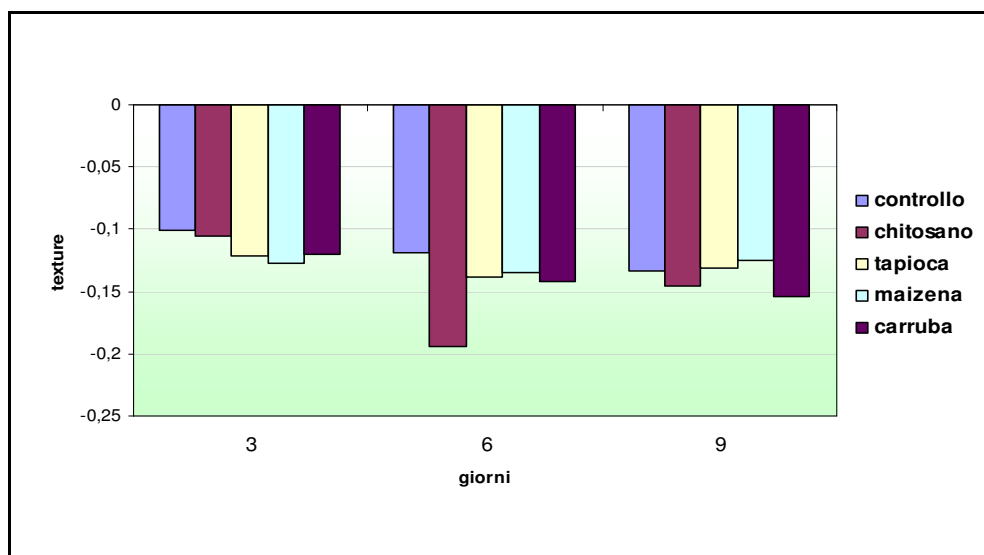


Figura 43. Variazione della texture nel tempo

9.2.4 Azoto basico volatile totale (ABVT)

Per tutte le tesi (gambero immerso nelle varie soluzioni di coating) l'andamento dei valori di ABVT è crescente nel tempo; ma confrontando le diverse soluzioni (**Figura 44**) si nota che i campioni trattati con la soluzione di chitosano presentano i valori di ABVT inferiori rispetto agli altri campioni. Le soluzioni di tapioca, maizena e carruba non mostrano alcun effetto inibente, i campioni presentano infatti valori di ABVT superiori al controllo.

Lo stesso andamento si osserva dopo 6 e 9 giorni di conservazione, in cui i campioni trattati con chitosano presentano rispettivamente un contenuto di 17,37 e 23,73 mg/100g di prodotto.

Dai risultati ottenuti si evidenzia una concentrazione di ABVT inferiore a 30 mg/100g di parte edibile, livello indicativo per considerare il prodotto non commestibile (Hanpongongkittikun *et al* 1995).

