

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA INDUSTRIALE

*Corso di Dottorato in Ingegneria industriale
Curriculum in Ingegneria chimica - XXXV Ciclo*

PhD thesis: “FUNCTIONALIZATION OF PASTA THROUGH THE INCORPORATION OF ACTIVE INGREDIENTS OF NATURAL ORIGINS”

Tutor

Prof. Ing. Giovanna Ferrari

Dottoranda

Serena Carpentieri

Dr. Sergio De Gennaro

Coordinatore del Corso di dottorato

Prof. Francesco Donsì

Anno accademico: 2021/2022

Abstract

L'industria alimentare sta attraversando un processo di costante evoluzione per soddisfare le esigenze dinamiche di una popolazione in crescita, sempre più preoccupata per le malattie legate alla dieta. Tuttavia, le strategie globali che promuovono diete sane sono raramente riuscite a causa della resistenza posta alla modifica delle preferenze dei consumatori. In questo scenario, l'aggiunta di composti bioattivi a cibi altamente consumati, come la pasta, rappresenta un'opportunità per promuovere stili di vita più sani attraverso il consumo di prodotti funzionali, senza cambiare drasticamente le abitudini di consumo. La pasta, uno dei prodotti più consumati al mondo, può essere riconsiderata come vettore di composti bioattivi che non vengono consumati in quantità sufficienti nella dieta quotidiana. Il concetto emergente di sfruttamento e valorizzazione di fonti naturali ed economiche, come i residui agroalimentari, per lo sviluppo di prodotti alimentari ad alto valore aggiunto e innovativi, contenenti ingredienti che promuovono effetti benefici sulla salute, potrebbe contribuire a soddisfare la crescente domanda dei consumatori di prodotti più green e di etichette più pulite.

Tuttavia, le proprietà tecno-funzionali e gli effetti benefici dei composti bioattivi sono i fattori più critici da controllare durante la produzione e la preparazione della pasta, a causa delle condizioni di lavorazione intensive, per preservare le caratteristiche di qualità della pasta finale. Allo stesso modo, l'incorporazione di ingredienti non convenzionali senza alterare gli aspetti sensoriali della pasta è un compito piuttosto impegnativo che richiede una comprensione fondamentale degli effetti dei diversi ingredienti funzionali aggiunti nella pasta sulla struttura, proprietà nutrizionali e sensoriali del nuovo prodotto.

Per preservare il profilo sensoriale della pasta tradizionale e migliorarne l'effetto salutistico, l'introduzione di tecnologie innovative tese al recupero e all'estrazione di composti bioattivi naturali potrebbe essere un'opportunità e un punto di forza nello sviluppo della pasta funzionale.

Nell'ambito dell'economia "zero rifiuti", lo sfruttamento di tecnologie non termiche per sbloccare completamente i componenti bioattivi dai sottoprodotti agroalimentari rappresenta un'opportunità per l'industria della pasta per soddisfare la crescente domanda dei consumatori di processi sostenibili. Pertanto, l'obiettivo principale di questa tesi di dottorato è stato quello di sviluppare una nuova pasta funzionale con proprietà benefiche per la salute legate alla prevenzione della sindrome metabolica, attraverso l'incorporazione di principi attivi recuperati da sottoprodotti agroalimentari utilizzando campi elettrici pulsati (PEF) e tecnologie di omogeneizzazione ad alta pressione (HPH). Queste nuove tecnologie di distruzione delle cellule potrebbero rappresentare strategie operative adeguate ed efficaci per affrontare le principali sfide di lavorazione associate alla funzionalizzazione della pasta, in grado di migliorare i rendimenti di estrazione dei composti bioattivi target, attenuare l'impatto dell'aggiunta di nuovi ingredienti sulla qualità della pasta e migliorarne le proprietà benefiche per la salute. Una comprensione completa dei fattori più critici coinvolti nel processo di funzionalizzazione della pasta, la conservazione degli attributi di qualità, nonché i potenziali effetti benefici della pasta funzionale sulle linee cellulari umane, sono state studiate anche per colmare la lacuna di conoscenze nell'attuale ricerca sulla dimostrazione degli effettivi effetti benefici derivanti dal consumo della pasta di nuova formulazione, e per sostenere ulteriormente la sua eventuale trasferibilità industriale. A tal fine, sono state selezionate sei diverse materie prime, tra cui sottoprodotti agroalimentari e matrici erbacee, sulla base di considerazioni commerciali, impatto scientifico e una completa caratterizzazione fisico-chimica, tossicologica e biologica. Queste materie prime sono state sottoposte ad estrazione assistita da PEF e trattamento HPH in condizioni di lavorazione ottimizzate e in base alla loro composizione e all'aspetto fisico.

