UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MESSINA

Dipartimento di Scienze Veterinarie

Dottorato in Scienze Veterinarie

Coordinatore: Ch.ma Prof.ssa Adriana Ferlazzo

Curriculum Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare

Settore Scientifico Disciplinare AGR/18

Innovazioni tecnologiche in mangimistica per la valorizzazione delle biomasse residuali nel settore del petfood. Analisi delle caratteristiche macrostrutturali indotte dai processi di estrusione nella produzione di diete per cani con differenti livelli di inclusione di Pastazzo d'Arancia.

Dottorando: Dott. Salvatore Cucinotta

Tutor: Ch.ma Prof.ssa Biagina Chiofalo

Co – Tutor: Ch.mo Prof. Aulus Cavalieri Carciofi

TRIENNIO 2016 - 2019

A Me Stesso, per tutto quello che ho sacrificato.

A Enea, sperando che mi abbia perdonato.

A Isabella, Josephine e Vanni, che sono il mio passato, il mio presente e il mio futuro.

RINGRAZIO

Mia madre, Isabella. Lei che da sempre segna il nord nella bussola sregolata che è la mia vita.

Josephine, la mia più grande sostenitrice, e forse l'unica al mondo a pensare che io sia perfetto così come sono.

Vanni, l'unico uomo che io abbia mai amato.

Il piccolo Pippino, che sa godere dei miei momenti SI e sopportare i miei momenti NO.

I miei cognati, Carmelo e Simona, che sono riusciti a diventare per me dei fratelli.

I miei amici. Perché la famiglia ci capita, ma gli amici ce li scegliamo; ed io, orgogliosamente, vi ho scelto.

Enea. Colui che ha saputo godere della mia presenza e superare le mie innumerevoli assenze. Non abbiamo avuto la possibilità di salutarci, ma so che sono stato l'unico che tu abbia mai amato, e questo mi basta.

I Professori e Colleghi tutti del Dipartimento di Scienze Veterinarie dell'Università di Messina, ed in particolar modo la mia tutor, Prof.ssa Biagina Chiofalo, che mi ha sopportato ma soprattutto supportato in questi anni di formazione. Grazie per tutti i momenti di confronto, di crescita e di allegria.

Os meus amigos, companheros de casa do Brasil, e os colegas de trabalho do Laboratório de Pesquisa em Nutrição e Doenças Nutricionais da UNESP, sobetudos Mayara Baller: Muito Obrigado pela amizade, pela ajuda, pelas conversas divertidas, pelo respeito e pe las noites de bagunza. Muito Sucesso.

O meu co-orientador, Prof. Dr. Aulus Cavalieri Carciofi, muito obrigado pela oportunidade de trabalhar em sua equipe, pela paciência, confiança e ensinamentos.

ABSTRACT

Aim of the study was to evaluate the effect of inclusions of orange pulp (OP) at different dosages and of two different die diameter (D_d) during the extrusion of dog foods, on processing parameters, starch gelatinization (SG), in vitro digestibility of organic matter and kibble macrostructure. The experiment followed a 5x2 factorial arrangements, with 5 diets (4 experimental and 1 control) and 2 D_d, with a total of 10 diets. Five normal maintenance diets were formulated: four diets with different inclusions of OP (5%, 10%, 15% and 20%) in substitution of the corn meal and one diet without OP. The diet was manufactured in a single screw extruder with two die diameters (D_d) (5 and 7 mm), resulting in two die open areas of 19.6 mm^2 and 39,5 mm^2. The other extruder parameters were unchanged. Data were analyzed via ANOVA (SAS), considering the variables OP inclusion and D_d and their interactions and compared by polynomial contrasts ($P<0.05$). The increase of the OP concentration in the diets determined, during the extrusion, a reduction in radial expansion and piece volume and an increase in the longitudinal expansion and piece density. The best longitudinal expansion, obtained with OP, was associated with fiber structures consisting in a higher number of small cells with shapes closer to spheres. The changes in the parameters driving expansion could be due to the differences in the rheological properties between the continuous starch matrix and the OP particles, their interaction and their low

physicochemical compatibility. Die diameter of 7 mm determined a reduction in radial expansion and piece volume and an increase in cutting force and in piece density. The specific mechanical energy - SME was significantly reduced by the increased D_d and OP inclusion. The die with diameter of 5 mm should be used for greater radial expansion and starch gelatinization. Further studies on the OP inclusion may clarify the influence of different fibers on palatability, sensory properties and acceptance by dogs. In the same way, it would be advantageous to regulate the water absorption/retention properties of these fibers, for their use as filling components in diets characterized by low energy content.

INDICE

1. INTRODUZIONE Pag.9

1.2. Mercato del Pet food Italiano, Europeo e Brasiliano Pag.13

1.3. Concetto di Bio-economia Pag.16

1.4. Agrumi e loro sottoprodotti Pag.18

1.4.1. Produzioni Agrumarie in Italia e in Brasile **Pag.20**

1.4.2. Utilizzo di sottoprodotti dell'industria agrumaria **Pag.22**

1.4.3. Sottoprodotti degli agrumi come fonte di fibra dietetica, ed effetti delle fibre solubili ed insolubili nell'alimentazione del cane **Pag.28**

1.5. Estrusione nel settore del Pet Food: Estrusori e Tecnologie di produzione Pag.37

1.5.1. Molitura delle Materie Prime **Pag.45**

1.5.2. Estrusori e Tecnologie di produzione **Pag.49**

1.5.3. Materie Prime **Pag.54**

1.5.4. Effetto dell'Estrusione sull'amido **Pag.55**

1.5.5. Effetto dell'estrusione sui lipidi **Pag.56**

1.5.6. Effetto dell'estrusione sulle proteine **Pag.57**

1.5.7. Effetto dell'estrusione sull'appetibilità **Pag.59**

1.5.8. Fibra e Processo di Estrusione **Pag.60**

1.5.9. Effetto dell'estrusione sulle vitamine **Pag.63**

1.5.10. Effetto dell'estrusione sui fattori anti nutrizionali **Pag.66**

1.5.11. Implicazioni dovute alle applicazioni di energia meccanica ed energia termica **Pag.68**

1.5.12. Resistenza al taglio negli estrusi **Pag.70**

2. SCOPO DELLA TESI **Pag.71**

3. MATERIALI E METODI **Pag.73**

3.1. Formulazione delle Diete ed Ingredienti Fibrosi **Pag.73**

3.2. Estrusione **Pag.75**

3.3. Campionamento **Pag.78**

3.4. Analisi Chimiche **Pag.83**

3.5. Macrostruttura e Caratteristiche dei Croccantini **Pag.85**

3.6. Calcolo dell'Energia Meccanica Specifica (SME) e dell'Energia Termica Specifica (STE) **Pag.87**

3.7. Analisi Statistica **Pag.88**

4. RISULTATI **Pag.90**

4.1. Analisi chimiche e granulometriche **Pag.90**

4.2. Parametri del Processo di Estrusione **Pag.94**

4.3. Macrostruttura e Gelatinizzazione dell'Amido delle Diete **Pag.100**

5. DISCUSSIONE **Pag.105**

6. CONCLUSIONI **Pag.118**

7. BIBLIOGRAFIA **Pag.122**

1. INTRODUZIONE

Nei piani di sviluppo rurale, diverse sono le misure finalizzate a sostenere un modello di azienda agricola multifunzionale. Si lavora per promuovere un modello di filiera sostenibile, che valorizzi le risorse locali e i sottoprodotti dell'agricoltura, che altrimenti andrebbero inutilizzati e considerati scarti, e il cui corretto smaltimento ha sempre rappresentato un costo non indifferente per le aziende. Oggi esistono tutte le condizioni affinché si affermi un modello di produzione in cui gli scarti del settore agro-industriale possano rappresentare un reddito e non un costo [Interlandi, 2014].

Le quantità dei rifiuti delle varie filiere produttive del settore agricolo sono valutate solo marginalmente dalle statistiche ufficiali del settore, contrariamente a quanto avviene per i prodotti primari destinati alla commercializzazione o al reimpiego nell'azienda produttrice; tali valutazioni si basano soprattutto sulle rilevazioni presso i principali canali ufficiali di commercializzazione, ove vengono scambiati solo gli scarti di interesse pratico, peraltro in quantità ridotta rispetto alle effettive disponibilità. In aggiunta, l'analisi della bibliografia esistente rende evidente come i dati a disposizione siano scarsi e difficilmente confrontabili tra loro poiché disomogenei, spesso incompleti e talvolta approssimativi; infatti, le quantità sono frequentemente

stimate senza definire alcune caratteristiche chimico–fisiche piuttosto importanti, e inoltre il dato più incerto rimane quello delle attuali destinazioni dei residui [ANPA – ONR, 2001].

L'Organizzazione per la Cooperazione Economica e lo Sviluppo (OECD) definisce i rifiuti come:

"*materiali che non sono prodotti principali (ad esempio prodotti per il mercato) per i quali chi li ha generati non trova un utilizzo nel suo proprio scopo di produzione, trasformazione o consumo, e che quindi vengono buttati o chi li ha generati ha intenzione di farlo o gli è richiesto farlo. I rifiuti possono essere prodotti durante l'estrazione di materiale grezzo, durante il suo processamento verso prodotti intermedi o verso quelli finali, durante il consumo dei prodotti finali, e durante qualsiasi altra attività umana*" [OECD, 1995].

I rifiuti hanno origine in ogni step della filiera agroalimentare, e in generale possono essere suddivisi in base alla fase nella quale vengono prodotti:

1) *Produzione*: in questa fase i rifiuti possono generarsi in campo prima della raccolta a causa di disastri naturali o infestazioni delle colture; al momento del raccolto possono essere causati da inefficienze e anomalie nella raccolta delle colture, nella fase successiva alla raccolta i rifiuti possono essere causati da problemi di conservazione e contaminazione;

2) *Trasformazione:* in questa fase i rifiuti fanno parte del processamento dei prodotti alimentari e possono includere scarti derivanti dai processi industriali, eliminazione di prodotti sub-standard, perdite, etc;

3) *Distribuzione:* i rifiuti agroalimentari prodotti in questa fase comprendono tutte le perdite e gli scarti che possono avere origine nella distribuzione all'ingrosso e al dettaglio e nei servizi di ristorazione;

4) *Consumo:* in questa fase, quella del consumo finale, i rifiuti agroalimentari comprendono gli scarti derivanti dalla preparazione dei pasti nelle famiglie o da alimenti che vengono eliminati perché scaduti o in eccesso [Scotto, 2012].

La letteratura più recente offre due lavori interessanti che hanno provato a fare una stima degli scarti prodotti dalla filiera nel mondo e in Europa [Scotto, 2012]. Il primo studio è stato realizzato dalla FAO e dall'Istituto svedese per il cibo e per la tecnologia (SIK) e stima che circa un terzo del cibo prodotto ogni anno per il consumo umano, pari a circa 1,3 miliardi di tonnellate di alimenti, va perduto o sprecato [Parfitt, 2010]. Lo studio ha evidenziato inoltre che i paesi industrializzati e quelli in via di sviluppo dissipano circa la stessa quantità di cibo, 670 e 630 milioni di tonnellate, rispettivamente. Gli alimenti che vengono sprecati maggiormente sono frutta e verdura, radici e tuberi. Il rapporto distingue tra perdite alimentari e spreco di cibo. Le perdite alimentari, che avvengono in fase di produzione, raccolto

e lavorazione sono più rilevanti nei paesi in via di sviluppo a causa delle carenti infrastrutture, della scarsa tecnologia e della mancanza d'investimenti nei sistemi agro-alimentari. Nei paesi industrializzati le maggiori perdite si riscontrano, invece, nei punti vendita e presso le case dei consumatori che gettano nella spazzatura prodotti alimentari eccedenti in buone condizioni che potrebbero ancora essere consumati. Un altro studio interessante è stato realizzato dal DG Ambiente [European Commission, 2010] che ha avuto come obiettivo quello di stimare i rifiuti agroalimentari prodotti nelle fasi di trasformazione, distribuzione e consumo finale in ogni Stato membro dell'Unione Europea. I dati riportati nel report indicano che nell'Unione Europea vengono buttati via circa 90 milioni di tonnellate di rifiuti agroalimentari, con il settore del consumo finale che incide per il 42% sul totale dei rifiuti agroalimentari. Questo studio tuttavia presenta il limite di non includere nella sua stima i rifiuti prodotti a livello di produzione, che invece la letteratura sottolinea essere uno step importante di produzione dei rifiuti anche nei paesi sviluppati [Segrè & Gaiani, 2011].

In questo contesto le rigide norme che regolano lo smaltimento dei sottoprodotti della filiera agroalimentare, i relativi costi e la necessità dell'industria di ottimizzare le risorse, hanno fatto puntare l'attenzione sulle diverse applicazioni che i sottoprodotti, privi di mercato e destinati allo smaltimento, possono trovare nel campo della alimentazione animale, attraverso il recupero

di componenti preziose come pectine, flavonoidi e vitamine [Licitra et al., 2001; Zema&Tamburino, 2015; Chiofalo et al., 2019; Vastolo et al., 2019].

1.2. *Mercato del Pet food Italiano, Europeo e Brasiliano*

Nonostante il perdurare di una difficile situazione economica generale, il mercato del pet food continua a registrare nel tempo una performance positiva.

I proprietari di animali domestici hanno aspettative diverse e specifiche che dovrebbero essere soddisfatte dai mangimi industriali. La sicurezza, l'adeguatezza nutrizionale e gli effetti positivi sulla salute dei prodotti per animali domestici sono il principale focus per i proprietari. La salubrità è divenuta l'aspetto più importante per molti consumatori, specialmente per coloro che sono disposti a pagare prezzi più elevati per i prodotti premium. L'innovazione rimane la parola d'ordine del mercato pet food che si declina in tre macro trend trasversali: ricerca scientifica finalizzata allo sviluppo di prodotti funzionali, nutrizione e gusto [Salerno, 2013].

Un interessante censimento realizzato dalla Federazione europea dell'industria degli alimenti per animali da compagnia, FEDIAF, nel 2018 ha rilevato che circa 80 milioni di famiglie europee convivono con almeno un animale da compagnia. I gatti rimangono i pet più popolari con una popolazione di oltre 74 milioni nell'Unione Europea che sale a circa 102 milioni, se si considera anche la Russia. La popolazione canina si attesta invece sopra i 66

milioni nell'UE, che diventano più di 84 milioni se si amplia l'analisi alla Russia. Prendendo in considerazione altri animali da compagnia, in Europa si registrano 35 milioni di uccelli ornamentali e 9 milioni di acquari. Estendendo la valutazione anche alla Russia, si contano quasi 50 milioni di uccelli e 16 milioni di acquari. In Europa sono inoltre presenti 28 milioni di piccoli mammiferi e una popolazione di quasi 8 milioni di rettili [FEDIAF, 2018].

L'Italia si colloca al primo posto tra i paesi europei per numero di pet in rapporto alla popolazione: in totale sono 50,3 pet ogni 100 abitanti, davanti a Francia (46,5), Polonia (41), Spagna (40,2), Germania (39,8) e Regno Unito (30,3) [Minciotti, 2019].

Il mercato dei prodotti per l'alimentazione dei cani e dei gatti nel 2018 [Rapporto Assalco – Zoomark, 2019] ha sviluppato un giro d'affari di 2.082 milioni di euro in crescita a valore del 1,5% rispetto all'anno precedente, con un tasso di sviluppo superiore a quello del largo consumo confezionato (+0,1% nel 2018). Il mercato degli alimenti per gatto rappresenta il 52,3% del totale mercato e vale 1.089 milioni di euro, mentre quello degli alimenti per cane 993 milioni di euro. 565.136 le tonnellate vendute in totale (-1,2% rispetto all'anno precedente), con un acquirente che - per quanto riguarda la composizione del carrello - si orienta sempre più verso prodotti premium e formati più piccoli.

Considerando il periodo 2015-2018, il mercato si è sviluppato con un tasso di crescita annuo composto pari a +2,7% a valore (+1,2% il tasso del Largo Consumo Confezionato).

Tutti i principali segmenti (umido, secco, snack & treat) degli alimenti per cani e gatti registrano trend a valore positivi o in linea con l'anno passato. Il segmento degli alimenti umidi, con un fatturato in linea con quello dello scorso anno, è sempre il più importante (vale il 48,1% sul totale del mercato). Cresce, invece, del 2,5% il fatturato degli alimenti secchi per un totale di circa 900 milioni di euro.

Gli snack funzionali e fuoripasto (spuntini con obiettivi funzionali, ad esempio per favorire l'igiene orale) continuano a mostrare dinamiche positive (+5,4% a valore).

Il mercato degli alimenti per altri animali da compagnia registra in GDO un fatturato di circa 13,4 milioni di euro, confermando il trend di flessione già registrato negli ultimi anni. Uccelli (37,8%) e roditori (29,8%) i segmenti principali. Seguono gli alimenti per le tartarughe (15%) e per i pesci (16,9%).

La popolazione di animali domestici in Brasile nel 2018 è stata stimata in 132,4 milioni di unità, di cui 52,2 milioni di cani e 22,1 milioni di gatti. Questi grandi numeri fanno del Brasile il secondo paese al mondo per presenza di cani e gatti nelle famiglie, dando un'enorme spinta nel mercato del pet food brasiliano secondo i dati dell'Associação Brasileira de Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET, 2018). Il Brasile è il terzo

maggior produttore al mondo di alimenti destinati ai cani e gatti. I dati riportati sono i seguenti: USA 41%, Regno Unito 5,3%, Brasile 5,1%, Germania 5,1%, Francia 4,7%, Giappone 4,4%, Italia 3,2%, Russia 2,8%, Australia 2,6%, Cina 2,6%, altri 23,4%. Secondo l'ABINPET, nel 2017, sono stati prodotti 2,66 milioni di tonnellate di pet food, con un tasso di crescita del 9,9% rispetto al 2016, il che si traduce in un fatturato nel settore di 3,12 bilioni di Euro [ABINPET, 2018].

1.3. *Concetto di Bio-Economia*

Il concetto di bio-economia rappresenta "una visione per la società futura", indipendente dalle risorse fossili, che può fornire energia e prodotti con un valore aggiunto (fibre alimentari, prodotti industriali e sanitari) mediante un uso sostenibile delle risorse biologiche [Socaciu, 2014].