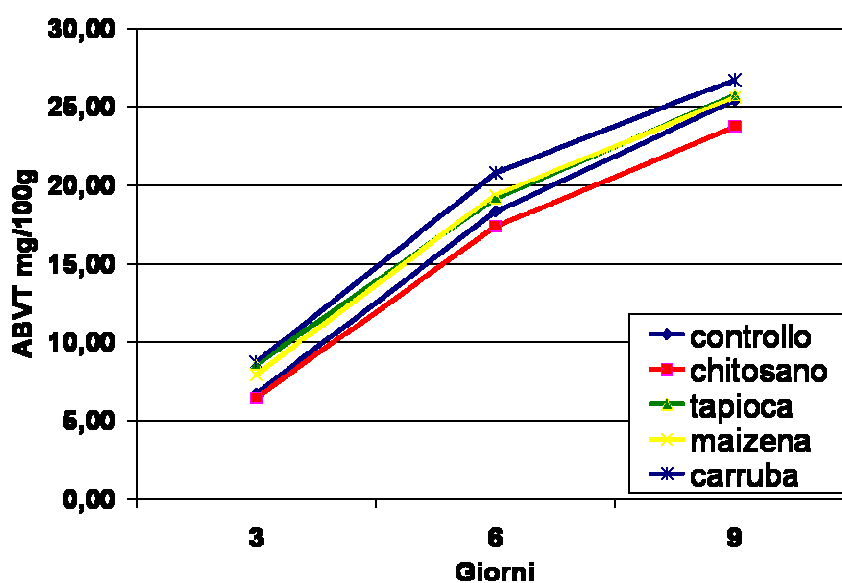


Figura 44. Andamento dell'ABVT in campioni di gambero rosa stoccati a 2°C.

9.2.5 *Analisi sensoriale*

L'elaborazione dei dati è stata effettuata mediante Analisi della Varianza ad 1 via (ANOVA), inoltre i dati medi sono stati sottoposti al test statistico del confronto multiplo in base al calcolo dell'LSD (Least Significance Differences) per determinare quali descrittori differenziano i campioni. La significatività della sorgente di variazione è valutata in termini di F mediante il confronto tra valori sperimentali e valori tabulati (Pagliarini, 2002).

Dall'Analisi della Varianza dei dati sensoriali, i campioni di gambero a t1 e t8 presentano differenze significative per i descrittori odore di gambero per $p \leq 0.01$, odore di mare e valutazione complessiva per $p \leq 0.001$ e odore di ammoniaca per $p \leq 0.05$.

A t1 i campioni di gambero trattati con chitosano-tapioca, chitosano-maizena e chitosano presentano la più alta intensità del descrittore odore di gambero; i campioni trattati con chitosano-maizena e il controllo presentano la più alta intensità del descrittore odore di mare; i campioni trattati con chitosano e il controllo presentano la più alta intensità del descrittore valutazione complessiva; per il descrittore negativo odore di ammoniaca i gamberi trattati con chitosano-tapioca presentano la più bassa intensità. I gamberi trattati con chitosano-maizena a t8 (**Figura 45**) rispetto a t1 hanno perso l'odore di gambero; i campioni trattati con chitosano-tapioca e chitosano presentano la più alta intensità di odore di mare e valutazione complessiva mentre quelli trattati con chitosano-maizena e chitosano-carruba presentano la più alta intensità dell'odore di ammoniaca.