Successivamente, la standardizzazione e l'ottimizzazione della formulazione del prodotto e il processo di produzione della pasta sono stati effettuati e la pasta ottenuta è stata caratterizzata in modo completo in termini di microstruttura, caratteristiche sensoriali, proprietà di cottura, proprietà termiche, bioattività attraverso il processo di produzione e la fase di cottura, digeribilità *in vitro* e attività biologica sulle linee cellulari umane.

Diversi metodi analitici sono stati utilizzati per indagare le proprietà dei campioni di pasta, vale a dire analisi prossimale (linee guida AOAC), calorimetria a scansione differenziale (DSC), reometro, texturometro, colorimetro, microscopia elettronica a scansione (SEM), tra gli altri.

I risultati ottenuti hanno evidenziato il potenziale uso delle matrici studiate come potenziali fonti di composti bioattivi e hanno rafforzato le potenzialità delle tecnologie PEF e HPH di sbloccare i composti target intracellulari, migliorando l'efficienza di estrazione. L'efficacia dell'HPH nel disgregare le cellule vegetali è stata confermata anche dall'analisi granulometrica e dalla microscopia, permettendo di formulare ipotesi per l'implementazione di tale trattamento innovativo in un impianto reale per la produzione totale di estratti. Gli estratti ottenuti hanno mostrato una buona stabilità quando sottoposti a condizioni di lavorazione simili a quelle utilizzate per la preparazione e la produzione della pasta. Questo comportamento è stato rilevato soprattutto per le sospensioni trattate con HPH che potrebbero aver indotto cambiamenti nella microstruttura delle macromolecole (ad esempio, fibre, proteine) naturalmente presenti negli estratti totali che tendono a formare molecole bioattive complesse con maggiore stabilità.

Gli estratti incorporati nella matrice della pasta hanno dimostrato di contribuire positivamente alla sua bioattività, che è rimasta costante anche dopo le fasi di produzione e cottura. È interessante notare

che i diversi tipi di pasta funzionale prodotti (R430E, E700I, O112H, N309BN, D701GN, B520GP) hanno mostrato consistenza, proprietà di umidità residua, capacità di assorbimento dell'acqua, perdite di cottura e microstruttura paragonabili a quelle della pasta tradizionale.