La commissione Europea ha definito la bioeconomia come "*the production of renewable biological resources and the conversion of these resources and waste streams into value added products, such as food, feed, bio-based products and bioenergy. To be successful, the bioeconomy needs to have sustainability and circularity at its heart. This will drive the renewal of our industries, the modernization of our primary production systems, the protection of the environment and will enhance biodiversity*" [Europe's bioeconomy Strategy, European Commission, 2018].

Le grandi aree tecnologiche incluse nel concetto di bio-economia sono: agricoltura, silvicoltura, pesca, produzione di cibo e pasta-carta, nonché biotecnologie, industrie chimiche ed energetiche [European Commission, 2012].

I quattro pilastri della bio-economia sono: (1) la produzione e la trasformazione degli alimenti; (2) i prodotti alimentari e sanitari a valore aggiunto; (3) i prodotti e servizi agroambientali; (4) l'energia e bio-elaborazione. Questi pilastri necessitano di ponti sostenibili tra i diversi settori e aree [Socaciu, 2014].

La Green Economy guidata dalle "3F" (Food-Feed-Fibers) è definita come parte del concetto di bio-economia integrata, essendo basata su sei settori: (1) Energia rinnovabile; (2) Edifici verdi; (3) Trasporto sostenibile; (4) Gestione delle risorse idriche; (5) Gestione dei rifiuti; (6) Gestione del territorio [Socaciu, 2014].

La biomassa rinnovabile comprende qualsiasi materiale biologico (agricoltura, silvicoltura e animale, compresi i pesci) come prodotto stesso o utilizzato come materia prima. Le biomasse residuali sono costituite da tutta una serie di materiali trattati meccanicamente che si originano dalle normali produzioni industriali. Per sua natura la biomassa è una risorsa distribuita sul territorio; parte di questa risorsa è in qualche modo già "disponibile" in quanto costituita da residui di vario tipo dell'attività primaria e secondaria.

Per gran parte delle biomasse residuali sussistono, a oggi, problematiche relative all'ottimizzazione del ciclo produttivo e alla logistica (raccolta, trasporto, stoccaggio, etc), oltre ad una attenta valutazione dell'impatto ambientale e agronomico legato al loro impiego. I residui colturali hanno delle caratteristiche intrinseche che li rendono diversi dai prodotti principali da cui derivano e dagli eventuali co-prodotti; le principali differenze riguardano: (1) la composizione della sostanza secca; (2) il contenuto di acqua al momento della raccolta; (3) la massa volumica apparente; (4) il contenuto di ceneri ed altri minerali. Le analisi sulle potenzialità economiche di impiego dei residui non possono tralasciare il fattore meccanizzazione delle operazioni di raccolta, carico, trasporto, scarico e immagazzinamento, che variano a seconda del tipo di materiale, dimensione dell'impresa e destinazione della materia prima. Tuttavia, oggi, anche se esistono semplici adattamenti delle macchine operatrici del comparto agricolo per alcuni residui agricoli, in altri casi il recupero degli stessi è più difficoltoso e richiede soluzioni innovative, che comunque i costruttori di macchine si stanno impegnando a trovare.

1.4. *Agrumi e loro sottoprodotti*

Il genere *Citrus*, della famiglia delle Rutaceae, include un grande numero di diversi frutti; i più importanti a livello mondiale sono l'arancio dolce (*C. sinensis*: 61,1% della produzione mondiale di agrumi), il mandarino (*C. reticulata*: 19,9%), il limone e il lime (*C. limon* e *C. aurantifolia*: 12,1%) ed il

pompelmo (*C. paradisi*: 5,0%). I generi di agrumi minori che comprendono la maggior parte del restante 2,0% sono l'arancia acida (*C. quarantium*) e il cedro (*C. medica*).

Morfologicamente sono composti essenzialmente dal pericarpo esterno, diviso in esocarpo (flavedo o guscio esterno, che contiene pigmenti in cloroplasti o cromoplasti), mesocarpo (albedo o parte bianca del guscio) e endocarpo (locula). Il flavedo e albedo formano il guscio, che ha una quantità maggiore di pectina rispetto alle altre parti [Santana, 2005]. Nella figura 1 è rappresentato un disegno schematico dell'arancio e delle sue parti [Chemat, 2010]. Il flavedo è per lo più composto da materiale cellulosico, ma contiene anche altri componenti, come oli essenziali, cere di paraffina, steroidi e triterpenoidi, acidi grassi, pigmenti (carotenoidi, clorofilla, flavonoidi), principi amari (limonene) ed enzimi. In seguito al processo di maturazione, le cellule del flavedo contengono carotenoidi (principalmente xantofilla) all'interno dei cromoplasti, che, in una precedente fase di sviluppo, contenevano clorofilla. Questa progressione, ormonalmente controllata, è responsabile del cambio di colore del frutto da verde a giallo-arancio a maturazione. La regione interna del flavedo è ricca di corpi pluricellulari con forme sferiche o piriformi, piene di oli essenziali. L'albedo si trova vicino al flavedo. È la parte interna della buccia che viene comunemente rimossa prima di mangiare il frutto ed è ricca di pectine. L'endocarpo è separato in sezioni, che sono

comunemente chiamate segmenti. La polpa succosa che riempie i segmenti viene solitamente indicata come vescicola del succo [Mamma & Christakopoulos, 2013].

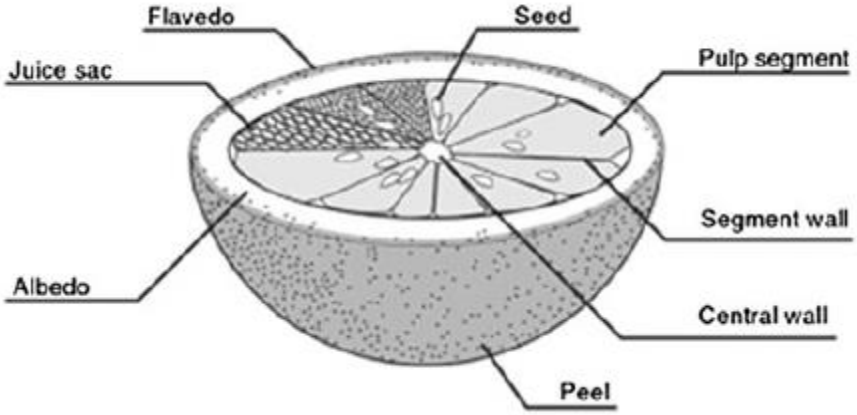


Figura 1 Morfologia Agrumi (Chemat, 2010).

1.4.1 Produzioni Agrumarie in Italia e in Brasile

L'industria agrumaria assume un'enorme importanza nelle aree Mediterranee [Fernandez–Lopez et al., 2004] e in particolare in Italia, uno dei principali Paesi, tra quelli europei, produttori di agrumi.

Secondo i dati FAO [2017], la produzione mondiale di agrumi nel 2016 si è attestata a 146 milioni di tonnellate, in crescita del 1,1% rispetto al 2015 e del 6,2% rispetto al 2014. A condurre la classifica dei Paesi produttori è la Cina con quasi 38 milioni di tonnellate prodotte nel 2016, seguita da Brasile (19,5 milioni), India (12 milioni), Messico (8 milioni) e Stati Uniti (7,5 milioni). Spostando lo sguardo sui Paesi che si affacciano sul Mediterraneo troviamo al primo posto la Spagna con circa 7 milioni di tonnellate di agrumi

prodotte nel 2016, in costante aumento dagli anni Sessanta, seguita da Egitto (4,8 milioni di ton), Italia (circa 2,5 milioni) e Marocco (due milioni).

L'ultimo dato ISTAT [2018] sul comparto agrumicolo riporta per l'Italia una superficie di 82.927 ha destinati alla coltivazione delle arance, 25.746 ha dedicati al limone, 8.938 ha e 26.092 ha destinati rispettivamente a mandarini e clementine. Per quanto riguarda le produzioni totali, i quantitativi complessivi sono di 15.612.582, 3.859.097, 1.332.086 e 6.567.650 q.li, rispettivamente di arance, limoni, mandarini e clementine [ISTAT, 2018]. Lo stesso documento riporta che la quasi totalità della superficie destinata alla produzione di questi agrumi è concentrata nel mezzogiorno, in particolare in Sicilia, con una superficie di 84.166 ha dedicata alla coltivazione degli agrumi, circa il 58% della superficie nazionale, di cui 53.994 ha investiti in arancio, 22.719 ha dedicati al limone, 4.951 ha a mandarini e 2.502 ha a clementine. Per quanto riguarda le produzioni, i quantitativi siciliani complessivi si attestano sui 9.572.150 q.li di arance, 3.314.160 q.li di limoni, 599.320 q.li di mandarini e 471.750 q.li di clementine [ISTAT, 2018].

L'introduzione dell'arancia in Brasile avvenne nel periodo della colonizzazione portoghese, intorno al 1530, forte della capacità di questo frutto di adattarsi alle condizioni climatiche brasiliane. Durante il XIX secolo le coltivazioni agrumarie accompagnavano la cosiddetta "caminhada do café" verso l'interno dello stato di São Paulo, ma ancora come coltura accessoria.

Dopo un periodo di modernizzazione e importazione delle tecnologie della citricoltura, all'inizio del XX secolo l'arancia divenne parte dei prodotti destinati all'esportazione e, dal 1939, uno dei dieci prodotti più importanti nell'esportazione del paese [Teixeira et al., 2009].

Leader nel ranking mondiale, secondo le stime dell'Associazione Nazionale degli Esportatori di Succhi di Agrumi (CitrusBR), il Brasile è tra i più grandi produttori di arance del mondo dagli anni '80. La maggior parte della produzione brasiliana di arance è concentrata nello stato di São Paulo ed è destinata all'industria dei succhi [IBGE, 2012].

Gran parte di ciò che viene prodotto in Brasile viene trasformato in succo, circa il 96% della produzione nazionale, generando una quantità elevata di residui, che equivale al 45 - 60% del peso totale [Corazza et al., 2001; Garcia Neto, 1995; Daris et al., 2000; IBGE, 2010].

1.4.2. Utilizzo di sottoprodotti dell’industria agrumaria

Negli ultimi anni l’interesse scientifico si è focalizzato sulla caratterizzazione chimico-nutrizionale delle componenti di tutti i sottoprodotti derivanti dalla filiera agrumicola, distinguendoli secondo il tipo di lavorazione, i processi utilizzati, le temperature impiegate, e valutandone l’effetto sulle componenti nutraceutiche. In generale, l’alto contenuto in flavonoidi, polifenoli e sostanze antiossidanti, insieme alla dimostrata attività organo-protettrice di molte sostanze contenute nei sottoprodotti derivati dagli agrumi, possono

senz'altro contribuire ad aumentare il benessere animale, migliorandone le performances e le produzioni, il tutto collegato ad un'economia circolare e più sostenibile [Chiofalo et al., 2019; Vastolo et al., 2019]. Tale quadro si configura perfettamente nell'obiettivo dei legislatori europei, che hanno svincolato definitivamente i "derivati" agrumari dal termine e dal concetto di rifiuto, inserendoli a tutti gli effetti nel catalogo delle materie prime per mangimi [Regolamento UE 2017/1017 della Commissione del 15 giugno 2017 che modifica il Regolamento UE n. 68/2013].

In riferimento ai sottoprodotti ottenuti dalla lavorazione agrumaria, dopo l'estrazione del succo ciò che rimane è un residuo costituito da buccia (flavedo e albedo), polpa (residuo della vescicola del succo), stracci (membrane e nuclei) e semi. Questi componenti, singolarmente o in varie combinazioni, sono i materiali di base da cui possono essere prodotte le integrazioni per i mangimi [Sinclair, 1984; Ensminger, 1990]. Nel loro complesso, tali componenti prendono il nome di "Pastazzo" [Regolamento UE 2017/1017 della Commissione del 15 giugno 2017 che modifica il Regolamento UE n. 68/2013], il quale a sua volta, a seconda del successivo processo di lavorazione cui viene sottoposto (eventuale estrazione di pectine), viene suddiviso in *pastazzo tal quale* e *pastazzo depectinizzato* e, seconda del metodo eventuale di essiccazione utilizzato prende il nome di *pastazzo essiccato* e *pastazzo calcitato* (se addizionato di Idrossido di calcio), così come riportato

nello “Schema di regolamento recante disposizioni che consentono la produzione, la commercializzazione e l’uso del pastazzo quale sottoprodotto della lavorazione degli agrumi per il suo impiego agricolo e zootecnico, ai sensi dell’articolo 41-quater del decreto legge 21 giugno 2013, n. 69, convertito in legge con modificazioni dall’art.1, comma 1 della legge 9 agosto 2013, n. 98” [European Commission, 2019].

La composizione chimica delle arance, e conseguentemente dei sottoprodotti, è influenzata da diversi fattori tra cui: le condizioni di crescita, lo stato di maturazione, la varietà e il clima [Kale & Adsule, 1995]. Le arance contengono azoto (1-2 g/kg su tal quale), lipidi (tra cui: acido oleico, linoleico, linolenico, palmitico, stearico, glicerolo e fitosterolo), zuccheri (glucosio, fruttosio, saccarosio), acidi (principalmente citrico e malico, ma anche tartarico, benzoico, ossalico e succinico), carboidrati insolubili (cellulosa, pectine), enzimi (pectinesterasi, fosfatasi, perossidasi), flavonoidi (esperidina, naringina), principi amari (limonina, isolimonina), costituenti volatili (alcoli, aldeidi, chetoni, esteri, idrocarburi, acidi), pigmenti (caroteni, xantofille), vitamine (acido ascorbico, complesso vitaminico B, carotenoidi) e minerali (principalmente calcio e potassio) [Bampidis & Robinson, 2006; Melendez-Martınez et al., 2008; Roussos, 2011]. Secondo il CESTEB [2012] –Associazione ambientale dello Stato di Sao Paulo, i sottoprodotti derivanti dalla produzione del succo d'arancia (bucce, semi e polpe) vengono trasformati in pastazzo di agrumi pellettato, pastazzo congelato, melassa.

I sottoprodotti agrumari vengono utilizzati come substrati per l'estrazione di δ-limonene, oli essenziali, essenza oleosa e essenza acquosa, cellulosa, carboidrati solubili, propectina, pectina, flavonoidi, amminoacidi, varie vitamine, e per la produzione di proteine microbiche [Di Rosa et al., 2015], acidi organici, etanolo, enzimi e metaboliti secondari [Darros-Barbosa & Curtolo, 2005; Gerhardt et al., 2012; Rezzadori & Benedetti, 2009].

Esistono studi sull'uso di residui d'arancia per la produzione di enzimi lignocellulolitici da parte di funghi [Alexandrino et al., 2007] che evidenziano l'azione antimicrobica della buccia di arance [Gerhardt et al., 2012].

Al fine di ottenere la farina dai residui di produzione del succo d'arancia, questi devono subire un processo di essiccazione con temperature che oscillano tra i 35°C e i 55°C e una portata d'aria di 2-3 m/s [Atarés et al., 2009; Manjarres-Pinzon et al., 2013]; poiché l'acqua è uno dei componenti del cibo che i microrganismi utilizzano per svilupparsi, la riduzione di questa abbatte le condizioni ideali per lo sviluppo microbico [Silva, 2000].

Secondo Garau et al. [2007], che ha studiato gli effetti del processo di essicazione sulle proprietà fisico-chimico e sulla capacità antiossidante dei sottoprodotti dell'arancia, le temperature ottimali per la produzione e successivo utilizzo di questi sottoprodotti dovrebbero essere comprese tra 40°C e 70°C.

Numerosi autori hanno dimostrato la validità dell’utilizzo dei sottoprodotti agrumari in alimentazione animale e i positivi effetti sui prodotti di origine animale derivati [Vastolo et al., 2019]. Il pastazzo è stato usato in forma umida su agnelli [Lanza et al., 2001], pecore da latte [Chiofalo et al., 2004], bovini da carne [Di Rosa et al., 2014] e sui monogastrici [Chiofalo et al., 2007a; Chiofalo et al., 2007b].

Secondo Teixeira et al. [2009], oltre alla forma secca, è interessante per le aziende, soprattutto quelle piccole, sviluppare mercati per il pastazzo d’arancia tal quale, con un contenuto in sostanza secca tra il 15% e il 20%, poiché l'investimento in essiccatori può raggiungere il 50% dell'investimento totale. Tuttavia, una delle difficoltà nell'utilizzo della forma "tal quale" è la necessità della vicinanza del consumatore all'industria, considerato che, l'elevato contenuto di umidità, può comportare un’alterazione delle caratteristiche del sottoprodotto conseguenti a fenomeni di irrancidimento. L’essiccazione rappresenta, quindi, il metodo più sicuro e duraturo di conservazione e ne garantisce il possibile inserimento in mangimistica, come dimostrato in studi più recenti, in cui i sottoprodotti agrumari sono stati integrati in mangimi per pecore durante il periparto e in lattazione [Di Rosa et al., 2015; Di Rosa et al., 2018; Liotta et al., 2018; Chiofalo et al., 2019; Liotta et al., 2019].

Alcuni studi hanno investigato la composizione del pastazzo d’arancia essiccato e macinato ottenuto dal pastazzo privato dei semi, riscontrando elevati

tenori in sostanza secca e zuccheri riduttori [Clemente et al., 2012; Bezerra & Ziglio, 2007]. I valori di vitamina C nella farina d'arancia sono inferiori a quelli osservati nella polpa di frutta d'arancia fresca [Couto & Canniatti-Brazaca, 2010]. Quanto detto potrebbe essere correlato all'elevata temperatura (35-55° C) utilizzata nel processo di essiccazione dei residui delle arance utilizzate per questo studio.

Il contenuto di nutrienti dei sottoprodotti agrumari è influenzato da fattori che includono la tipologia del prodotto di origine e il tipo di lavorazione cui è stato sottoposto [Ammerman & Henry, 1991]. Bampidis e Robinson [2006] hanno studiato la composizione di diversi sottoprodotti agrumari (Tabella 1).