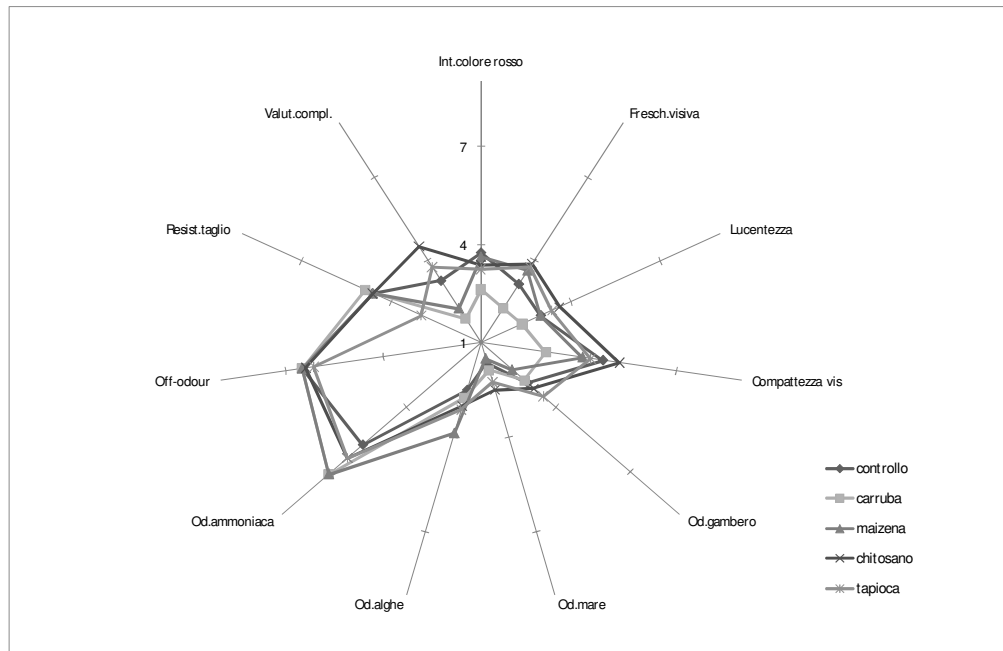


Figura 45. Profilo sensoriale dei cinque campioni di gambero trattati e non a t8.

9.2.6 *Analisi microbiologica*

I risultati delle indagini effettuate sono riportati di seguito (**Figura 46**). I dati ottenuti, considerati come valore medio per il singolo trattamento, sono risultati compresi tra $9,67 \times 10^2$ e $3,2 \times 10^4$ UFC/g.

I valori più bassi sono stati rilevati nei campioni di gambero trattati con il film a base di chitosano-carruba, dove la carica media apportata è fra $3,7 \times 10^3$ e $8,2 \times 10^3$ UFC/g; viceversa i campioni che hanno mostrato i valori più alti ($1,32 \times 10^4$ e $3,2 \times 10^4$ UFC/g) sono stati quelli trattati con la soluzione chitosano-maizena. Valori di carica microbica intermedia sono state evidenziate nei campioni trattati con la soluzione chitosano e chitosano-tapioca.

Complessivamente, considerando i risultati ottenuti, si evince che il livello medio di contaminazione batterica nei campioni è risultato molto contenuto. Inoltre le soluzioni di coating utilizzate per migliorare la shelf life non hanno apportato contaminazioni batteriche aggiuntive rispetto al prodotto non trattato, ad eccezione dei campioni trattati con maizena in cui si è riscontrato un livello di contaminazione batterica dell'ordine di $2,2 \times 10^4$ UFC/g rispetto al controllo (gambero non trattato, $8,5 \times 10^3$ UFC/g). Pertanto dall'indagine preliminare svolta si può affermare che i campioni risultano sicuri dal punto di vista igienico-sanitario.

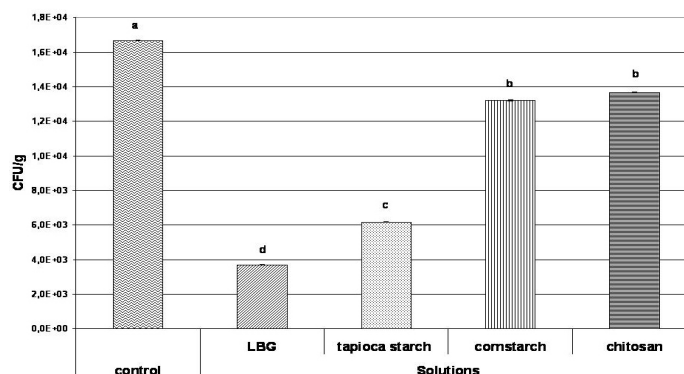


Figura 46. Valori medi di carica batterica mesofila aerobia totale (UFC/g) in campioni di gambero dopo 8gg di conservazione ($P < 0,01$, test di Duncan).

CONCLUSIONI

Il patrimonio varietale del carrubo presenta aspetti di poca chiarezza spesso dovuti a casi di sinonimia ed eteronimia nelle diverse aree di coltivazione per l'abitudine di denominare le varietà con appellativi del dialetto locale (Daris, 1964; Spina, 1986).

Per tali ragioni, il numero di varietà di carrubo diffuse a livello mondiale supera abbondantemente le 200 unità, delle quali solo alcune di nuova costituzione ottenute da specifici programmi di miglioramento genetico condotti principalmente negli USA, Cipro e Italia (La Malfa e La Rosa, 2006). Tali programmi hanno subito nel tempo profonde modificazioni negli obiettivi perseguiti. Causa di tali cambiamenti è certamente la diversa destinazione del prodotto; nel passato, infatti, erano le varietà a più alto rapporto polpa/semi ad essere ricercate, recentemente, invece, vi è stata un'inversione di tendenza per cui l'attività di valorizzazione del germoplasma è stata rivolta alle varietà che producono frutti con elevata resa in seme.