Nel complesso, tutti i campioni hanno mostrato un profilo di digestione *in vitro* simile. È interessante, tuttavia, sottolineare che gli estratti totali utilizzati per funzionalizzare i campioni di pasta E700I, R430E e D701GN, hanno indotto un significativo aumento della frazione amido resistente (meno facilmente digeribile) durante la fase intestinale, e una corrispondente riduzione della frazione di amido rapidamente digeribile rispetto alla pasta di controllo. Questo comportamento potrebbe essere attribuito all'effetto protettivo indotto dalle macromolecole, naturalmente presenti nelle sospensioni totali trattate con HPH, sui granuli di amido, rendendoli meno accessibili agli enzimi amilolitici. La digeribilità dell'amido rallentata e il rilascio controllato di glucosio attraverso la digestione, essendo uno dei principali fattori responsabili della sindrome metabolica, supportano la conclusione che la pasta funzionale potrebbe potenzialmente prevenire il verificarsi di picchi glicemici. Coerentemente con i risultati di digeribilità dell'amido, il campione R430E è risultato essere particolarmente promettente in termini di assorbimento del glucosio quando valutati gli effetti biologici del suo digestato sulle linee cellulari del liposarcoma (cellule SW872). Allo stesso modo, il campione B520GP ha mostrato potenti proprietà antinfiammatorie nei macrofagi umani stimolati da Lipopolisaccaride (LPS) rispetto alla pasta tradizionale. I risultati finora ottenuti permettono di evidenziare che l'aggiunta di estratti naturali nella formulazione della pasta non ha influito sulla lavorabilità dell'impasto e ha influenzato solo leggermente le caratteristiche sensoriali del prodotto finale. Inoltre, le diverse fasi del processo di produzione della pasta non influenzano la biodisponibilità dei composti bioattivi che sono in grado di resistere al tratto gastrointestinale e possono essere rilasciati negli organi target.

Tuttavia, studi *in vivo* sull'attività biologica della nuova pasta funzionale e uno studio sulla fattibilità tecnico-economica dell'innovazione di prodotto sono fondamentali per supportare l'eventuale upscaling a livello industriale.

DEPARTMENT OF INDUSTRIAL ENGINEERING

*PhD course in Industrial Engineering
Curriculum in Chemical Engineering - XXXV Cycle*

PhD thesis: “FUNCTIONALIZATION OF PASTA THROUGH THE INCORPORATION OF ACTIVE INGREDIENTS OF NATURAL ORIGINS”

Supervisors

Prof. Ing. Giovanna Ferrari

Dr. Sergio De Gennaro

PhD course coordinator

Prof. Francesco Donsì

Academic year: 2021/2022

PhD student

Serena Carpentieri

Abstract

The food industry is undergoing a constant evolution process to meet the dynamic requirements of a growing population, increasingly concerned about diet-related diseases.

However, global strategies promoting healthy diets have rarely succeeded because of the resistance posed to the modification of consumers' preferences. In this scenario, the addition of bioactive compounds to highly consumed foods, such as pasta, represents an opportunity to promote healthier lifestyles through the consumption of functional products, without drastically changing consumer habits. Pasta, one of the most consumed products worldwide, can be re-designed as a carrier for bioactive compounds, which are not consumed in sufficient amounts in the daily diet.

The emerging concept of exploiting natural and cheap sources, such as agri-food residues, for developing high added-value and innovative food products, containing health-promoting ingredients, could contribute to satisfying the increasing consumers' demand for greener products and cleaner labels.

However, the techno-functional properties and beneficial effects of bioactive compounds are the most critical factors to be controlled during pasta production and preparation, due to intensive processing conditions, for preserving the quality attributes of the final pasta. Likewise, the incorporation of non-conventional ingredients without affecting the sensory aspects of pasta, is a rather challenging task, which requires a fundamental understanding of the effects of the different functional ingredients added into the pasta on the structural, nutritional, and sensorial properties of the novel product.

To preserve the traditional pasta-like sensory profile and to improve its health-promoting effect, the introduction of innovative technologies on the recovery and extraction of natural bioactive compounds could be an opportunity and a strength in the development of functional pasta.

In the frame of the "zero waste economy", the exploitation of nonthermal technologies to fully unlock bioactive components from agri-food by-products represents an opportunity for the pasta industry to satisfy the increasing consumers' demand for sustainable processes.

Therefore, the main aim of this Ph.D. thesis was to develop a new functional pasta with health-beneficial properties related to the prevention of metabolic syndrome, through the incorporation of active principles recovered from agri-food by-products by using Pulsed electric fields (PEF) and High-Pressure Homogenization (HPH) technologies. These novel cell disruption technologies could represent suitable and effective operational strategies to tackle the main processing challenges associated with pasta functionalization, able to enhance the extraction yields of target bioactive compounds, to mitigate the impact of the addition of novel ingredients on the pasta quality, as well as to improve its health-beneficial properties.