Tabella 1 Composizione chimica dei principali sottoprodotti degli agrumi [Bampidis e Robinson, 2006].

	Bucce d'arancia (fresche)	Bucce di limone (fresche)	Bucce di bergamotto (fresche)	Bucce di pompelmo (fresche)	Bucce di mandarino (fresche)
S.S. (g/kg)	233	202	163	197	197
S.O. (g/kg s.s.)	975	967	957	962	960
P.G. (g/kg s.s.)	58	66		71	80
E.E. (g/kg s.s.)	-	16	13	63	61
NDF (g/kg s.s.)	200	330	101	-	-
ADF (g/kg s.s.)	129	-	73	168	174
Lignin (g/kg s.s.)	-	-	27	19	21
Zuccheri	-	191	-	-	-

1.4.3 Sottoprodotti degli agrumi come fonte di fibra dietetica, ed effetti delle fibre solubili ed insolubili nell'alimentazione del cane

I cani, sebbene appartengano all'ordine *Carnivora*, sono ormai classificati come animali onnivori a causa delle loro abitudini alimentari e della loro capacità digestiva, ma fino alla prima metà degli anni '70 la fibra era considerata una componente inerte nelle diete destinate a questa specie.Oggi il concetto di fibra è stato abbandonato e si è introdotto il concetto di fibra alimentare (TDF).

La continua ricerca di regimi alimentari salutari, con lo scopo di aumentare la longevità dei pets e prevenire lo sviluppo di talune malattie, come ad esempio l'obesità, ha portato a considerare la fibra alimentare un alimento funzionale [Silva, 2013; Fahey et al., 1990; Bontempo, 2005]. La digeribilità dei nutrienti è influenzata dall'introduzione della fibra alimentare nella dieta dei cani, con effetti dipendenti sia dalla fonte che dal livello di inclusione [Silva, 2013].

La fibra alimentare può essere definita come la somma di polisaccaridi non amilacei, costituenti della parete cellulare della pianta, più la lignina, e questi composti sono indigeribili dagli enzimi nel tratto gastrointestinale degli animali monogastrici [Carciofi, 2005]. La fibra alimentare differisce dall'amido e dal glicogeno per il fatto che le sue unità mono-saccaridiche hanno una configurazione e legami beta, che conferiscono resistenza alla digestione da parte degli enzimi endogeni. Di conseguenza, la fibra alimentare non può essere degradata nelle unità mono-saccaridiche per il suo successivo assorbimento dall'intestino tenue [Case et al., 1998].

È costituita da una varietà di polisaccaridi non amilacei che includono cellulosa, emicellulosa, pectina, beta-glucani, gomme e lignina. La fibra alimentare è composta principalmente da resti di cellule vegetali commestibili; i tessuti parenchimatosi sono noti per essere la fonte più importante di fibra vegetale [Gallaher & Schneeman, 2001]. Le pareti cellulari di frutta, verdura

e cereali costituiscono la maggior fonte di fibre alimentari [Villanueva-Suarez et al., 2003]. Attualmente esiste una grande varietà di materie prime, principalmente di sottoprodotti di lavorazione, da cui si ottiene la fibra alimentare [Elleuch et al., 2011].

È noto che la fibra alimentare ottenuta con metodi differenti e proveniente da fonti diverse, si comporta in modo diverso durante il transito attraverso il tratto gastrointestinale, a seconda della sua composizione chimica e delle caratteristiche fisico-chimiche [Chau & Huang, 2003].

La fibra alimentare (TDF) è classificata come fibra alimentare solubile (SDF) e fibra alimentare insolubile (IDF).

La fibra alimentare insolubile (IDF) è rappresentata da cellulosa, emicellulosa e lignina, mentre la fibra alimentare solubile (SDF) dalle pectine, gomme e mucillagini [Case et al., 2010].

La lignina non è un carboidrato, ma si trova in stretta associazione con i carboidrati della parete cellulare delle piante; è un polimero rigido derivato dalla fenilalanina e dalla tirosina ed è il singolo costituente non glicolico della fibra. La quantità totale di lignina nella pianta interferisce con la digeribilità e il valore nutritivo delle fonti di fibre. Questo perché, essendo indigeribile non consente l'attacco enzimatico al suo contenuto e, combinandosi chimicamente con i nutrienti, li rende indisponibili [Fortes, 2001]. La cellulosa è un omo-polisaccaride, polimero del glucosio con legami β-1,4 [Nunes,

1998]. Le emicellulose si classificano come etero-saccaridi, dal momento che in seguito ad idrolisi, liberano pentosi, esosi e frequentemente acido uronico. Le sostanze pectiche sono un gruppo di polisaccaridi vegetali, praticamente sinonimo di pectine, in cui l'acido D-galatturonico è il costituente principale [Nunes, 1998]. Le pectine sono costituite da un polimero lineare composto da acido 1,4β-δ-galatturonico esterificato, legato da legami glicosidici di tipo α 1 → 4. Questa catena acida è in forma elicoidale a causa della presenza di ramnosio che produce una brusca rotazione della struttura molecolare [Fortes, 2001]. Sebbene alcuni autori li classifichino come omo-polisaccaridi, altri preferiscono classificarli come etero-polisaccaridi, poiché la presenza concomitante di altri zuccheri come D-galattosio, L-arabinosio e L-ramnosio è più comune. Possono quindi essere classificati intermedi o indefiniti [Nunes, 1998]. Da citare anche l'amido resistente che altro non è che una frazione dell'amido presente negli alimenti e che non può essere digerita enzimaticamente. L'amido resistente raggiunge l'intestino grasso degli animali da compagnia, dove viene fermentato, assumendo un comportamento ed attributi fisiologici assimilabili alla fibra solubile [Carciofi, 2005].

Le caratteristiche più importanti della fibra solubile in relazione alla nutrizione del cane sono la sua solubilità e fermentescibilità [Carciofi, 2000]. La solubilità della fibra è correlata all'aumento della viscosità dell'ingesta a livello intestinale, con conseguente diminuzione del tasso di digestione e assorbimento, che può risultare in una ridotta digeribilità. La fermentescibilità

si riferisce alla velocità e all'estensione della degradazione batterica della fibra e alla corrispondente produzione di acidi grassi a catena corta (SCFA). Questi ultimi sono utili per il tratto gastrointestinale, ma ad alte concentrazioni causano un aumento della peristalsi, del contenuto di acqua delle feci e la diminuzione della digeribilità di proteine e grassi. Tuttavia, è stato dimostrato che alcune fibre ad alta solubilità, come la gomma arabica e lo Psyllium sono scarsamente fermentabili dal microbiota dei cani [Sunvold et al., 1995; Carciofi, 2000; Carciofi, 2005].

Gli acidi grassi a catena corta prodotti dalla fermentazione dalla fibra solubile, ad opera della popolazione batterica intestinale, causano un abbassamento del pH, e una conseguente modificazione della composizione e dell'attività metabolica del microbiota intestinale. In particolare, l'acido butirrico è un'importante fonte di energia per i colonociti, favorisce un adeguato assorbimento degli ioni e agisce sulla circolazione sanguigna intestinale e sulla peristalsi [Roediger, 1982; Campbell et al., 1997]. Il ruolo della fibra solubile potrebbe essere assimilato a quello di un ingrediente prebiotico. La International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics definisce un prebiotico dietetico come "*un ingrediente fermentato selettivamente che determina cambiamenti specifici nella composizione e/o attività del microbiota gastrointestinale, conferendo così benefici sulla salute dell'ospite*" [Gibson et al., 2010]. Quattro tipi di saccaridi commerciali sono attualmente accettati

come prebiotici: l’inulina, i frutto-oligosaccaridi (FOS), i galatto-oligosaccaridi (GalOS) e il lattulosio. Tuttavia, vi è un crescente interesse nella ricerca di nuovi prebiotici con migliori proprietà funzionali, e gli oligosaccaridi pectici (POS) sono stati identificati come promettenti candidati prebiotici [Mandalari et al., 2007; Olano-Martın et al., 2003a; Olano-Martın et al., 2003b].

L'innalzamento dei livelli d’inclusione della fibra solubile nella dieta è usato nei casi di diabete mellito, dislipidemia, colite, malattia infiammatoria intestinale e cancro del colon. Nell'intestino è situato il più grande organo linfoide, che ospita la maggior parte dei linfociti dell'animale. In caso di lesioni, stress e digiuno prolungato, la salute intestinale può essere compromessa e conseguentemente danneggiare ulteriormente le difese immunitarie dell'animale; in questi casi la produzione di SCFA dalla fermentazione della fibra solubile risulta essere importante [Brunetto et al., 2010].

La dimensione delle particelle della fonte di fibra solubile può influenzare non solo la formazione delle feci, ma anche l'interazione della fibra con il microbiota (ad es. le fibre solubili con piccole dimensioni geometriche hanno un'area esposta più ampia per la colonizzazione e degradazione microbica).

La fibra insolubile è il principale nutriente che interferisce con la digeribilità dell'energia grezza, ed è attualmente utilizzata nelle equazioni per stimare l'energia metabolizzabile del cibo. È stata già stabilita quale sia l’influenza

della fibra insolubile nella digeribilità dell’energia contenuta in una dieta. Secondo i ricercatori del National Research Council per i cani, ogni punto percentuale di fibra insolubile aggiunto all’alimento porta a una riduzione della digeribilità dell’energia della dieta pari all’1,43% [NRC, 2006]. A seconda della quantità e della fonte, la fibra insolubile determina anche una diminuzione dell'appetibilità alimentare [Carciofi, 2005].

In riferimento alla fibra insolubile, generalmente si pensa che questa non sia fermentabile dal microbiota canino; tuttavia anche per le varie fonti di fibra insolubile quanto detto è abbastanza variabile, poiché alcune hanno una notevole capacità di fermentazione, quindi questo aspetto dovrebbe essere sempre valutato e considerato nelle formulazioni [Bosch et al., 2009; Calabrò et al., 2013]. Anche la funzione della fibra insolubile non fermentescibile come la cellulosa dipende dal tipo di trattamento subito prima della somministrazione ai cani.

La fibra alimentare può essere un importante stratagemma per la restrizione calorica e la modulazione dell'appetito [Jewell & Toll, 1996; Jewell et al., 2000; Jewell et al., 2006; Fischer et al., 2012].

La diluizione dell’energia con diete contenenti fibra insolubile è ormai una strategia comune per promuovere la perdita di peso nei cani [Carciofi et al., 2005; Jewell et al., 2006]. Dobenecker e Kienzle [1998] hanno suggerito che un elevato contenuto di cellulosa nelle diete influenza il consumo di alimenti

nei cani, principalmente attraverso la riduzione dell'appetibilità [Dobenecker & Kienzle, 1998]. Jewell et al. [2006] hanno osservato che, nei cani obesi, l'aumento del contenuto di fibre alimentari riduce l'assunzione di cibo e il grasso corporeo.

L'effetto sulla risposta post-prandiale del glucosio a diverse fonti di amido e ai vari componenti nutrizionali delle diete è stato verificato nei cani [Nguyen et al., 1998; Carciofi et al., 2008; Musco et al., 2017]. L'aggiunta di fibra insolubile nella dieta può comportare un minore aumento glicemico post-prandiale e una riduzione del fabbisogno d'insulina nei cani diabetici [Nelson et al., 2000]. Palumbo [2009] ha studiato l'azione della fibra insolubile sulla glicemia postprandiale senza evidenziare alcun effetto in diete contenenti fino al 12% di IDF. A tal proposito, sembra che il contenuto di amido disponibile nella dieta sarebbe il fattore più importante per la risposta glicemica.

La fibra alimentare ottenuta dai cereali è normalmente più utilizzata rispetto a quella ottenuta dai frutti. Tuttavia, quella ottenuta dalla frutta viene considerata di qualità superiore grazie ad un migliore equilibrio nel contenuto di fibra dietetica solubile ed insolubile [Garau et al., 2006] e, anche, a causa della maggiore ritenzione di oli e acqua [Larrauri, 1999].

In generale, la fibra alimentare dei frutti presenta un'alta concentrazione di pectine ed emicellulosa in relazione al contenuto di cellulosa, con bassa concentrazione di grassi e proteine [Fisher, 2009]. La composizione chimica e le caratteristiche fermentative di diverse polpe di frutta sono state studiate per i cani utilizzando un modello *in vitro* [Swanson et al., 2001]. Secondo gli Autori, la fibra alimentare della frutta fornisce una proporzione equilibrata tra le frazioni solubili e insolubili, contribuendo alla salute del tratto gastrointestinale.

I residui dell'estrazione del succo d'arancia sono potenzialmente una fonte eccellente di fibra alimentare rispetto ad altre fonti, come i cereali, grazie alla maggiore percentuale di fibra solubile [Grigelmo-Miguel & Martın-Belloso, 1999] e alla presenza di composti bioattivi associati (cioè flavonoidi e vitamina C) con proprietà antiossidanti [Fernandez-Gines et al., 2003; Figuerola et al., 2005; Marın et al., 2007].

Garau et al. [2007] hanno studiato e messo in evidenza la capacità antiossidante della fibra alimentare dei sottoprodotti d’arancia [Lario et al., 2004]. In tale direzione, Gorinstein et al., [2001] e Lario et al., [2004] hanno osservato che alcune delle molecole considerate come fibra dietetica potrebbero anche esercitare effetti antiossidanti.

Quindi, i sottoprodotti di agrumi potrebbero essere interessanti non solo per il loro importante contenuto di fibre, ma anche per la loro capacità antiossidante [Kang et al., 2006]. La fibra presente negli agrumi, aggiunta nella razione di bovini da carne [Lo Presti et al., 2009] e nei prodotti a base di carne [Fernandez-Gines et al., 2003] rappresenta un efficace inibitore dell'ossidazione dei lipidi, migliorandone la stabilità ossidativa e prolungandone la durata di conservazione.

1.5 Estrusione nel settore del Pet Food: Estrusori e Tecnologie di produzione

La tecnologia di estrusione, ben nota nel settore delle materie plastiche, è ormai ampiamente utilizzata nell'industria di trasformazione agroalimentare, dove viene indicata come *Extrusion-Cooking*, ed è impiegata per la produzione dei cosiddetti cibi ingegnerizzati e dei mangimi. Gli estrusori appartengono alla famiglia delle apparecchiature HTST, cioè, letteralmente, impianti in cui le miscele alimentari sono esposte ad alta temperatura per breve tempo [Moscicki et al., 2007; Van Zuilichem, 1992].

L'Estrusione (dal latino *extrudere* significa "spingere fuori") è un'operazione unitaria che prevede un processo continuo di formatura, che consiste nel forzare un prodotto di un mix di ingredienti di massa semi-solida (materiali amidacei e/o proteici in presenza di liquidi), in una o più condizioni (di miscelazione, composizione della formula, modifica della reologia dei prodotti

in ingresso, temperatura, pressioni elevate, sforzi di taglio, velocità della vite, design e umidità del prodotto), attraverso uno stampo perforato con disegno specifico (stampo sagomato) a seconda dell'alimento, sotto l'azione di alte pressioni ottenute tramite una o due viti senza fine, e a seconda se si tratti di estrusore mono vite o bi-vite, per variarne consistenza, forma e colore. Il materiale in uscita viene poi tagliato in segmenti della lunghezza desiderata [Riaz, 2007; Tran et al., 2008].

Il processo include le fasi di pre-condizionamento, di estrusione vera e propria, di taglio e di asciugatura. Ognuna di queste fasi ha una funzione specifica sia per la cottura che per la creazione del prodotto finale.

Nel pre-condizionatore, l'energia termica viene aggiunta alla miscela di ingredienti macinati, per iniezione di vapore diretto e acqua, ottenendo una massa uniforme, mediante un sistema di barre cilindriche, con lame disposte radialmente, che ruotano a velocità variabile [Bazolli, 2007]. L'aggiunta di energia termica, che mira ad aumentare l'umidità e la temperatura dell'impasto, favorisce l'avvio della cottura dell'amido e quindi l'idratazione interna dei granuli, la plastificazione, la sanificazione, la stabilità dell'estrusore e la qualità del prodotto finale. Inoltre, l'aggiunta di energia termica sotto forma di vapore è economicamente vantaggiosa in quanto comporta una minore usura delle apparecchiature e un minore consumo di energia elettrica mediante l'applicazione di energia meccanica [Riaz, 2007].

Successivamente la massa viene condotta al cilindro dell'estrusore, un tubo con un sistema di filettatura senza fine, che ruota a velocità regolabile. Nel cilindro dell'estrusore la massa riceve energia meccanica, aggiunta dalla rotazione della vite dell'estrusore, che promuove il taglio della massa attraverso la compressione sullo stampo, detto filiera o matrice o trafila, all'estremità del cilindro, creando pressione, attrito e aumento della temperatura. Le temperature all'estremità del cilindro possono raggiungere i 180°C, nel caso dell’estrusore a doppia vite, anche se normalmente nella produzione di mangimi si lavora con temperature da 90° a 160 °C. Tutta questa energia, applicata al flusso laminare, modifica profondamente gli amidi e le proteine, come verrà discusso in seguito. L'energia applicata, con un’umidità tra il 20% e il 35%, consente la completa cottura dell'amido [Gibson & Alavi, 2013].

La figura n.2 mostra la fase di pre-condizionamento e di estrusione vera e propria.