Attualmente l'industria di trasformazione riceve e lavora semi la cui provenienza non è accertabile e in nessun caso il prodotto viene lavorato separatamente per lotti provenienti da specifiche cultivar. Se questa eterogeneità non ha costituito un problema per l'utilizzo della polpa, risulta invece interessante poter diversificare il prodotto in base all'origine, in quanto del seme vengono utilizzati, con finalità diverse, i tegumenti, l'endosperma ed il germe. Tali componenti potrebbero avere incidenza percentuale diversa a seconda delle cultivar, con interessanti risvolti per l'industria alimentare.

Il valore aggiunto della trasformazione sarà quindi maggiore se la resa in semi delle carrube, la resa in farina e la capacità addensante della farina ottenuta saranno più alte. In altri termini la quantità e la qualità della farina può dipendere dalla varietà pertanto la conoscenza del potenziale

tecnologico delle più diffuse varietà di carrubo è stata utile per adeguare le scelte varietali alle mutate esigenze di mercato.

In particolare sono state approfondite le caratteristiche chimiche e tecnologiche di farine provenienti da dodici varietà differenti anche per origine geografica.

Il contenuto di polisaccaridi, la lunghezza delle catene e il rapporto mannosio/galattosio (M/G) sono fattori determinanti per le proprietà addensanti della gomma di semi carruba, la solubilità in acqua e la temperatura di formazione del gel (Rizzo *et al.*, 2004).

Nel dettaglio un più alto valore M/G è un indice di maggiore linearità dei polimeri, cioè un più ridotto numero di galattosi in catena laterale e un più grande volume effettivo delle macromolecole (Belitz e Grosch, 1999).

I risultati ottenuti confermano l'alto livello di variabilità intraspecifica giustificando quindi l'interesse non solo verso le cultivar con una più elevata resa in semi ma anche con una farina con migliori capacità addensanti.

In particolare i campioni italiani Racemosa, Pasta e Latinissima e il campione marocchino M12 hanno mostrato le migliori prestazioni tecnologiche presentando elevata resa in gomma ed alti valori di viscosità delle soluzioni acquose; la cultivar italiana femminile "Pasta" è risultata inoltre quella migliore per produzione di seme per frutto, caratteristica molto richiesta dal mercato. Le varietà ermafrodite si sono attestate agli ultimi posti di questa graduatoria, confermando quanto sinora riportato in letteratura (Melgarejo e Salazar, 2003).

L'applicazione della farina di semi di carruba come edible coating per il settore food ha mostrato interessanti aspetti di tipo funzionale nel miglioramento della shelf life dei prodotti ittici.

I crostacei in particolare rappresentano alimenti soggetti a facile deterioramento (melanosi, proliferazione batterica, ABVT, ossidazioni

legate alle condizioni di stoccaggio) per cui devono essere consumati freschi, previa cottura, o conservati mediante appropriate tecnologie (freddo, antimicrobici, antiossidanti, ecc.).

Le soluzioni testate, pur avendo mostrato comportamenti diversi rispetto i parametri considerati, hanno esercitato un effetto limitante sulla crescita microbica, tale da mantenere i campioni sicuri dal punto di vista igienico sanitario.

La variazione di colore, problematica da sempre caratterizzante la conservazione dei crostacei, non ha subito effetti positivi dal coating, come riscontrato in bibliografia, limitata essenzialmente dall'aggiunta dei biosolfiti. Stesso andamento è stato riscontrato per le variazioni di texture e ABVT, con unica eccezione nei campioni trattati con il film a base di chitosano che si sono distinti per valori maggiori di texture e bassi livelli di ABVT dopo 9 giorni di conservazione.