A comprehensive understanding of the most critical factors involved in the pasta functionalization process, the preservation of the quality attributes, as well as the potential beneficial effects of the functional pasta on human cell lines, have also been investigated to fill the knowledge gap in the current research on the demonstration of the actual beneficial effects arising from the consumption of the newly formulated pasta, and to further support its eventual industrial transferability.

To this purpose, six different raw materials, including agri-food by-products and herbaceous matrices, have been selected based on commercial considerations, scientific impact, and a comprehensive physicochemical, toxicological, and biological characterisation. These raw materials have been subjected to PEF-assisted extraction and HPH treatment at optimized processing conditions and according to their proximate composition and physical appearance.

Subsequently, the standardisation and optimization of the product formulation and pasta production process were carried out and the obtained pasta was comprehensively characterised in terms of microstructure, sensory, cooking, pasting, and thermal properties, bioactivity through the production process and cooking phase, *in vitro* digestibility, and biological activity on human cell lines.

Several analytical methods have been used to investigate the properties of the pasta samples, namely proximate analysis (AOAC guidelines), differential scanning calorimetry (DSC), rheometer, texturometer, colourimeter, scanning electron microscopy (SEM), among others.

The results obtained highlighted the potential use of the investigated matrices as potential sources of bioactive compounds and strengthened the potentiality of PEF and HPH technologies to unlock intracellular target compounds, enhancing their extraction efficiency. The efficacy of HPH to disrupt the plant cells was confirmed also by particle size analysis and microscopy, allowing to formulate hypothesis for the implementation of such innovative treatment in a real plant for total extracts production.

The obtained extracts showed a good stability when subjected to processing conditions similar to those utilized for pasta preparation and production. This behaviour was detected especially for HPH-treated suspensions that could have induced changes in the microstructure of macromolecules (e.g., fibres, proteins) naturally present in total extracts tending to form complex bioactive molecules with enhanced stability.

The extracts incorporated in the pasta matrix demonstrated to positively contribute to its bioactivity, which remained constant even after the pilot scale production process and cooking phase. Interestingly, the different types of functional pasta produced (R430E, E700I, O112H, N309BN,

D701GN, B520GP) showed texture, residual moisture properties, water absorption capacity, cooking losses, and microstructure comparable to those of traditional pasta.

Overall, all the samples exhibited a similar *in vitro* digestion profile. It is interesting, however, to highlight that the total extracts used to functionalize E700I, R430E, and D701GN pasta samples, induced a significant increase in resistant starch fraction (less easily digestible) during the intestinal phase, and a corresponding reduction in rapidly digestible starch fraction compared to the control pasta. This behaviour could be attributed to the protective effect induced by the macromolecules, naturally present in the total HPH-treated suspensions, on the starch granules, making them less accessible to amylolytic enzymes. The slowed starch digestibility and controlled release of glucose through digestion, being one of the main factors responsible for the metabolic syndrome, support the conclusion that functional pasta could potentially prevent the occurrence of glycaemic peaks.

Consistently with the findings of starch digestibility, R430E sample was found to be particularly promising in terms of glucose uptake when evaluating the biological effects of its digestate on liposarcoma cell lines (SW872 cells). Likewise, B520GP sample showed powerful anti-inflammatory properties in LPS-stimulated human macrophages when compared to the traditional pasta.

The results obtained so far allow to highlight that the addition of natural extracts in pasta formulation did not affect the processability of the dough and affected only slightly the sensorial characteristics of the final product. Moreover, the different phases of the pasta production process do not affect the bioavailability of the bioactive compounds that are able to resist the gastrointestinal tract and can be delivered in the target organs.

Nevertheless, *in vivo* studies on the biological activity of the novel functional pasta and a study of the techno-economic feasibility of the product innovation are fundamental to support the possible upscaling to an industrial level.