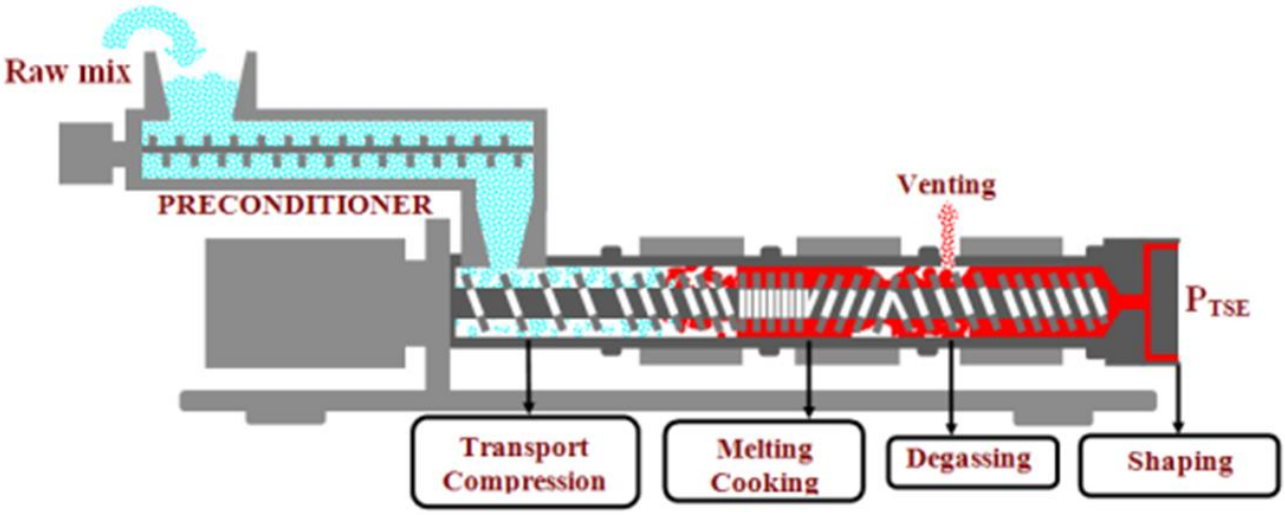


Figura 2. Schema del processo di pre-condizionamento ed estrusione.

La maggior parte dei mangimi estrusi richiede un processo di essiccazione piuttosto intenso. Nelle linee di lavorazione di piccole dimensioni, le unità di essiccazione possono essere verticali (riscaldate a gas o elettricità); tuttavia, i più diffusi sono gli essiccatori a nastro ad alte prestazioni con un processo di essiccazione multistadio basato sull'aria calda. Più frequentemente, la quantità di acqua da rimuovere dall'estruso ammonta al 10-15% e richiede più di 10 minuti di essiccazione. Certamente, il cracking (o screpolatura) degli estrusi dovrebbe essere evitato, il che può diventare particolarmente problematico nel caso di prodotti di dimensioni maggiori. Di norma, la temperatura di essiccazione non supera i 100° C. La fase finale di produzione consiste nell’aggiunta di aromi, vitamine e lipidi.

A volte è preferibile che le modalità di essiccamento e raffreddamento siano eseguite in parti separate dell'apparecchiatura; in tal caso gli estrusi vengono rivestiti dopo l'essiccazione e prima del raffreddamento. Questa scelta ha il vantaggio di migliorare l'assorbimento delle sostanze aggiunte grazie all'azione esercitata dal calore del prodotto stesso. I grassi e gli aromi liquidi vengono nebulizzati o spruzzati quando il prodotto entra in una bobina rotante. Le bobine vengono riscaldate per impedire al grasso di solidificarsi sulla superficie interna dell'apparecchiatura. I serbatoi di riscaldamento del grasso hanno normalmente la capacità di preriscaldare il grasso alla temperatura consigliata di 60° C. Nella maggior parte dei sistemi di grassatura è presente un macchinario che misura esattamente i quantitativi di prodotto da grassare, in modo da infonderne un quantitativo esatto. Recentemente sono state utilizzate macchine miscelatrici ad alta velocità per applicare uniformemente i liquidi agli alimenti per i pets. Queste macchine caricano e scaricano rapidamente il loro contenuto garantendo un sistema continuo e omogeneo di distribuzione delle sostanze aggiunte. Ogni ciclo ha una durata compresa tra i 5 e i 30 secondi.

Esistono inoltre sistemi di grassatura per infusione sottovuoto (vacuum coating), che hanno numerosi vantaggi rispetto agli altri, come ad esempio una grassatura fino al 40%, non ottenibile in condizioni standard, e l'inclusione

dei grassi all’interno della struttura dell’estruso. L'inclusione dei grassi praticata sottovuoto tende a riempire le celle precedentemente occupate da aria, che si trovano all'interno del prodotto estruso; il ritorno alla pressione atmosferica, intrappola il grasso nelle celle, salvaguardandoli da fenomeni di irrancidimento/ossidazione, diversamente da quanto avviene nei normali sistemi di grassatura dove i liquidi applicati si fermano sulla superficie del mangime (sprayzzazione). Dopo un breve raffreddamento, il prodotto può essere confezionato [Rokey et al., 2010; Frame, 1994; Munz, 2008; Andrews & Davies, 1979; Guy, 2001]. La figura n.3 mostra il flusso completo di produzione di un croccantino.

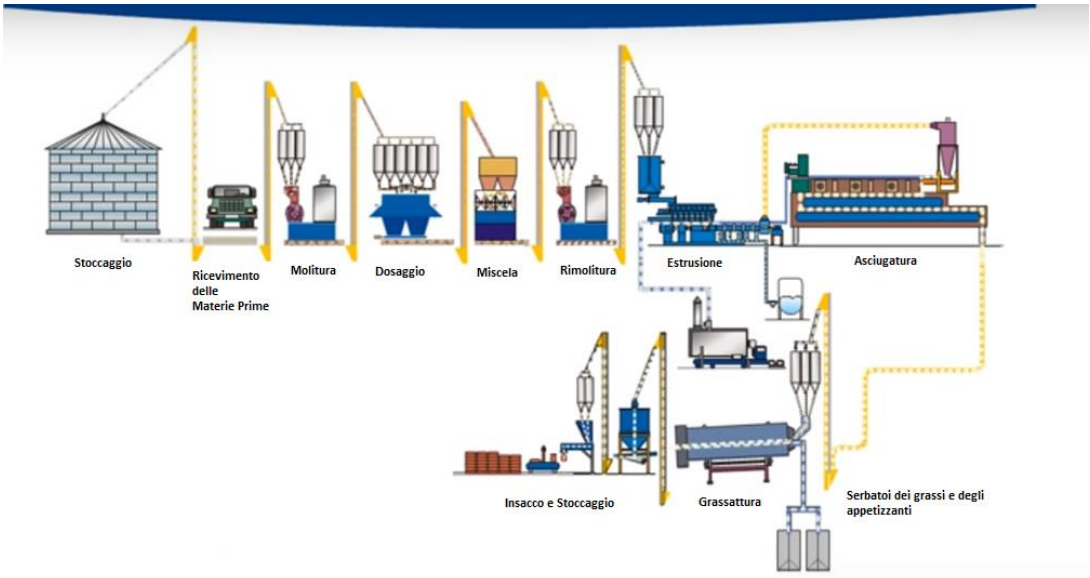


Figura 3. Schema di produzione di un croccantino destinato agli animali da compagnia.

L'elevata energia termomeccanica nel processo di estrusione induce cambiamenti vantaggiosi e desiderabili nel cibo per cani e gatti, come: aumento della digeribilità dell'amido, dell'appetibilità del cibo, modifiche delle caratteristiche fisiche del croccantino (croccantezza e durezza) che favoriscono la prensione e la masticazione, inattivazione dei fattori anti nutrizionali (FAN), distruzione di microrganismi, aumento della shelf life, aumento delle possibilità di utilizzo delle materie prime e denaturazione delle proteine con conseguente migliore digeribilità [Cheftel, 1986; Lankhorst et al., 2007]. L'aumento della digeribilità e dell'appetibilità dei cereali è forse l'effetto più noto del processo di gelatinizzazione e plastificazione dell'amido, che diventa più digeribile dagli enzimi digestivi dei carnivori e onnivori [Murray et al., 2001].

L'estrusione può anche promuovere effetti indesiderati, come la distruzione delle vitamine, notoriamente termolabili, la riduzione della disponibilità di amminoacidi, specialmente la lisina coinvolta nella reazione di Maillard [Lankhorst et al., 2007]. La ben nota condensazione di Maillard è una reazione chimica che avviene tra i gruppi ε-NH_2 della lisina e i gruppi C= O degli zuccheri riduttori [Noguchi et al., 1982]. Utilizzando miscele alimentari con un basso equivalente iniziale di destrosio (DE <1), contenenti amido, ma senza saccarosio, non è stato osservato nessun danno nutrizionale quando sottoposte a un trattamento lieve [Harmuth-Hoene & Seiler, 1984]. Tuttavia,

in condizioni più severe (temperature e tempi di esposizione più alti) sono state notate gravi riduzioni nel contenuto di lisina e del valore biologico della proteina [Bjorck et al., 1984], mentre un aumento della velocità di passaggio delle miscele nell'estrusore, con conseguente riduzione dei tempi di permanenza, ha avuto effetti opposti. Per mantenere le perdite di lisina entro il 10-15% è necessario: evitare che la temperatura durante il processo di estrusione superi i 180 °C con un contenuto di acqua inferiore al 15 % (anche se è necessaria una successiva fase di asciugatura del forno) e evitare la presenza di zuccheri riduttori durante l'estrusione [Cheftel, 1986]. A causa di ciò, e anche al fine di evitare spese inutili, l'equilibrio tra gli effetti desiderabili e indesiderabili dovrebbe sempre essere ricercato con l'applicazione di energia termica e meccanica necessaria, ma non eccessiva.

Nell'industria dei mangimi, l'estrusione compete con la pellettatura solo laddove sia necessario il trattamento termico delle materie prime (transizione chimica più profonda), maggiore grassatura dei mangimi e l'agglomerazione di mangimi con contenuto di umidità più elevato (>30%). A differenza dell'estrusione, la pellettatura non ha la stessa capacità di sanitizzazione, dal momento che le temperature utilizzate, comprese tra 75° e 90°C, sono più basse e non sono in grado di distruggere tutti i microorganismi patogeni. Inoltre, vi è una parziale gelatinizzazione degli amidi, una cottura parziale degli ingredienti e una parziale inattivazione dei fattori anti nutrizionali. Un

fattore importante è che la cottura a estrusione, come verrà spiegato in seguito, consente l'inattivazione totale o parziale dei componenti anti-nutrizionali presenti nelle materie prime e un aumento della loro digeribilità, rendendo i prodotti particolarmente adatti per gli animali giovani [Moscicki et al., 2007; Moscicki, 2011].

1.5.1. Molitura delle Materie Prime

L'efficienza del processo di produzione degli alimenti è direttamente proporzionale all'efficienza della molitura degli ingredienti [Frailha, 2005].

Diversi studi realizzati su polli, suini, pesci, quaglie ed esseri umani hanno dimostrato la relazione tra la molitura degli ingredienti e l'utilizzo da parte dei fruitori finali dei nutrienti presenti nelle materie prime. Nonostante questo, sono pochi i lavori scientifici che hanno studiato l'influenza di differenti tipi di molitura sulle fonti fibrose destinate ai cani [Owsley et al., 1981; Healy et al., 1994; Dahlke et al., 2001; Leandro et al., 2001; Soares et al., 2003].

Per quanto concerne la molitura dei cereali, Bazolli et al. [2015], utilizzando formulazioni contenenti mais, riso e sorgo, macinati con tre differenti dimensioni (diametri geometrici) delle particelle (approssimativamente 300, 450 e 600 μm), hanno riportato una riduzione della digeribilità dei nutrienti nelle diete che contenevano mais e riso con una dimensione maggiore delle particelle [Bazolli et al., 2015]. Owsley et al. [1981] hanno studiato l'effetto delle

dimensioni delle particelle di sorgo sulla digeribilità dei nutrienti nelle diete destinate ai suini. I risultati ottenuti hanno indicato una relazione inversamente proporzionale tra le dimensioni delle particelle e la digeribilità della sostanza secca, dell'amido, delle proteine e degli aminoacidi e quindi dell'energia digeribile. Un'eccessiva macinazione al fine di ridurre le particelle comporta, tuttavia, un alto consumo di energia. Healy et al. [1994] hanno dimostrato che l'energia elettrica necessaria per la molitura del mais con particelle di 900μm era di 5,3 kWh/t, per una produzione di 1,76 t/h. Se le particelle di mais vengono ridotte a 300μm, l'energia elettrica necessaria aumentava a 24,5kWh/t , per una produzione di 0,65t/h; parallelamente è stato dimostrato come il quantitativo di energia elettrica necessaria per la molitura sia correlata anche al tipo di materia prima, dal momento che l'energia elettrica necessaria per la produzione di particelle con un diametro geometrico medio di 500μm è risultata superiore per il mais rispetto al sorgo, mentre la produttività è risultata superiore per il sorgo (15 kW/h *vs* 3,8 kW/h, 0,63 t/h vs 2,37 t/h).

Il metodo principale di riduzione del diametro geometrico delle particelle è la macinazione con mulini a martelli [Cowell et al., 2000]. Il mulino a martelli consiste fondamentalmente in una serie di coltelli smussati, chiamati martelli. Questi martelli sono spessi alcuni millimetri, disposti parallelamente l'uno all'altro e fissati su un asse in grado di ruotare. Un setaccio è

collegato a questo sistema. Il diametro dei fori del setaccio varia a seconda della caratteristica finale del prodotto. Il setaccio seleziona la dimensione delle particelle, trattenendo le particelle più grandi nella camera di macinazione fino a quando le loro dimensioni non sono sufficientemente ridotte [Alles, 2003]. Gli ingredienti che verranno moliti entrano nella camera di macinazione per azione gravitazionale e flusso d'aria di aspirazione positiva. La macinazione è dovuta al grande differenziale di velocità tra i martelli e il materiale in arrivo. Inoltre, il materiale viene spinto contro la piastra d'impatto, che ne promuove la rottura. Dopo questa prima azione, le particelle rimanenti uguagliano la loro velocità a quella dei martelli. L'attrito generato tra gli ingredienti, i martelli e la piastra di impatto fornisce la riduzione della dimensione delle particelle. Una volta ridotte, le particelle passano attraverso il setaccio, guidate dall'aria in movimento che viene aspirata e ritirata dall'interno della camera di macinazione [Owens & Heimann, 1994].

Mathew et al. [1999], in uno studio condotto su pet food contenente mais macinato a diverse dimensioni, variabili tra 1,5 e 0,75 mm, hanno osservato che più piccole sono le particelle, maggiore è l'espansione e l'indice di assorbimento dell'acqua delle crocchette estruse.

Un altro aspetto legato alla dimensione delle particelle della materia prima è il consumo di energia meccanica specifica (SME) per l'estrusione del cibo.

Ciò può essere spiegato con la riduzione della viscosità risultante dalla gelatinizzazione inferiore del granoturco macinato grossolanamente, con conseguente riduzione della resistenza della massa al flusso all'interno dell'estrusore. Questa limitazione dell'applicazione di energia può sembrare vantaggiosa perché riduce i costi di produzione ma in realtà vi è una grossa alterazione nella lavorazione del prodotto, che risulta incompleto, poiché le particelle macinate grossolanamente non si idratano e il loro amido rimane inaccessibile all'attacco enzimatico, quindi con digeribilità limitata [Roberti-Filho, 2013].

Di seguito la Fig. 4 rappresenta una schematizzazione dei più comuni impianti di molitura.

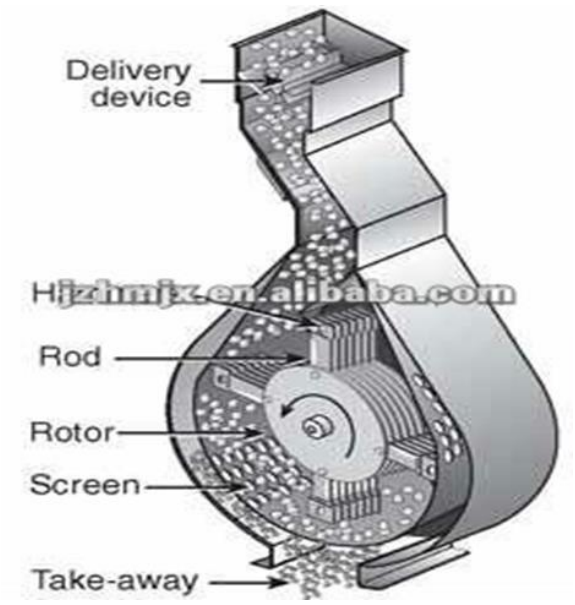


Figura 4. Raffigurazione del più comune impianto di molitura, un mulino a martelli.

1.5.2. Estrusori e Tecnologie di produzione

Visto l'enorme potenziale degli estrusori, le crescenti richieste dell'industria mangimistica stanno stimolando un ulteriore miglioramento di queste macchine. Inizialmente, i produttori utilizzavano solo estrusori a vite singola; oggi, gli estrusori co-rotanti a doppia vite stanno diventando piuttosto comuni [Mercier et al., 1989; Guy, 2001]. Gli estrusori sono disponibili in un'ampia varietà di dimensioni, forme e metodi di funzionamento. Ci sono estrusori idraulici a pistone, in cui un pistone forza l'impasto attraverso uno stampo; estrusori a rulli, in cui due rulli ruotano in direzioni opposte per for-

zare l'impasto attraverso uno stampo; ed estrusori a vite (sia singole che doppie) in cui una vite rotante spinge l'impasto attraverso lo stampo. Negli ultimi anni gli estrusori mono-vite sono stati soppiantati da estrusori bi-vite, più costosi, ma più efficienti dal punto di vista energetico.

Nella figura n.5 è possibile osservare una schematizzazione di un estrusore a vite singola.

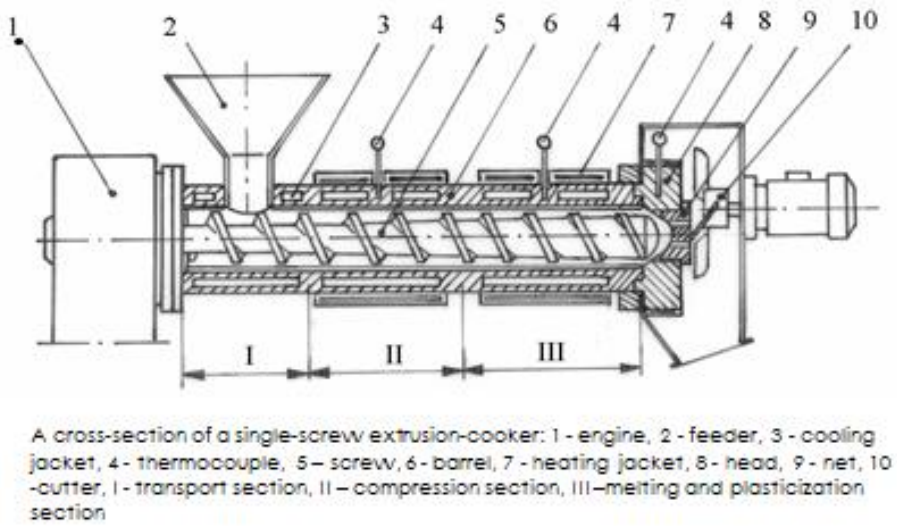


Figura 5. Sezione trasversale e schematizzazione di un estrusore a vite singola [Moscicki, 2011].