La ricerca svolta ha evidenziato come, a prescindere dalla tipologia di conservazione considerata, il gambero rappresenta un prodotto estremamente deperibile. A tal fine si prevede un approfondimento della ricerca che studi soluzioni di coating impiegate in combinazioni con antiossidanti e antimicrobici, in modo da impedire le reazioni enzimatiche causa principale dell'imbrunimento dei prodotti ittici.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Arena E., Fallico B., Maccarone E. 2001. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juice as influenced by constituents, concentration process and storage. *Food Chemistry*, 74: 423-427.

Avola C., Licciardello F., Maccarone E., Tomaselli F., Muratore G. 2009. “Caratterizzazione preliminare di farine di semi di carruba (*Ceratonia siliqua* L.) di differente origine geografica”, IX Congresso Italiano di Scienza e Tecnologia degli Alimenti (CISETA), 11 e 12 Giugno 2009, Milano.

Avola C., Licciardello F., Mazzaglia A., Giannone V., Zanti C., Muratore G. 2010a. “Quality evaluation of shrimps (*Parapenaeus Longirostris*) as affected by edible films”, Shelf-life international meeting (SLIM), June 23-35, Saragozza.

Avola C., Mazzaglia A., Lanza C.M., Muratore G. 2010b “Influenza del coating sulla shelf life dei gamberi rosa (*Parapenaeus longirostris*)”, VIII Congresso Nazionale di Chimica degli Alimenti, 20-24 Settembre, Marsala (TP).

Aydinli M. and Tutas M. 2000. Water sorption and water vapour permeability properties of polysaccharide (locust bean gum) based edible films. *Food Science and Technology*. 33: 63–67.

Aydinli M., Tutas M, Bozdemir Ö.A. 2004. Mechanical and light transmittance properties of locust bean gum based edible films. *Turk. Journal Chemistry*. 28: 163–171.

Baldwin E.A., Nisperos S M.O., Chen X. Hagenmaier R.D. 1996. Improving storage life of cut apple and potato with edible coating. *Postharvest Biology and Technology* .9: 151–163.

Baraldi M., Avallone R., Corsi L., Baraldi C., Farina F., Cosenza F., Zeneroli M.L., 2002. “Valorizzazione dal punto di vista dietetico-alimentare e fitoterapeutico di composti tannici presenti nel carrubo (*Ceratonia siliqua* L.)”. Atti del convegno: “Il carrubo, situazione attuale e prospettive di sviluppo”, 28 dicembre, Ragusa.

Barracosa P., Osório J., Cravador A. 2007. Evaluation of fruit and seed diversity and characterization of carob (*Ceratonia siliqua L.*) cultivars in Algarve region. *Scientia Horticulturae* n. 114: 250-257.

Batlle I., Tous J. 1997. Carob tree. *Ceratonia siliqua L.* Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Belitz H.D., Grosch W. (1999). *Food Chemistry: Vegetables and Vegetable Products*. 2nd Ed. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.p.743-744.

Ben A., Kurth L. B. 1995. Edible film coatings for meat cuts and primal. Meat '95. The Australian Meat Industry Research Conference. CSIRO, September 10–12.

Bombace G., 1972. “Considerazioni sulla distribuzione delle popolazioni di livello batiale con particolare riferimento a quelle bentoniche”. *Quaderni Laboratorio Tecnologia della Pesca*, 1 (4): 65-82.

Bravo L., Abia R., Saura -Calixto F. 1994. *Journal of Agricultural. Food Chemistry*, 42: 1481-1487.

Bravo L., Grados N., Saura-Calixto F. 1994. Composition and potential use of Mesquite pods (*Prosopis pallida L.*): comparison with carob pods (*Ceratonia siliqua L.*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 65: 303-306.

Bresolin T.M.B., Milas M., Rinaudo M., Reicher F., Ganter J.L.M.S. 1999. Role of galactomannan composition on the binary gel formation with xanthan. *Intenational Journal of Biological Macromolecules*, 26: 225-231.