I principali vantaggi dei moderni estrusori a doppia vite sono: (1) la versatilità nella lavorazione delle materie prime, possibilità di ottenere una varietà di forme estruse e la capacità di lavorazione di materie prime con alto contenuto di umidità; (2) il perfetto controllo di tutti i parametri del processo di

estrusione-cottura, possibilità di regolare la pressione di estrusione nel tubo e, di conseguenza, di regolare la densità dell'estruso; (3) la perfetta miscelazione dei componenti; (4) la capacità di produrre nuovi e più attraenti prodotti dalle forme sofisticate; (5) la capacità di raggiungere condizioni di lavorazione stabili in breve tempo [Munz, 2008].

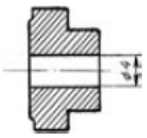
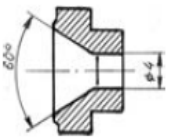
Non sorprende quindi, che la produzione di mangimi per mezzo di estrusori bi-vite abbia recentemente conquistato sempre più sostenitori. Il loro utilizzo sta diventando sempre più economico perché il mercato offre macchinari più efficienti dal punto di vista energetico e dalle alte prestazioni.

Nel caso della trasformazione degli alimenti e della produzione di snack semplici, così come nella produzione dei mangimi, occasionalmente si utilizzano ancora estrusori mono-vite autogeni. Ciò è certamente dovuto all'intenzione di ridurre al minimo gli investimenti sui macchinari. Le unità autogeniche, che producono calore dall'attrito del materiale che viene forzato attraverso il tubo, vengono generalmente utilizzate per la produzione di alimenti estrusi mono-ingrediente o per la produzione di pet food con formulazioni semplici. La temperatura di processo in questi dispositivi può essere regolata in misura minore modificando la dimensione delle partizioni nel tubo a seconda del tipo di materiale lavorato. Nonostante la semplice struttura, questi dispositivi possono fornire: (1) scissione delle membrane cellulari nel materiale lavorato; (2) gelatinizzazione dell'amido; (3) distruzione di

fattori anti nutrizionali; (4) innalzamento della qualità delle materie prime, come nel caso della farina di girasole o della soia f.e.; (5) miglioramento della digeribilità dell'amido e delle proteine; (6) aumento della durabilità (ad es. nel caso della crusca di riso); (7) sterilizzazione (distruzione della Salmonella).

A seconda della formulazione, dello scopo e della complessità della forma dell'estruso, è necessario scegliere la configurazione appropriata delle viti e il tipo di estrusore. Regolando opportunamente i parametri del processo di estrusione, come temperatura, pressione, tempo di permanenza, numero di giri delle viti, forma dello stampo e rotazione del coltello, è possibile modellare le proprietà del prodotto finale, come la trama, la densità, il grado di espansione e così via. La tabella n.2 mostra come la forma dello stampo possa influenzare alcune caratteristiche fisiche dell'estruso.

Tabella 2 Influenza della forma del foro d'uscita sulla proprietà fisiche dell'estruso. (Moscicki, 2011)

Die configuration ∅ 4 mm	Bulk density (kg m^{-3})	Gelatinization (%)	Extruder load (%)	Extrudate appearance
	>310	90	>90	smooth, closed surface; cylindrical shape
	>340	80	>70	porous surface; spherical shape

La matrice dell'estrusore svolge un ruolo importante nel processo di estrusione, determinando effetti decisivi sulla qualità dei prodotti [Sokhey et al., 1997; Harper, 1981]. Le caratteristiche strutturali degli estrusi (in particolare snack) dipendono in larga misura dal meccanismo di espansione dell'impasto in uscita dalla matrice dell'estrusore. Infatti, quando l'impasto esce dallo stampo durante il processo di cottura, l'improvvisa caduta di pressione provoca un abbassamento dell'umidità interna, e la pressione esercitata dal vapore che fuoriesce dall'impasto forma bolle nell'estruso fuso consentendo all'impasto di espandersi. La crescita delle bolle, o celle, e la successiva espansione degli estrusi sono generalmente caratterizzati da due indici in base alle direzioni di espansione, l'indice di espansione longitudinale (LEI) in direzione assiale e l'indice di espansione sezionale (SEI) in direzione radiale [Alvarez-Martinez et al., 1988]. La dimensione relativa di entrambi gli indici determina l'organizzazione strutturale degli estrusi (organizzazione cellulare) e, quindi, le relative proprietà sensoriali e fisiche. Gli indici di espansione dipendono dalla formulazione dell'impasto (quantitativi di amido, natura e livello degli ingredienti), dalle condizioni di lavorazione e dalla tecnologia utilizzata (configurazione delle viti, geometria della matrice) [Bouzaza et al., 1996]. Deve essere sottolineato che gli effetti della geometria dei fori della matrice non sono stati studiati approfonditamente [Bouzaza et al., 1996]. Alvarez-Martinez et al. [1988] e Harper & Tribelhorn

[1992] hanno studiato l'espansione di estrusi a base di mais e hanno sottolineato che la geometria del foro della matrice influisce significativamente sia sull'espansione radiale che su quella longitudinale. In questo studio un diametro inferiore del foro della matrice ha favorito l'espansione radiale dell'estruso, e gli autori hanno ipotizzato che questo potrebbe essere associato alle proprietà elastiche dell'impasto, e principalmente alla presenza di amilopectina. Infatti, le ramificazioni delle molecole di amilopectina permetterebbero all'impasto di immagazzinare energia quando questo scorre nel foro. Quando l'impasto fuoriesce dalla matrice, l'energia viene rilasciata in direzione radiale, e l'improvvisa fuoriuscita del vapore favorirebbe la crescita delle celle interne all'estruso e, quindi, l'espansione dello stesso in direzione radiale. Gli autori hanno concluso che più piccolo è il diametro del foro della matrice, più alta sarà l'energia immagazzinata e conseguentemente l'espansione radiale. Quindi i cambiamenti nel diametro del foro di una matrice permettono di modificare le proprietà elastiche di un impasto.

1.5.3. Materie prime

Per quanto riguarda la produzione di alimenti per animali d'affezione, le materie prime utilizzate sono soprattutto i cereali insieme ai loro scarti di macinazione, soia f.e., farina animale, latte in polvere, grassi animali, oli vegetali e premiscele di minerali e vitamine. Le materie prime devono essere macinate in particelle di dimensioni di 150-400 μm. Sfortunatamente, nel corso

del trattamento termico, sebbene sia di tipo HTST, si perde parte delle vitamine, specialmente le vitamine C e B e, in misura minore, le vitamine A, D ed E; le loro perdite ammontano al 15-20% [Frame, 1994; Moscicki et al., 2007, Mercier et al., 1989]. Per rimediare a queste perdite, è necessario aggiungere vitamine nella fase finale della produzione, attraverso operazioni di inclusione (vacuum coating) o rivestimento (sprayzzazione) di oli o grassi.

1.5.4. Effetto dell'estrusione sull'amido

I cereali (riso, mais, grano e sorgo) sono le fonti amidacee più comunemente utilizzate negli alimenti per animali da compagnia. Strutturalmente, l'amido dei cereali si trova sotto forma di particelle semi-sferiche molto ordinate, chiamate granuli, formate da catene di amilosio e amilopectina legate da ponti di idrogeno [Ratnayake & Jackson 2003]. L'amido è il substrato principale del processo di estrusione [Crane et al., 2000]. Durante questo processo, i granuli di amido sono inumiditi e ricevono calore, attrito meccanico, taglio e pressione, subendo il fenomeno della gelatinizzazione: si gonfiano, si rompono i ponti di idrogeno e perdono la loro struttura cristallina [Zeng et al., 1997]. L'amido gelatinizzato, perdendo la sua struttura ordinata, diventa solubile in acqua e più suscettibile alla degradazione enzimatica rispetto all'amido grezzo (Fig.6) [Dona et al., 2010]. Alcuni studi hanno dimostrato

che l'amido dei cereali, se correttamente sottoposto a estrusione, ha una digeribilità apparente superiore al 95% per i gatti [De-Oliveira et al., 2008] ed al 98% per i cani [Carciofi et al., 2008].

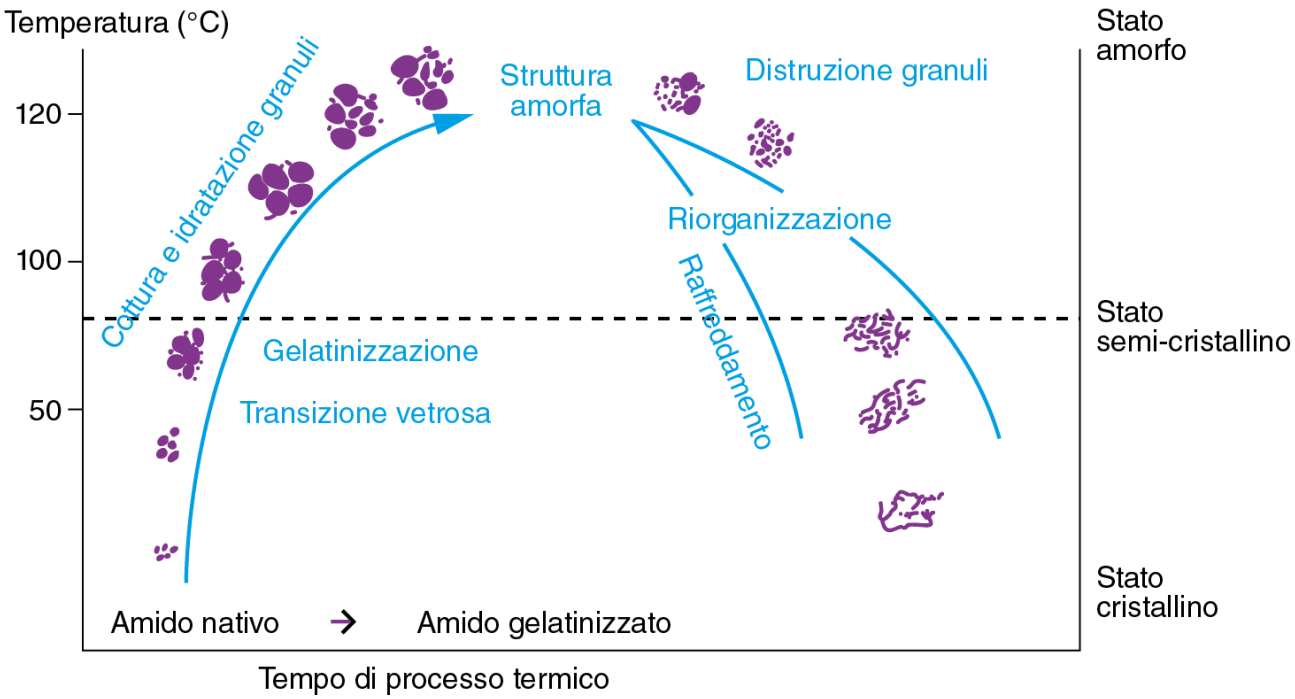


Figura 6. Schematizzazione del processo di gelatinizzazione dell'amido e successiva cristallizzazione.

1.5.5. Effetto dell'estrusione sui lipidi

Il processo di gelatinizzazione dell'amido influenza anche le caratteristiche dei lipidi dell'estruso, poiché nel cilindro dell'estrusore l'amido gelatinizzato, in particolare le catene di amilosio, formano complessi con il grasso naturalmente presente negli ingredienti [Gibson & Alavi, 2013]. I complessi costituiti da amilosio e lipidi sono formati dall'incapsulamento del trigliceride

nella molecola di amilosio, ma le implicazioni di questo processo sulla disponibilità di questi nutrienti per cani e gatti non sono state adeguatamente studiate. Stroucken et al. [1996] asseriscono che il processo non influenzi la digeribilità dei grassi, suggerendo che tali complessi sarebbero facilmente digeribili, il che sarebbe in accordo con l'alta digeribilità lipidica che si trova comunemente nelle diete per cani e gatti [Stroucken et al. 1996; Hullár et al., 1998]. Va però considerato che i complessi formati da amilosio e lipidi, alterano la struttura e l'espansione delle crocchette. Maggiore è la quantità di grasso presente nella formula, minore è l'efficienza del trasferimento di energia meccanica e dell'estrusione stessa; ciò riduce la cottura della massa determinando la formazione di crocchette poco espanse e dure [Cheftel, 1986]. Durante il trattamento termico dell’estrusione, la componente lipidica, in presenza di ossigeno, tende ad ossidarsi [Lin et al., 1998; Deffenbaugh, 2007]. I radicali liberi prodotti da questa ossidazione possono reagire con le proteine, le vitamine o con gli altri componenti della dieta, riducendone la qualità nutrizionale e conseguentemente l’appetibilità, causando anche un cambio di colore dell’estruso [Lillard, 1983].

1.5.6. Effetto dell’estrusione sulle proteine

Gli effetti dell'estrusione sui componenti proteici possono essere benefici, e allo stesso tempo dannosi a seconda dell’intensità del processo. L’estrusione ha la capacità di inattivare i fattori anti-nutrizionali *protein-related*, come ad

esempio gli inibitori delle proteasi e le emoagglutinine, distruggendo l'integrità della loro struttura e, di conseguenza, impedendone la capacità d'azione [Van Der Poel et al., 1990; Alonso et al., 2000]. Infatti, la loro presenza negli ingredienti può causare il deterioramento dell'estruso durante lo stoccaggio; la loro inattivazione nel processo di estrusione contribuisce ad aumentare la durata di conservazione del mangime [Cheftel, 1986]. Se il processo di estrusione viene condotto ponendo attenzione a umidità, temperatura e tempi di esposizione, la denaturazione migliora la digeribilità delle proteine [Hendriks & Sritharan, 2002]. Tuttavia, essendo le stesse proteine termolabili, tra gli effetti indesiderati del trattamento termomeccanico abbiamo la distruzione e la perdita di amminoacidi, interpeptidici ed extra peptidici e una serie di reazioni chimiche, come la reazione di Maillard e la formazione di complessi proteico-lipidici e complessi proteico-glucidici [Björck & Asp, 1983]. Queste reazioni possono danneggiare la struttura delle proteine, con conseguente perdita del valore nutritivo in quanto rendono indisponibili gli aminoacidi della catena proteica. Umidità, temperatura e tempo di estrusione sembrano essere i parametri più importanti per la reazione di Maillard, una reazione che aumenta quando si riduce l'umidità, si aumenta la temperatura e si aumenta il tempo di processo.

1.5.7. Effetto dell’estrusione sull’appetibilità

Per gli animali, l'appetibilità, che comprende fattori come il gusto, l'aroma, la consistenza, la forma e la dimensione dell’estruso, viene generalmente indicata come valore di preferenza alimentare. È un fattore chiave nella scelta della dieta da parte di cani e gatti, essendo strettamente correlata al suo successo commerciale. Tra i fattori che determinano l'appetibilità degli alimenti, i più studiati sono la composizione dei nutrienti (contenuto di grassi, proteine e carboidrati) e i tipi di ingredienti (proteine e grassi animali, ingredienti vegetali, ingredienti fibrosi) [Hullár et al., 1998]. Tuttavia, il processo di estrusione è altrettanto importante in quanto determina diversi aspetti strettamente correlati all’appetibilità e alle preferenze alimentari, come la croccantezza, la durezza, la forma, la dimensione o il gusto del mangime. Tutte queste caratteristiche sono fortemente influenzate dalle condizioni di lavorazione dell'estrusione sebbene i dati della loro influenza siano praticamente inesistenti [Carciofi et al., 2012]. Le caratteristiche macrostrutturali degli estrusi sono il risultato della loro formulazione (contenuto di amido, proteine, grassi e fibre), il tipo di ingredienti utilizzati (fonti proteiche di origine vegetale o animale) e le condizioni di lavorazione, tra cui: (1) il trasferimento di energia meccanica e termica; (2) la velocità di rotazione e configurazione della filettatura; (3) la relazione tra area aperta della trafila e produzione oraria di cibo; (4) la temperatura del cilindro o della camicia; (5) la temperatura e pressione

dell'estrusore; (6) la massa in lavorazione; (7) il tipo di coltello; (8) la velocità di taglio dei coltelli [Riaz, 2007]. L'insieme di questi parametri determinano la macrostruttura delle crocchette: espansione radiale e longitudinale, densità apparente e specifica, lunghezza, struttura cellulare, durezza e croccantezza [Trivedi et al., 2003]. Sfortunatamente, ci sono poche pubblicazioni che identificano le caratteristiche macrostrutturali che sono meglio accettate dagli animali, o informazioni sulle migliori disposizioni e configurazioni da ottenere per queste caratteristiche. Questi dati sarebbero importanti per i produttori in quanto consentirebbero la regolazione di formulazioni, disegni e configurazioni dell'apparecchiatura, nonché condizioni operative che porterebbero ad alimenti caratterizzati da maggiore accettabilità e appetibilità [Pacheco et al., 2018].

1.5.8. Fibra e processo di estrusione

Oltre alle caratteristiche sensoriali dell'odore e dell'appetibilità, l'inclusione di fibra causa una profonda alterazione sul processo d'estrusione, modificando la macrostruttura delle crocchette, caratteristica legata anche alla masticabilità e al consumo di cibo [Challacombe et al., 2001]. L'aumento della densità specifica e la riduzione dell'espansione delle crocchette indotte dalla fibra conferiscono una maggiore durezza, che rende necessaria una maggiore forza durante la masticazione, con conseguente aumento del tempo di assunzione del cibo. Queste caratteristiche, tuttavia, devono essere adeguatamente

studiate per gli estrusi destinati ai cani. Gli studi presenti sino a questo momento si sono limitatati a studiare l'inclusione della fibra, la metodologia di ottenimento industriale e i suoi effetti sugli animali, tra cui la digeribilità dei nutrienti, la formazione delle feci, il tempo di transito intestinale, i prodotti di fermentazione e le risposte metaboliche [Monti et al., 2016]; tuttavia, ad eccezione di uno studio effettuato con cellulosa purificata [Wichert et al., 2002], non sono disponibili studi sull'influenza delle dimensioni geometriche delle particelle della componente fibrosa sulla risposta indotta sui cani.

La lavorazione industriale della fibra modifica le sue caratteristiche chimico-fisiche, dal momento che ne aumenta la fermentescibilità, la solubilità e la viscosità, alterando quindi i suoi effetti sugli animali [Zhang et al., 2009; Redgwell et al., 2011; Robin et al., 2012]. Un altro effetto importante della fibra e quello esercitato sul processo di estrusione stesso. Considerato che la fibra è un materiale altamente polimerizzato e strutturato, non è espandibile e presenta livelli variabili di assorbibilità dell'acqua, tali da interferire sulla viscosità, sulla cottura, sul flusso della massa all'interno del tubo dell'estrusore, sulla formazione e sull'espansione dell'estruso. Pertanto, l'inclusione delle fibre nelle formulazioni, sebbene sia giustificata dall'aspetto nutrizionale, presenta importanti problemi di lavorazione, con un aumento del consumo di energia elettrica del processo di produzione e la creazione di estrusi poco espansi, duri e densi [Karkle, 2011; Moraru & Kokini, 2003; Camire et al., 2007]. Molte di queste informazioni sono disponibili per l'estrusione di

alimenti destinati agli esseri umani, con riferimento agli studi sui cereali destinati alla colazione. Questi tipi di estrusi sono formulati principalmente con cereali (riso, mais, grano, avena) e zuccheri (glucosio, saccarosio e fruttosio) e contengono bassi livelli di proteine e grassi [Brennan et al., 2008]. Pertanto, le grandi differenze nelle materie prime e nella composizione chimica dei cereali nella produzione di questi alimenti destinati all'uomo, rispetto alle formulazioni per i pet, rendono impossibile estrapolare informazioni utili per la produzione di mangimi commerciali per cani e gatti, malgrado le apparecchiature di estrusione siano simili.

La fibra non ha alcuna funzionalità sul processo d'estrusione e la sua inclusione comporta un aumento dei costi di produzione e un peggioramento relativo alla lavorazione stessa dell'estruso [Gibson & Alavi, 2013]. In generale, l'aggiunta di fibre sembra indurre una maggiore resistenza al flusso di massa nel tubo dell'estrusore, il che si traduce in un maggiore consumo di energia elettrica e una maggiore applicazione di energia meccanica specifica. L'aumento nell'applicazione di energia non determina un aumento della cottura, ma al contrario, la fibra può limitare la cottura dell'amido e la qualità della lavorazione, con possibile influenza sulla digeribilità e sull'utilizzo della dieta. In relazione alla macrostruttura dell'estruso, la fibra interrompe la formazione di un'adeguata struttura cellulare, poiché conduce vapore acqueo senza formazione di cellule. Ciò si traduce in una maggiore espansione

longitudinale e riduzione dell'espansione radiale, aumento della densità specifica e apparente e formazione di estrusi più duri [Robin et al., 2012]. Tutti questi aspetti possono avere un effetto importante sia sul costo di lavorazione che sulla digeribilità e appetibilità di alimenti per cani integrati con fibre [Monti et al., 2016]. Le fasi di lavorazione come la molitura, l'essiccazione, il trattamento termico o l'estrusione, promuovono i cambiamenti nelle proprietà fisiche della fibra e, di conseguenza, nelle capacità d'idratazione [Cadden, 1987]. Pertanto, la capacità di idratazione rivela che le differenze strutturali influenzano la capacità della fibra di assorbire acqua e composti organici. Le differenze naturali nelle fonti di fibre e i cambiamenti causati dalle varie fasi nel processo di estrusione possono promuovere differenze nei parametri ingegneristici, nelle proprietà tecnologiche e terapeutiche [Neves et al., 2008].

1.5.9. Effetto dell'estrusione sulle vitamine

Le vitamine sono parti essenziali degli alimenti e dei mangimi. Gli esseri umani e gli animali richiedono una certa quantità di ciascun tipo di vitamina per mantenere un normale stato di salute. Sebbene le vitamine non forniscano energia, sono parte integrante di tutti quei processi che nell'organismo gestiscono carboidrati, proteine e grassi. Le vitamine conosciute, divise in idrosolubili e liposolubili, sono importanti componenti sia della dieta umana che animale, ma molte di queste sono perse durante i vari processi a cui sono

sottoposti gli alimenti. Gadient [1986] ha evidenziato che la vitamina A, la biotina e l'acido folico sono più sensibili al calore, e le vitamine A, D e C sono più soggette all'ossidazione. La vitamina K e la stabilità dell’acido pantotenico sono invece influenzate negativamente dall'umidità [Gadient, 1986]. Le vitamine più sensibili al processo di estrusione sono la A, la E, la C, la B1 e l’acido folico, mentre le altre vitamine del gruppo del complesso B (B2, B6, B12, niacina, Ca-pantotenato e biotina) sono molto stabili. La vitamina E, il complesso di bisolfito di sodio menadione (MSBC), l'acido ascorbico e l'acido ascorbico rivestito sono le vitamine meno stabili. Queste vitamine possono perdere il 20% della loro attività alla temperatura più bassa di estrusione e al tempo di esposizione più breve. Se sottoposte a temperature più alte ed a tempi di esposizione maggiori nell’estrusore, queste vitamine possono perdere sino al 65% della loro attività [Riaz et al., 2009].

Durante l'estrusione, avvengono reazioni molto complesse quindi non è facile studiare l'influenza di ciascun fattore sulle singole vitamine, poiché queste differiscono notevolmente per composizione, struttura chimica, e forma disponibile, il che ne varia la loro stabilità durante l'estrusione. Un dictat comune è quello secondo cui ridurre al minimo la temperatura e il taglio all'interno dell'estrusore aiuterebbe a salvaguardare la maggior parte delle vitamine. La tabella 3 riassume l'influenza dei vari parametri dell’estrusione sulla ritenzione di vitamine.

Tabella 3. Parametri dell'estrusione che influenzano la ritenzione delle vitamine [Killeit, 1994].

↑	**TEMPERATURA DELLA MASSA E DELL'APPARECCHIATURA**
↑	**VELOCITA' DELLA VITE**
↑	**INPUT DELL'ENERGIA SPECIFICA**
↓	**UMIDITA' DEGLI ALIMENTI**
↓	**DIAMETRO DEL FORO**
↑	**PRODUTTIVITA'**

Athar et al. [2006] hanno osservato che la ritenzione di vitamine durante il processo di estrusione non è correlata ai livelli iniziali delle vitamine e varia con il tipo di cereali. Gli autori riportano che la piridossina contenuta nel mais presentava una stabilità maggiore di quella presente nell'avena e nel pisello [Athar et al., 2006].

La tabella n.4 mostra i fattori che influenzano l'inattivazione o la distruzione di vitamine e le perdite di vitamine durante la pellettatura, l'estrusione e lo stoccaggio dei mangimi (22-24 °C).

Tabella 4. Fattori che influenzano l'inattivazione o la distruzione di vitamine e perdite di vitamine durante la pellettatura, l'estrusione e lo stoccaggio di mangimi [Kubitza & Cyrino, 1998].

	Retention of vitamin activity (%)			
Vitamins	Pelleting	Extrusion*	Storage for 3 months	Factors affecting vitamin destruction during processing and storage**
A	80–90	80–88	100	ox, light
D_3	80–100	Stable	—	—
E	—	85	94	ox, light, oxidized fat
K_3	50–70	—	—	ox
Riboflavin	95–100	74–100	100	light
Pantothenate	80–90	90	92	ox, light
Niacin	95	80	—	Stable in feeds
B_{12}	90	—	—	ox, red, light
Choline	Stable	Stable	—	stable in feeds
Biotin	95–100	90	73	ox
Folic acid	60–90	—	85	ox, light, microbial
Thiamine(B_1)	60–96	88	—	ox, red, light
Pyridoxine(B_6)	80–100	—	100	ox, red
Ascorbic acid(AA)				
L–AA	28–70	5–45	3***	moist, heat, ox, light, iron
AA–Silicone coated	—	22–36	—	moist, heat, ox, light, iron
AA–ethylcellulose	10–24	45–60	—	moist, heat, ox, light, iron
AA–monophosphate	91	78–100	97	moist, stable
AA–polyphosphate	98	96–100	100	moist, stable

1.5.10. Effetto dell’estrusione sui fattori anti nutrizionali

Gli ingredienti che compongono la miscela alla base della produzione di un estruso molto spesso sono caratterizzati dalla presenza di fattori anti nutrizionali, alcuni dei quali particolarmente dannosi per gli animali d’affezione. Alcuni di questi fattori anti nutrizionali, come ad esempio gli inibitori della tripsina e le emoagglutinine, possono essere inattivati proprio grazie al processo di estrusione, mentre altri, come i fitati e i polisaccaridi non amilacei (PNA’s), non essendo termolabili [Yamka et al., 2003], necessitano di una integrazione enzimatica per favorire l’idrolisi di legami specifici non digeribili dai mono gastrici [Brito et al. 2006].

Gli inibitori della tripsina e le emoagglutinine sono fattori anti-nutrizionali potenzialmente molto dannosi per i monogastrici, ed entrambi sono presenti nella soia, uno degli ingredienti proteici maggiormente utilizzati nella formulazione di diete destinate ai pet. Gli inibitori della tripsina possono rappresentare sino al 2% del contenuto proteico della soia [Silva & Silva, 2000] e sono suddivisi in due principali categorie: (1) tipo Kunitz, caratterizzati da un alto peso molecolare e specificità primaria per la tripsina; e i (2) tipo Bowman-Birkos, caratterizzati da un basso peso molecolare e dalla capacità di inibire la tripsina e la quimotripsina in siti di legame indipendenti [Liener, 1994]. La stabilità termica degli inibitori delle proteasi dipende dal loro peso molecolare e dal grado di stabilizzazione della conformazione attiva mediante ponti disolfuro. Gli inibitori di tipo Bowman-Birk sono più stabili al calore e alle variazioni del pH [Sgarbieri & Whitaker 1982]. Gli effetti nocivi degli inibitori della proteasi sono complessi; principalmente si hanno alterazioni metaboliche del pancreas, con aumento della secrezione enzimatica, ipertrofia e iperplasia dell'organo stesso, e riduzione del tasso di crescita [Al-Wesali et al., 1995].

La lectina, o emoagglutinina, è un altro fattore anti nutrizionale termolabile. Questa sostanza possiede la capacità di promuovere l'agglutinazione degli eritrociti, di promuovere la stimolazione mitogenica dei linfociti e l'agglutinazione delle cellule tumorali [Lis et al., 1973; Askar, 1986; Liener, 1981].

Barca et al. [1991] hanno analizzato il tenore in lectina della soia cruda e dopo essere stata sottoposta a trattamento termico, mettendo in evidenza come i quantitativi di questa sostanza passassero dai 3600 μg/g nella soia cruda ai 3,75 - 12,92 μg/g nella soia processata.

1.5.11. Implicazioni dovute alle applicazioni di energia meccanica ed energia termica

I cambiamenti fisico-chimici promossi dall'estrusione negli ingredienti sono direttamente collegati alla quantità di energia totale specifica (TSE) trasferita alla massa. Questa, a sua volta, è composta dalla somma dell'Energia Meccanica Specifica (SME) e dell'Energia Termica Specifica (STE). Se prima si dava molta importanza all'applicazione e agli effetti solamente della SME, oggi è ormai chiaro quanto la STE risulti maggiormente importante, dal momento che solamente il 20-35% dell'energia totale applicata nel processo di produzione del pet food deriva dalla SME mentre la parte restante deriva dall'energia termica. Tuttavia, questa realtà potrebbe non essere appropriata per tutte le industrie di produzione di pet food. Alcuni dei sistemi di estrusione potrebbero non possedere la tecnologia adeguata per trasferire quantità significative di energia termica perché i condizionatori sono piccoli, perché le pale non sono efficienti nell'omogeneizzare la massa, perché non c'è controllo e variazione della velocità di rotazione delle pale e persino perché il

tempo di residenza del prodotto all'interno dell’estrusore non è sempre misurato o controllato. Inoltre, alcuni sistemi non funzionano con il vapore essendo il processo completamente basato sull'energia meccanica, il che li rende inefficienti e costosi. La misurazione/calcolo della SME e della STE applicate consentono di comprendere, parametrizzare, controllare e replicare il processo di fabbricazione dei prodotti [Riaz, 2007]. Nella maggior parte degli studi pubblicati non vi è alcuna descrizione delle condizioni e dei parametri di estrusione o della quantificazione dei trasferimenti SME, STE e TSE perché le condizioni di processo variano a seconda della composizione dei nutrienti e dei tipi di materie prime utilizzate [Tran et al., 2008].

Secondo Sà et al. [2013] sono diversi i vantaggi quando la STE viene aumentata, con riduzione proporzionale della SME, come: (1) guadagno in termini di appetibilità; (2) minori costi di lavorazione, sommando il minor costo del vapore in relazione all'energia elettrica e il minor costo dell'usura delle apparecchiature, che è tanto più elevato quanto più la SME è alta; (3) minore perdita di nutrienti, considerato che per gli aminoacidi e il selenio si hanno perdite più elevate e la formazione di lisina legata, con conseguente danno alle proteine, quanto più alta è la SME applicata. Nello studio effettuato la cottura dell’amido, così come la digeribilità dei nutrienti, risultava uguale tra i vari trattamenti con applicazioni minori di SME, compensata con una maggiore applicazione di STE, e viceversa.

1.5.12. Resistenza al taglio negli estrusi

Il test della resistenza al taglio o “Extrudate cutting force” test, secondo Silva [2013] riproduce le stesse condizioni della masticazione degli animali. Questo tipo di analisi non è ancora un parametro di valutazione molto diffuso per gli alimenti destinati agli animali da compagnia tuttavia risulta di vitale importanza per l’industria degli alimenti, dal momento che offre una migliore padronanza dei controlli eseguiti durante la produzione e può contribuire alla creazione di nuovi prodotti. Il test rende possibile capire quale sia l’influenza di alcuni ingredienti e dei diversi tipi di processo di produzione sulla prensione e sulla masticazione di determinati alimenti da parte degli animali. La produzione di alimenti con differenti forze di taglio implica che vi siano diete con differenti resistenze alla masticazione [Ishizaki et al., 2006], e questo può aprire all’opportunità di investigare gli effetti sulla cinetica del consumo alimentare, sui tempi di masticazione e sull’appetibilità dell’alimento stesso [Monti et al., 2016].

2. SCOPO DELLA TESI

Questo studio ha avuto come obiettivo quello di valutare gli effetti di diversi livelli di inclusione del pastazzo d'arancia, quale fonte di fibra, nella formulazione di mangimi destinati a cani e, allo stesso tempo, quello di utilizzare due matrici con diametro differente dei fori durante la produzione degli estrusi.

L'obiettivo è stato quello di mettere in evidenza, soprattutto per le aziende mangimistiche operanti nel settore del pet food, se il possibile utilizzo del pastazzo d'arancia possa realmente rappresentare una nuova fonte di fibra nella produzione di mangimi destinati ai cani, aumentando così il valore di mercato di questi sottoprodotti.

Lo studio dei vari parametri di estrusione ha permesso di valutare, dal punto di vista tecnologico, gli effetti dell'inclusione del pastazzo d'arancia sulla stessa produzione dei croccantini, sul dispendio energetico legato alla produzione e sui possibili effetti usuranti sui macchinari utilizzati per la produzione.

Parallelamente, attraverso l'utilizzo di due differenti diametri dei fori della matrice si è voluto investigare il ruolo di questo parametro tecnologico sulle prestazioni dell'estrusore e sulle caratteristiche macrostrutturali del prodotto finito.

Quindi, questo studio preliminare ha cercato di mettere in evidenza se l'utilizzo di questi sottoprodotti possa modificare le caratteristiche tecnologiche e influenzare l'accettabilità del prodotto da parte dei fruitori finali.

3. MATERIALI E METODI

3.1. Formulazione delle Diete ed Ingredienti Fibrosi

La sperimentazione ha previsto la formulazione di 5 diete, una dieta controllo e quattro diete sperimentali contenenti il pastazzo di arancia con differenti livelli di inclusione quale fonte di fibra. La dieta controllo, contenente come ingredienti principali mais e sottoprodotti avicoli, è stata formulata per le esigenze di cani adulti, in accordo con le linee guida della European Pet Food Industry Federation nutritional [FEDIAF 2019].

Le diete sperimentali presentavano gli stessi ingredienti della dieta controllo con sostituzione parziale del mais, rispettivamente nelle percentuali del 5%, 10%, 15% e 20%, con il pastazzo d'arancia (OP) fornito dall'azienda Citro-suco (Matão – São Paulo, Brasil).

La tabella 5 riporta le formulazioni oggetto di studio.

Tabella 5: Percentuali degli ingredienti nelle formulazioni

	CO	OP5	OP10	OP15	OP20
			Ingredienti (%)		
Mais	57,02	52,02	47,02	42,02	37,02
Farina di Visceri di Pollo	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00
Pastazzo d'Arancia	0,00	5,00	10,00	15,00	20,00
IMV[a]	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Cloruro di Colina	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Cloruro di Potassio	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
Antiossidante[b]	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
Antifungino[c]	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Sale	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
DL-Metionina	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
			Aggiunti tramite copertura		
Grasso di Pollo	9,00	9,00	9,00	9,00	9,00
Appetibilizzante	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00

[a] Rovimix, DSM Produtos Nutricionais Brasil S.A., Jaguaré, Brazil. Added per kg of food: Vitamin A, 18,750 IU; Vitamin D3, 1,500 IU; Vitamin E, 125 IU; Vitamin K3, 1,5 mg; Vitamin B1, 5 mg; Vitamin B2, 16.25 mg; Pantothenic Acid, 37.5 mg; Vitamin B6, 7.5 mg; Vitamin B12, 45 mcg; Vitamin C, 0,125 g; Nicotinic Acid, 0.0625; Folic Acid, 0.75 mg; Biotin, 0.315 mg; Choline, 0.625 g; Iron, 0.1 g; Copper, 9.25 mg; Manganese, 6.25 mg; Zinc, 0.15 g; Iodine, 1.875 mg; Selenium, 0.135 mg.
[b] Mold-Zap Citrus, Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda., Araucária, Brazil. [c] Banox, Alltech do Brasil Agroindustrial Ltda., Araucária, Brazil.