Brito de Carvalho J.H. 1987. Criteria for evaluation of carob varieties. *Actas II Simp. Intern. Sobre la garrofa. Generalitat Valenciana. CAPA Ed. Valencia*. 19-45.

Brugaletta M., Avola C., La Malfa S., La Rosa G., Muratore G. 2010. Morphological and technological characterization of different carob varieties in Sicily, VIII International Horticultural Congress (IHC), August 22-27, Lisboa.

- Cheng L.H., Karim A.A., Seow C.C. 2007. Effects of acid modification on physical properties of konjac glucomannan (KGM) films. *Food Chemistry*. 103: 994–1002.
- Chung C.Y. and Lain, J.L., 1979. Studies on the decomposition of frozen shrimp II. Deterioration during iced and refrigerated storage. *Nat. Sci. Council. Mon. (R.O.C.)* 7: 1139-1146.
- Cutter C. N. and Sumner S. S. 2002. Application of edible coatings on muscle foods. A. Gennadios (Ed.), *Protein-based films and coatings* (pp. 467–484). Boca Raton, FL: CRC Press.
- Damigella P., Gentile A., La Malfa S. 2001. La coltura del carrubo in Sicilia. *Atti del Convegno “Il carrubo, situazione attuale e prospettive di sviluppo”*(pp 1-15), 28 dicembre, Ragusa.
- Daris M .1964. *Cultivo del algarrobo*. Sintes Ed. Barcelona. 170 pp. DL: B-8630-64.
- Dea I.C.M. and Morrison A. 1975. Chemistry and interactions of seed galactomannans. *Advances in Carbohydrate. Chemistry and Biochemistry*. 31: 241–312.
- Falciai L., Minervini R., 1992. *Guida dei crostacei decapodi d’Europa*. Franco Muzzio Editore. 182.
- Fischer W., Bauchot M. L., Schneider M., 1987. *Fiches FAO d’identification des espèces pour les besoins de la pêche (Révision 1). Méditerranée et mer Noire. Zone de pêche 37. 1. Vegetaux et Invertébrés*. Publication préparée par la FAO (Project GCP/INT/422/EEC). Rome, FAO: 760.
- Froggia C., 1982. Contribution to the knowledge of the biology of *Parapenaeus longirostris* (LUCAS) (Decapoda, Penaeidea). *Quaderni del Laboratorio di Tecnologia della Pesca*, 3 (2-5): 163-168.

Garcia-Ochoa F., Casas J.A. 1992. Viscosity of locust bean gum (*Ceratonia siliqua*) solutions. *Journal Science Food Agricultural*, 59: 97-100.

Glicksman M. 1983. *Food hydrocolloids* (Vol. 3). Boca Raton, FL: CRC Press.

Goycoolea F.M., Morris E.R., Gidley M.J. 1995. Viscosity of galactomannans at alkaline and neutral pH: evidence of “hyperentanglement” in solution. *Carbohydrate Polymers*, 27: 69-71.

Guilbert S., Gontard L.G.M. 1996. Prolongation of shelf life of perishable food product using biodegradable film and coating. *Lebensmittel-Wissenschaft-und-Technology*, 29: 10-17.

Hanpongongkittikun, A. Siripongvutikorn, S., Cohen, D.L. 1995. Black tiger shrimp (*Peneaus monodon*) quality changes during iced storage. *ASEAN Food Journal* 10(4): 125-130.

Hillcoat D., Lewis G., Verdcourt B. 1980. A new species of *Ceratonia* (Leguminosae-Caesalpinioideae) from Arabia and the Somali Republic. *KewBull.* 35: 261–271.

INEA, il comparto della frutta in guscio in Italia. 2001.

Kester J.J., Fennema O.R., 1986. Edible films and coatings: a review. *Food Technology*, 40(12): 47-59.