3.2. Estrusione

Gli ingredienti delle 5 formulazioni sono stati pesati, miscelati e macinati utilizzando un mulino dotato di un setaccio delle dimensioni di 1 mm (Sistema Tigre de Mistura e Moagem, Tigre, São Paulo, Brasil).

Le cinque diete sono state sottoposte a procedimento di estrusione con due matrici con diametro differente dei fori (D_d) di 7 mm (con area aperta del foro di 38,5 mm^2) e di 5 mm (con area aperta del foro di 19,6 mm^2) per un totale di 10 diete prodotte.

Il Diametro Geometrico Medio (M.G.D.) delle particelle degli sfarinati è stato analizzato attraverso l'utilizzo di setacci ad agitazione, per un totale di 16 setacci con apertura della maglia compresa tra 37 μm e 1000 μm (nello specifico: 1 mm; 0,840 mm; 0,710 mm; 0,500 mm; 0,420 mm; 0,350 mm; 0,297 mm; 0,250 mm; 0,210 mm; 0,177 mm; 0,149 mm; 0,105 mm; 0,088 mm; 0,062 mm; 0,053 mm; 0,037 mm).

L'estruso è stato prodotto con un estrusore a vite singola (MEX 250, Manzoni, Campinas, São Paulo, Brasil) e una capacità di produzione di 250 kg/h. La vite per entrambe le estrusioni aveva un diametro di 80 mm, mentre la matrice aveva un diametro dei fori (D_d) di 7 mm (con area aperta del foro di 38,5 mm^2) durante la prima giornata di estrusione, e di 5 mm (con area aperta del foro di 19,6 mm^2) durante la seconda giornata. La vite presentava 5 sezioni: la prima/sezione iniziale senza anello di ritenzione ed una vite con

filettatura semplice; una seconda sezione con un piccolo anello di ritenzione e una vite con filettatura semplice; una terza sezione con un piccolo anello di ritenzione e una vite con filettatura doppia; una quarta sezione con un anello di ritenzione di medie dimensioni e una vite con filettatura doppia; infine una quinta sezione con una vite a filettatura doppia con capacità di taglio. L'energia termica è stata aumentata sull'impasto durante il passaggio nel pre-condizionatore mediante infusione diretta di vapore, cercando di mantenere la temperatura il più possibile uniforme durante la produzione delle differenti diete; la temperatura media all'interno del pre-condizionatore è stata di 95,4°C (± 1,26), registrando picchi di 97,6°C nella produzione delle diete con il 10% di inclusione di pastazzo d'arancia. L'umidità media dell'impasto all'interno del pre-condizionatore è stata di 25,9% (± 1,44), con valori massimi di 27,6% per le diete integrate con il 20% di pastazzo d'arancia. La produttività media nel pre-condizionatore è stata di 220,5 kg/h (± 25,6) per le diete D_d 7mm e di 198,5 kg/h (± 6,51) per le diete D_d 5mm. La velocità del passaggio nel pre-condizionatore è risultata in un tempo di residenza medio dell'impasto di 182,7 secondi. Per tutti i trattamenti, la velocità della vite dell'estrusore è stata impostata a 643 rpm. Le diete con le matrici con diametro differente dei fori (D_d) di 7 mm e di 5 mm sono state prodotte in due giorni differenti. Ogni giorno la produzione è stata avviata con la dieta controllo per stabilizzare le apparecchiature e stabilire le condizioni basali di

lavorazione, in seguito e in successione sono state prodotte le 4 diete sperimentali con i differenti livelli di inclusione di pastazzo d'arancia.

Dopo la stabilizzazione dell'apparecchiatura (minimo 45 minuti), il processo è stato mantenuto costante e non sono state effettuate alterazioni sui parametri del software: velocità di avanzamento, velocità della vite, iniezione di acqua e vapore, e velocità della lama. I parametri di produzione sono stati registrati ogni 10 minuti, con almeno quattro misurazioni per dieta per ogni giorno di produzione, per un totale di otto osservazioni (4 durante il primo giorno di produzione e 4 durante il secondo giorno di produzione) per dieta. I parametri registrati sono stati: temperatura di pre-condizionamento, umidità dell'impasto nel pre-condizionatore, produttività oraria del pre-condizionatore, umidità dell'impasto nel tubo estrusore, amperaggio del motore, temperatura dell'impasto prima della fuoriuscita dalla matrice dell'estrusore, temperatura dell'impasto prima alla fuoriuscita dalla matrice dell'estrusore, pressione dell'impasto prima della fuoriuscita dalla matrice dell' estrusore, produttività oraria dell'estrusore, energia elettrica specifica (SME), energia termica specifica (STE), densità apparente dopo il passaggio in estrusore e densità apparente dopo essiccazione. Sono stati anche registrati i parametri relativi alla: temperatura dell'ambiente, temperatura dell'acqua di lavoro, temperatura di alimentazione dell'impasto e pressione del vapore.

3.3. Campionamento

Il primo campionamento ha riguardato le materie prime (Mais, Farina di Viscere di Pollo, Pastazzo d'arancia). I campioni sono stati prelevati da sacchi facenti parte dello stesso lotto di produzione per tutte le materie prime utilizzate nei due giorni di produzione. Il campionamento delle materie prime è stato effettuato durante le due giornate di macinatura e miscelazione delle stesse, per la produzione delle diete con una matrice con diametro dei fori di 7 mm (Day 1) e di 5 mm (Day 2).

La fase successiva del campionamento ha riguardato lo sfarinato, subito dopo l'insacco, e i campioni prelevati sono stati:

- n. 1 dal mangime sfarinato Controllo D_d 7 mm e n. 1 dal mangime sfarinato Controllo D_d 5 mm di una produzione di 250 Kg,
- n. 1 dal mangime sfarinato 5% pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 1 dal mangime sfarinato 5% pastazzo d'arancia D_d 5 mm di una produzione di 180 Kg,
- n. 1 dal mangime sfarinato 10% pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 1 dal mangime sfarinato 10% pastazzo d'arancia D_d 5 mm di una produzione di 180 Kg,
- n. 1 dal mangime sfarinato 15% pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 1 dal mangime sfarinato 15% pastazzo d'arancia D_d 5 mm di una produzione di 180 Kg,

- n. 1 dal mangime sfarinato 20% pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 1 dal mangime sfarinato 20% pastazzo d'arancia D_d 5 mm di una produzione di 180 Kg,

Durante il processo di estrusione delle diete prodotte con le due matrici di diametro (D_d) 7 e 5 mm sono stati effettuati campionamenti dal precondizionatore, dall'estrusore e dall'essiccatore.

Dal precondizionatore, a intervalli di 10 minuti l'uno dall'altro, sono stati prelevati campioni:

- n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime controllo D_d 7 mm e n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime controllo D_d 5 mm,
- n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 5% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 5% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,
- n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 10% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 10% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,
- n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,

- n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,
- n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 20% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'impasto per la produzione del mangime con il 20% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm.

Dall'estrusore, ad intervalli di 10 minuti l'uno dall'altro, sono stati prelevati campioni:

- n. 4 dall'estruso controllo D_d 7 mm e n. 4 dall'estruso controllo D_d 5 mm,
- n. 4 dall'estruso con il 5% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'estruso con il 5% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,
- n. 4 dall'estruso con il 10% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'estruso con il 10% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,
- n. 4 dall'estruso con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'estruso con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,

- n. 4 dall'estruso con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'estruso con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,
- n. 4 dall'estruso con il 20% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 dall'estruso con il 20% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm.

Dall'essiccatore, ad intervalli di 10 minuti l'uno dall'altro, sono stati prelevati campioni:

- n. 4 campioni dell'estruso di controllo, essiccato, D_d 7 mm e n. 4 campioni dell'estruso di controllo, essiccato, D_d 5 mm,
- n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 5% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 5% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,
- n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 10% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 10% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,
- n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,

- n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 15% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm,
- n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 20% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 7 mm e n. 4 campioni dell'estruso, essiccato, con il 20% di inclusione di pastazzo d'arancia D_d 5 mm.

Nel complesso, durante la sperimentazione sono state campionate:

- n. 6 campioni di materie prime (2 campioni di Mais, 2 campioni di Farina di Viscere di Pollo, 2 campioni di Pastazzo d'Arancia), e nello specifico 1 campione di materia prima per ogni giornata di produzione;
- n. 10 campioni di mangime sfarinato (5 durante il primo giorno di produzione e 5 durante il secondo giorno di produzione), dopo la macinazione e miscelazione delle materie prime;
- n. 40 campioni dell'impasto dal precondizionatore dell'estrusore, e nello specifico 4 campioni per ogni dieta prodotta per un totale di dieci diete;
- n. 40 campioni di mangime dall'estrusore prima della fase di asciugatura, e nello specifico 4 campioni per ogni dieta prodotta per un totale di dieci diete;

- n.40 campioni di mangime finito, dopo la fase di asciugatura, e nello specifico 4 campioni per ogni dieta prodotta per un totale di dieci diete.

I campioni prelevati dopo la fase di pre-condizionamento, di estrusione ed asciugatura, sono stati immediatamente conservati a -20ºC per ulteriori analisi.

Infine, sono stati effettuati i campionamenti finali delle 10 diete prodotte per effettuare le analisi chimiche.

3.4. Analisi Chimiche

Ciascuno dei campioni di materie prime, prodotti sfarinati, semilavorati e finiti (prima di essere sottoposti alla grassatura) è stato analizzato presso il "Laboratorio de Nutricao de Caes e Gatos" dell'Università di Medicina Veterinaria di Jaboticabal (UNESP/FCVA), São Paulo, Brasil, per la determinazione dei parametri di cartellino (Umidità, Proteine Grezze, Fibra Grezza, Lipidi Totali Grezzi, Calcio, Fosforo, Ceneri), della gelatinizzazione dell'amido e del contenuto in energia lorda.

Ciascun campione è stato sottoposto a macinatura mediante mulino dotato di un setaccio di 1mm (Mod MA-350, Marconi, Piracicaba, Brasil).

In accordo con le metodiche proposte dall'Association of Official Analytical Chemists AOAC (1995) è stata effettuata la determinazione della sostanza

secca (DM) (metodo 934.01) su un totale di 146 campioni (40 campioni prelevati dal precondizionatore, 40 campioni prelevati dall'estrusore, 40 campioni prelevati dopo la fase di asciugatura, 10 campioni di diete sfarinate, 10 campioni di diete e 6 campioni di materie prime); dei lipidi totali (LT) utilizzando il metodo dell'idrolisi dei lipidi polari (metodo 954.02) su un totale di 16 campioni (10 campioni di diete e 6 campioni di materie prime); delle ceneri attraverso l'incenerimento in muffola (metodo 942.05) su un totale di 66 campioni (40 campioni prelevati dopo la fase di asciugatura, 10 campioni di diete sfarinate, 10 campioni di diete e 6 campioni di materie prime); delle proteine, su un totale di 16 campioni (10 campioni di diete e 6 campioni di materie prime), mediante un analizzatore LECO nitrogen/protein (FP-528, LECO Corporation, Saint Joseph, USA) secondo il principio della combustione di Dumas (method 990.03); della fibra grezza (metodo 978.10), su un totale di 16 campioni (10 campioni di diete e 6 campioni di materie prime); del contenuto in calcio e fosforo, attraverso spettrofotometria di massa, in accordo con Silva e de Queiroz [2002] su un totale di 16 campioni (10 campioni di diete e 6 campioni di materie prime). La sostanza organica (OM) è stata calcolata dalla sostanza secca (DM) al netto delle ceneri [AOAC, 1995].

L'energia lorda (EG) delle diete è stata determinata attraverso l'utilizzo di una Bomba Calorimetrica (IKA C2000 Basic, IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Germany), su un totale di 10 campioni di diete prodotte (cinque

diete estruse con una matrice che aveva un diametro dei fori di 7 mm e cinque diete con una matrice che aveva un diametro dei fori di 5 mm).

Il contenuto in amido è stato determinato in accordo con il metodo di Hendrix [1993], su un totale di 44 campioni (40 campioni prelevati dopo la fase di asciugatura e 4 (2+2) sulle materie prime mais e pastazzo di arancia prelevati nei due giorni di produzione.

La gelatinizzazione dell'amido è stata determinata attraverso il metodo dell'amino glucosidasi, in accordo con Sá et al. [2013], su un totale di 40 campioni prelevati dopo la fase di asciugatura.

Tutte le analisi sono state effettuate in duplicato e ripetute quando il coefficiente di variazione è risultato più alto del 5%.

3.5. Macrostruttura e Caratteristiche dei Croccantini

In questo studio i croccantini sono stati sottoposti ad una prova di resistenza al taglio. L'analisi consiste nel sottoporre i croccantini ad una pressione sempre maggiore esercitata da un piedistallo verso un dinamometro con alla base un deflettore. Il dinamometro che provoca la rottura è collegato tramite un software ad un computer che ne registra i valori (espressi in Newton) ad un intervallo temporale controllato.

Per questa analisi sono stati prelevati 20 croccantini per ognuno delle 10 diete oggetto di studio avendo cura di selezionarli di dimensioni simili e privi

di crepe o altre forme di irregolarità. I croccantini sono stati essiccati in una stufa (ETS Modelo 532, Systens Eletro-Tech, Inc., Glenside, PA, EUA) alla temperatura di 55°C per 24 ore. Dopo la fase di asciugatura si è proceduto alla valutazione della resistenza al taglio mediante Texture Analyser TAX/T2I (Stable Micro Systems Ltda, Godalming, UK) dotato di cella di carico di 50 kg_f. I campioni sono stati testati con una distanza di compressione di 10 mm e una velocità di 2,0 mm/s, utilizzando un coltello Warner Bratzler. Facendo muovere verso l'alto il piedistallo sul quale è posizionato il croccantino, quest'ultimo viene in contatto con il deflettore collegato al dinamometro provocandone la rottura e registrandone il dato.

La microscopia elettronica dei croccantini è stata ottenuta attraverso l'utilizzo di un microscopio elettronico a scansione a emissione di campo (JEOL, JSM-7500F; Miaka, Tokyo, Japan). Le immagini sono state valutate da un esaminatore esperto, non informato sui tipi di dieta sperimentali. Le analisi sono state svolte presso l'Istituto di Chimica del campus di Araraquara – UNESP, São Paulo, Brasil. Tutte le immagini erano di tipo qualitativo e non sono state sottoposte a valutazione statistica. Per la valutazione interna i croccantini sono stati tagliati seguendo la direzione mediale. Le foto della superfice interna sono state analizzate con un filtro standardizzato settato con il Image J 2019 (Java-based image processing program, LOCI, University of Wisconsin) ed è stata misurata l'area totale delle celle interne.

Per ciascun trattamento, con un calibro digitale (ABS Calibro AOS Digimati 0-100mm, Rod; Mitutoyo Italiana S.r.l. Milano, Italy) e una bilancia analitica di precisione (Exacta Optech 120 IC Pseries, Germany) sono state misurate la lunghezza (le), il diametro (de) e la massa (me) di 40 croccantini/dieta al fine di calcolare il rapporto di espansione radiale (RE), la lunghezza specifica (lsp) e la densità del pezzo (ρ), come descritto di seguito:

$$RE = \frac{\mathrm{De}^2}{\mathrm{Dd}^2}$$

$$\mathrm{lsp} = \frac{\mathrm{le}}{\mathrm{me}} \ \ (\mathrm{mm/g})$$

$$\rho = \frac{4\mathrm{me}}{\pi \text{ x } \mathrm{De}^2 \text{ x le}} \ (\mathrm{Kg/m^3})$$

Dove dd = area aperta del foro

3.6. Calcolo dell'Energia Meccanica Specifica (SME) e dell'Energia Termica Specifica (STE).

L'energia meccanica specifica (SME) è stata calcolata per ogni trattamento [Riaz, 2007], secondo la seguente formula:

$$SME = \frac{(\sqrt{3} \times Voltage \times (WA - EA) \times (cosFi \div 1000)) \times 1000}{Produttività}$$

Dove:

Voltage = (220 V).

WA = Intensità di corrente generata dal motore durante la produzione (A).

EA = Intensità di corrente non generata dal motore (A).

cosFi = Fattore di potenza (0.76).

Produttività = Quantitativo di materie prime inserite all'interno del precondizionatore (t/h).

3.7. Analisi Statistica

I dati ottenuti per il Diametro Geometrico Medio (M.G.D.) delle particelle degli sfarinati sono stati sottoposti ad elaborazione con il software di granulometria Granucalc (Embrapa, Brasilia, Brazil) [Headley & Pfost 1970; Henderson & Perry, 1976; EMBRAPA-CNPSA; 1998; EMBRAPA-CNPSA, 1999] e riportati in tabella come medie aritmetiche.

Per quanto riguarda la composizione chimica delle diete e delle materie prime, sono state riportate in tabella le medie aritmetiche dei valori ottenuti dalle analisi effettuate in duplicato.

Tutti parametri relativi al processo di estrusione sono stati analizzati con una disposizione fattoriale 5 x 2 dei trattamenti (diete x fori della matrice), con un disegno completamente randomizzato. Il campione prelevato ad intervalli di 10 minuti, con quattro ripetizioni per trattamento, è stato considerato l'unità sperimentale.

Per quanto riguarda la macrostruttura dei croccantini e l’analisi della resistenza al taglio l'unità sperimentale considerata è stato il singolo croccantino, con 20 ripetizioni per trattamento.