Kok M.S., Hill S. E., Mitchell J. R. 1999a. Viscosity of galactomannans during high temperature processing: influence of degradation and solubilisation. *Food Hydrocolloids*, 13: 535-542.

Kok M.S., Hill S.E., Mitchell J. R.A. 1999b. A comparison of rheological behaviour of crude and refined LBG preparations during thermal processing. *Carbohydrate Polymers*, 38: 261-265.

La Malfa S., La Rosa G. 2006. Ibla: una nuova selezione di carrubo. *Frutticoltura* 3: 74–77.

- Lanza A. 1995. Utilizzazione zootecnica della polpa di carrube. Atti della conferenza sul carrubo. 13-14 Maggio, Noto (SR).
- Lawless H. and Heymann H., 1999. Sensory Evaluation Of Food- Principles and Practices. An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland.
- Levi D., Andreoli M. G., Giusto R. M., 1995. First assessment of the rose shrimp, *Parapenaeus longirostris* (Lucas , 1846), in the Central Mediterranean. *Fish Res.*, 21: 375-393.
- Li B., Kennedy J.F., Jiang Q.G., Xie B.J. 2006b. Quick dissolvable, edible and heatsealable blend films based on konjac glucomannan – gelatin. *Food Research International*. 39: 544–549.
- Li B., Xie B., Kennedy J. F. 2006a. Studies on the molecular chain morphology of konjac glucomannan. *Carbohydrate Polymers*. 64: 510–515.
- Liston J. 1982. Recent advance in the chemistry of iced fish spoilage. *Chemistry an biochemistry of marine food products*, Martin, R. Flick, G. Herban, C.E., and Ward, D.E., Eds, 27.
- MacFie H.J.H., Bratchell N., Greenhoff K and Vallis Ly. 1989 Designs to balance the effect of order of presentation and fist-order carry over effects in hall tests. *Journal of Sensory Studies.*, 4: 129-148.
- Maltese U., Pesce S. 1996. Produzione e mercato delle carrube in Italia. Università degli Studi, Catania.
- Martinez-Alvarez O., Montero P., Gomez-Gulline M. 2005. Controlled atmosphere as coadjuvant to chilled Storage for prevention of melanosis in shrimps (*Parapenaeus longirostris*). *European Food Research Technology*, 220: 125-130.
- Martins-Loução MA 1985. Estudos fisiológicos e microbiológicos da associação da alfarroberira (*Ceratonia siliqua* L.) con bacterias Rhizobiaceas Ed. Lisboa. Portugal. 134 pp.

Melgarejo P., Salazar D.M. 2003. Tratado de fruticultura para zonas áridas vol. II, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, pp. 430.

Mirakis D., Kalaitzakis J., Mitrakos K. 1988. Criteria for recognizing carob tree varieties. In: Proceedings of the II International Carob Symposium, Valencia, Spain, 195-208.

Mitrakos K (1987). The botany of *Ceratonia*. Actas II Simp. Intern. sobre la garrofa. Generalitat Valenciana. CAPA Ed. Valencia, 209-218.

Muratore G. 2010. Nuove prospettive di utilizzo dei derivati di carruba (*Ceratonia siliqua* L.). Convegno: Attualità e prospettive della coltivazione del carrubo. 3 dicembre 2010, Rosolini (SR).

Newcom E., Technologies and Services industry Master of Business, July 1988.

Nisperos-Carriedo M.O. 1994. Edible coatings and films based on polysaccharides. Edible coatings and films to improve food quality, J.M. Krochta, E.A. Baldwin and M. Nisperos-Carriedo (Eds.), p. 305–335. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pennsylvania.

Pagliarini E., 2002 “Valutazione sensoriale”. Editore Ulrico Hoepli, Milano.

Pecorino B. 2001. Analisi e prospettive delle carrube e dei derivati. Atti del convegno: Il carrubo. Situazione attuale e prospettive di sviluppo, 28 dicembre, Ragusa.

Rapporti ISTISAN 1996. Metodi di analisi per il controllo microbiologico degli alimenti. A cura di: De Medici D., Fenicia L., Orefici L., Stacchini A., vol. 35, pp.166.

Ray B., 1996. In: Stern RA, Kaplan L (Eds) Fundamental Food Microbiology. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 213-232.

REGOLAMENTO (CE) N. 2074/2005 DELLA COMMISSIONE del 5 dicembre 2005 recante modalità di attuazione relative a taluni prodotti di cui al regolamento

(CE) n. 853/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio e all'organizzazione di controlli ufficiali a norma dei regolamenti del Parlamento europeo e del Consiglio (CE) n. 854/2004 e (CE) n. 882/2004, deroga al regolamento (CE) n. 852/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio e modifica dei regolamenti (CE) n. 853/2004 e (CE) n. 854/2004

Rendina N., Lucisano A., Amato P. and Vallentrisco M. 1969. Fatty acids in *Ceratonia siliqua* fruits. Gas Chromatographic study. *Nuova Chemistry*, 45: 92-94.

Ribeiro-Caschallo A., Arrobas I., 1987. Observation on the biology of *Parapenaeus longirostris* (LUCAS, 1846) from the south coast of Portugal. *Inv. Pesq.*, 51 (Suppl. 1): 210-212.

Richardson P.H., Willmer J., Foster T.J. 1998. Dilute solution properties of guar and LBG in sucrose solutions. *Food Hydrocolloids*, 12: 339-348.

Rizzo V., Tomaselli F., Gentile A., La Malfa S., Maccarone E. 2004. Rheological Properties and sugar Composition of Locust Bean Gum from Different Carob Varieties (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7925-7930.

Sanchez-Capuchino J.A., Salazar D.M., García S., Martínez R., Melgarejo P. 1987. Determinación de variabilidades dentro de materiales valencianos de algarrobo. *Actas II Simp. Intern. Sobre la garrofa*. Generalitat Valenciana Ed. Valencia. 79-84.

Savarino G., Barbagallo R. N.2009. Trasformazione industriale di carrube in Sicilia aspetti tecnologici e tipologie di prodotto. *Industrie Alimentari*, XLVIII novembre, 36-45.

Sensory analysis-Methodology-Texture profile; ISO 11036

Smith R., Nickleson R., Martin R., et Finne G. 1984. Bacteriology of indole production in shrimp homogenates held at different temperature. *Journal Food Protection*, 47: 861-864.

Spina P. 1986. Il carrubo. Edagricole, Italia.

Takigami S., Phillips G. O., Williams P. A. 2000. Konjac mannan. Handbook of Hydrocolloids., Eds., Woodhead Publishing, Cambridge, UK.

Talja R.A., Helén H., Roos Y.H., Jouppila K. 2007. Effect of various polyols and polyol contents on physical and mechanical properties of potato starch-based films. Carbohydrate Polymers, 67: 288–295.

Tous J., Batlle I. 1990. El algarrobo. Mundi-Prensa. Madrid. 102 pp. ISBN: 84-7114-268-6.

UNI 10957: Analisi sensoriale Metodo per la definizione del profilo sensoriale degli alimenti e delle bevande. Ente Nazionale Italiano di Unificazione, Milano (2003).

UNI 8589, 1990. Analisi sensoriale – Criteri generali per la progettazione di locali destinati all’analisi. Ente Nazionale Italiano di Unificazione, Milano

Weber C. J., 2000. Biobased packaging materials for the food industry: Status and prospective”. A European Concerted Action.

Whistler R. L., Daniel J. R. 1990. Functions of polysaccharides in foods. In A. L. Branen, P. M. Davidson, & S. Salminen (Eds.), Food additives (pp. 395–424). New York: Marcel Dekker.

Ye X., Kennedy J. F., Li B., Xie B. J. 2006. Condensed state structure and biocompatibility of the konjac glucomannan/chitosan blend films. Carbohydrate Polymers, 64: 532–538.