I risultati sono stati sottoposti all'analisi della varianza, le somme dei quadrati dei modelli sono state separate tra gli effetti dei diversi livelli di inclusione del pastazzo di arancia (OP), del foro della matrice (Dd) e delle loro interazioni utilizzando la procedura GLM del software SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). I valori di $P < 0,05$ sono stati considerati significativi. Quando sono state ritrovate differenze significative nel test F, le medie sono state confrontate mediante i contrasti polinomiali (lineare e quadratico).

4. RISULTATI

4.1. Analisi chimiche e granulometriche

Le analisi chimiche delle materie prime, della granulometria degli sfarinati utilizzati per la produzione delle diete e le analisi chimiche delle diete prodotte sono riportati in tabella 6, in tabella 7 ed in tabella 8 come valori medi. Le immagini di Microscopia Elettronica, valutate, qualitivamente, sono riportate in figura 7 e in figura 8.

Tabella 6. Composizione chimica delle materie prime utilizzate nello studio.

	Pastazzo d'Arancia	Farina di Visceri di Pollo	Mais
Sostanza Secca (% tal quale)	89,28	95,7	87,9
Ceneri (% tal quale)	9,4	16,2	1,22
Proteine Grezze (% tal quale)	27,2	66	9,7
Grassi Grezzi (% tal quale)	5,6	15,9	3,61
Fibra Grezza (% tal quale)	15,72	0,89	2,85
Amido (% tal quale)	3,39	-	49,3
Calcio (% tal quale)	2,25	5,09	0,01
Fosforo (% tal quale)	0,05	2,91	0,22

Tabella 7. Analisi granulometrica degli sfarinati utilizzati per la produzione delle diete.

	Sfarinati[a]										**Valore Medio**
	CO		***OP5***		***OP10***		***OP15***		***OP20***		
Diametro dei Fori della Matrice (D_d)[c]	***D_d 7mm***	***D_d 5mm***	***D_d 7mm***	***D_d 5mm***	***D_d 7mm***	***D_d 5mm***	***D_d 7mm***	***D_d 5mm***	***D_d 7mm***	***D_d 5mm***	
Diametro Geometrico Medio(µm)	285	298	278	263	276	309	277,5	299	281	298	286,5

a CO= Sfarinato Controllo; OP5= Sfarinato con inclusione del 5% di pastazzo d'arancia; OP10 = Sfarinato con inclusione del 10% di pastazzo d'arancia;; OP15= Sfarinato con inclusione del 15% di pastazzo d'arancia; OP20= Sfarinato con inclusione del 20% di pastazzo d'arancia; b Valore Medio; c Diametro dei fori della Matrice

Tabella 8. Composizione Chimica (g/kg, su s.s.) e energia lorda (cal/g) delle diete sperimentali per cani prodotte, eseguite su campioni prima della copertura con grasso di pollo e appetibilizzante.

	Diete [1]									
	CO		***OP5***		***OP10***		***OP15***		***OP20***	
Diametro dei Fori della Matrice	***D_d 7mm [2]***	***D_d 5mm[3]***	***D_d 7mm***	***D_d 5mm***	***D_d 7mm***	***D_d 5mm***	***D_d 7mm***	***D_d 5mm***	***D_d 7mm***	***D_d 5mm***
Sostanza Secca	938,1	948,8	946	950	954,4	946,6	948,1	951,4	951,9	946,6
Ceneri	97,2	81,1	80,8	104,7	85,8	87,1	87,6	91,6	95,8	93
Proteine Grezze	285,6	294,7	281,4	272,3	273,5	274,1	263,3	280,7	271,1	274,8
Grassi Grezzi	109,7	105,4	116	111,6	115,3	122,1	112,1	118,9	95,8	99,5
Fibra Grezza	26,8	26	24,6	24,1	31,1	30,9	40,2	40,2	52,1	54,5
Amido	341,7	349,6	320,3	345,9	314,7	296,2	293,8	284,9	266,7	251,8
Calcio	21,6	21	20,8	23,3	20,1	20,7	27,5	25,3	26,3	27,8
Fosforo	12,4	12,7	10	12,7	10,3	10,7	13,4	12,2	13	14,1
Energia Lorda	4211	4234	4309	4405	4253	4098	4200	4226	4139	4307

[1] CO = dieta controllo; OP5 = dieta con inclusione del 5% di pastazzo d'arancia; OP10 = dieta con inclusione del 10% di pastazzo d'arancia; OP15 = dieta con inclusione del 15% di pastazzo d'arancia; OP20 = dieta con inclusione del 20% di pastazzo d'arancia; [2] Matrice dell'estrusore con fori di diametro da 7 mm; [3] Matrice dell'estrusore con fori di diametro da 5 mm

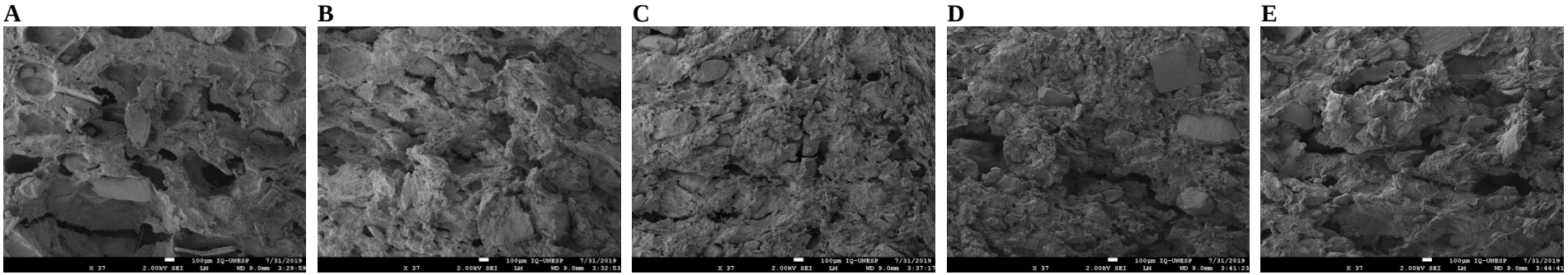


Figura 7. Microscopia Elettronica di Croccantini prodotti con differenti livelli di inclusione di pastazzo d'arancia ed una matrice con fori di diametro di 7 mm. A, B, C, D e E corrispondono all'area interna, rispettivamente della dieta CO, OP5, OP10, OP15, OP20 7mm D_d (Increase of 37×). CO = dieta controllo; OP5 = dieta con inclusione del 5% di pastazzo d'arancia; OP10 = dieta con inclusione del 10% di pastazzo d'arancia; OP15 = dieta con inclusione del 15% di pastazzo d'arancia; OP20 = dieta con inclusione del 20% di pastazzo d'arancia.

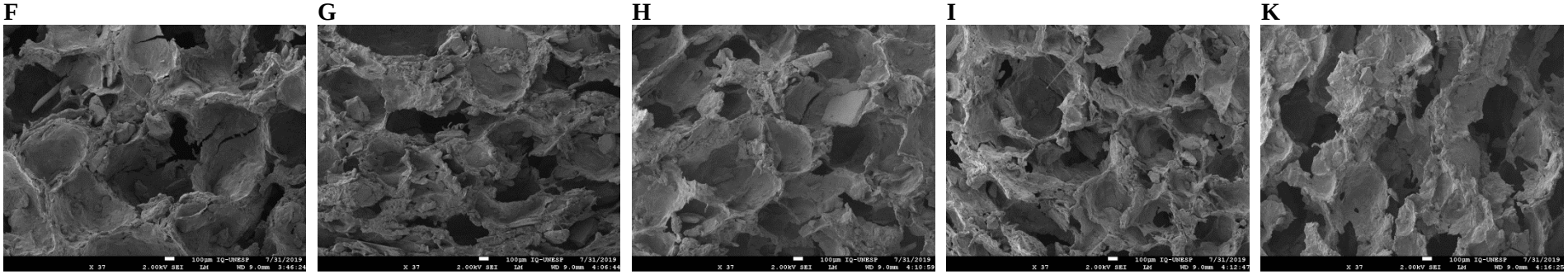


Figura 8. Microscopia Elettronica di Croccantini prodotti con differenti livelli d'inclusione di pastazzo d'arancia ed una matrice con fori di diametro di 5 mm. F, G, H, I e K corrispondono all'area interna, rispettivamente della dieta CO, OP5, OP10, OP15, OP20 5mm Dd (Increase of 37×). CO = dieta controllo; OP5 = dieta con inclusione del 5% di pastazzo d'arancia; OP10 = dieta con inclusione del 10% di pastazzo d'arancia; OP15 = dieta con inclusione del 15% di pastazzo d'arancia; OP20 = dieta con inclusione del 20% di pastazzo d'arancia.

4.2. Parametri del Processo di Estrusione

Nelle tabelle 9.1 e 9.2 sono riportati i risultati relativi ai parametri del processo di estrusione delle 5 diete prodotte con le due matrici con diametro differente.

L'umidità (tabella 9.1) dell'impasto all'interno del tubo estrusore (%) è risultata significativamente più alta (P <0,0001) per le diete D_d 5 mm rispetto alle diete D_d7 mm (D_d5 mm 27,1% *vs* D_d7 mm 24,3%); anche l'interazione D_d x OP è risultata statisticamente significativa (P < 0,0001); l'umidità per entrambe le diete prodotte con differenti D_d è aumentata linearmente con l'inclusione di OP.

L'amperaggio del motore (A) (tabella 9.1) è stato significativamente più alto (P=0.007) per le diete D_d 7 mm (D_d 7 mm 37,3 A *vs* D_d 5 mm 36,7 A), ed è diminuito significativamente (P = 0,0004) con i livelli crescenti d inclusione di OP indipendentemente dal valore D_d.

La pressione dell'impasto prima della fuoriuscita dalla matrice (tabella 9.1) (bar) non ha mostrato differenze statisticamente significative (P=0.1245) tra i vari livelli di inclusione di OP ma è risultato significativamente maggiore (P <0,0001) per le diete D_d 7 mm rispetto alle diete D_d 5 mm. Per questo parametro l'interazione D_d x OP è risultata statisticamente significativa (P = 0,0049), ed è diminuita quadraticamente (P = 0,0118) per le diete D_d 7 mm raggiungendo il valore più alto nel livello di inclusione OP10.

La temperatura dell'impasto prima della fuoriuscita dalla matrice (ºC) (tabella 9.1) è risultata significativamente più alta (P <0,0001) nelle diete con diametro della matrice D_d 7 mm e in relazione ai livelli di inclusione di OP (P<0.0001); l'interazione D_d x OP è risultata statisticamente significativa (P <0,0001), con andamento lineare e quadratico per il valore di D_d 5 mm.

Tabella 9.1. Parametri del processo di estrusione di diete destinate a cani adulti prodotte con differenti inclusioni di pastazzo d'arancia (OP) e due matrici con fori di diametro differente (D_d).

	D_d Diametro dei Fori della Matrice [a] (mm)	OP (%)[c]					Media	SEM[b]	P value			Contrast [e]	
		0	5	10	15	20			D_d	OP [c]	D_d x OP[d]	Lin	Quad
Umidità dell'impasto nel tubo dell'estrusore (%)													
	7	24,6	23,4	23,1	25,1	25,5	24,3	0,16	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0137	0,0023
	5	27,8	24,2	28,7	27,6	27,2	27,1	0,17				0,0385	0,4934
	Media	26,2	23,8	25,9	26,4	26,4							
Amperaggio del Motore(A)													
	7	37,8	37,7	37,6	36,8	36,5	37,3	0,15	0,007	0,0004	0,2826		
	5	36,4	37,2	37,7	36,3	35,8	36,7	0,15					
	Media	37,1	37,5	37,7	36,5	36,1						0,0008	0,0025
Pressione dell'impasto prima della fuoriuscita dalla matrice (bar)													
	7	22,4	22,7	25,2	23,6	23	23,4	0,36	<0,0001	0,1245	0,0049	0,2619	0,0118
	5	18,8	18,9	16,2	18,9	15,5	17,6	0,34				0,0446	0,69
	Media	20,6	20,8	20,7	21,2	19,2							
Temperatura dell'impasto prima della fuoriuscita dalla matrice (ºC)													
	7	135,7	144,3	142	140,8	142	140,9	0,57	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0018	0,0002
	5	135,3	124,3	139,3	136,5	137,5	134,6	0,57				0,0055	0,3207
	Media	135,5	134,3	140,6	138,6	139,8							

[a] D_d = Diametro del foro della matrice.
[b] SEM= errore standard della media (n= 4 ripetizioni per trattamento).
[c] OP = Pastazzo d'Arancia.
[d] D_d x OP = interazione tra pastazzo d'arancia e diametro del foro della matrice.
[e] Effetto lineare e quadratico dell'inclusione di OP

La produzione oraria (kg/h) (tabella 9.2) è stata significativamente più alta (P <0,0001) per le diete D_d 7 mm (D_d 7 mm 219,5 kg/h *vs* D_d 5 mm 170,8 kg/h) ed è risultata più alta (P=0.0064) in funzione del livello di inclusione di OP. L'interazione D_d x OP è risultata statisticamente significativa (P<0,0001) con andamento lineare e quadratico per il valore di D_d 7 mm.

L'area aperta dell'estrusore (Eoa) (mm2/ton/h) (tabella 9.2) è stata significativamente più alta per le diete D_d 7mm (D_d 7 mm 182 mm2/ton/h *vs* D_d 5 mm 115.1 mm2/ton/h), e per queste dimensione dei fori della matrice, è diminuita linearmente e quadraticamente in relazione alle inclusioni di OP (P <0,0001).

Per quanto concerne il bilancio energetico (tabella 9.2), l'utilizzo di SME è stata significativamente più elevato (P <0,0001) per le diete D_d 5 mm rispetto alle diete D_d 7 mm (D_d 5 mm 12,5 kWh/ton *vs* D_d 7 mm 10,1 kWh/ton) ed è diminuito linearmente con le inclusioni di OP (P <0,0001) per entrambe le diete D_d; l'interazione OP x D_d è risultata statisticamente significativa (P = 0,002). Si è verificata una riduzione quadratica (P = 0,0009) sull'applicazione delle SME con l'aumento delle inclusioni di OP, nelle diete prodotte con D_d 7mm con un conseguente minore utilizzo di SME nella produzione della dieta con il livello di inclusione di OP al 20% con foro della matrice D_d 7mm.

L'energia termica specifica (STE), l'energia totale (TSE) e il rapporto SME/STE, nonostante alcune fluttuazioni, sono risultate più alte per le diete

con inclusione di OP ($P < 0.0001$) e per le diete prodotte con D_d 7 mm rispetto alle diete D_d 5 mm (dati non tabellati).

Tabella 9.2. Parametri del processo di estrusione di diete destinate a cani adulti prodotte con differenti inclusioni di pastazzo d'arancia (OP) e due matrici con fori di diametro differente (D_d).

[a]D_d Diametro dei Fori della Matrice (mm)	OP (%)[c]					Media	SEM[b]	P value			Contrast [e]	
	0	5	10	15	20			D_d	OP [c]	D_d x OP[d]	Lin	Quad
Produzione Oraria (kg/h)												
7	204,3	227	218,5	221,8	225,8	219,5	1,16	<0,0001	0,0064	<0,0001	0,001	0,0339
5	174,3	161	174,2	171	173,8	170,8	1,2				0,2171	0,0779
Media	189,3	194	196,4	197,8	199,8							
Area aperta dell'estrusore (mm^2/ton/h)												
7	221,7	169,6	174,7	173,6	170,5	182	0,66	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
5	112,7	122,2	112,7	114,9	113,1	115,1	0,68				0,2103	0,0818
Media	167,2	145,9	143,7	144,2	141,8							
Bilancio energetico (kW-h/ton)												
ENERGIA MECCANICA SPECIFICA (SME)												
7	12,5	9,77	10,4	8,87	8,35	10,1	0,13	<0,0001	<0,0001	0,002	<0,0001	0,0009
5	15,7	13,7	12,8	10,7	9,6	12,5	0,13				<0,0001	0,6002
Media	14,3	11,7	11,6	9,76	8,98							

[a] D_d = Diametro del foro della matrice.
[b] SEM= errore standard della media (n= 4 ripetizioni per trattamento).
[c] OP = Pastazzo d'Arancia.
[d] D_d x OP = interazione tra pastazzo d'arancia e diametro del foro della matrice.
[e] Effetto lineare e quadratico dell'inclusione di OP

4.3. Macrostruttura e Gelatinizzazione dell'Amido delle Diete

Le tabelle 10.1 e 10.2 riportano i risultati relativi alle caratteristiche macrostrutturali dei croccantini prodotti con differenti inclusioni di pastazzo d'arancia (OP) e due matrici con diametro differente (D_d).

Le diete D_d 7 mm hanno presentato una densità apparente (g/L) (tabella 10.1) significativamente più elevata (P <0,0001) dopo l'estrusione e dopo l'essiccazione rispetto alle diete D_d 5 mm. Per le diete D_d 7 mm è stato osservato un contrasto lineare e quadratico (P<0,0001).

Il volume della singola crocchetta (cm^3) (tabella 10.1) è stato significativamente più alto (P = 0.0006) per le diete D_d 5mm (D_d 5mm 40,2 cm^3 *vs* D_d 7mm 36,8 cm^3). In entrambe le matrici (D_d 7 mm e D_d 5 mm) il volume della singola crocchetta è diminuito linearmente con le inclusioni di OP (P <0,0001) e si è verificata una riduzione quadratica sul volume della singola crocchetta con l'aumento delle inclusioni di OP (P <0,0001) per le diete prodotte con fori della matrice D_d 7 mm.

La densità della singola crocchetta (g/cm3) (tabella 10.1) è stata significativamente (P <0,0001) più alta per le diete D_d 7 mm (D_d 7 mm 0,7 g/cm^3 *vs* D_d 5 mm 0,43 g/cm^3). Per le diete D_d 5 mm la densità della singola crocchetta è aumentata in modo lineare e quadratico con le inclusioni di OP (P <0,0001).

L'espansione longitudinale (lunghezza specifica) (cm/ g) (tabella 10.1) è aumentata linearmente con l'aggiunta di OP alle diete (P <0,0001), facendo registrare i valori più alti nelle diete con fori della matrice D_d 5 mm (D_d 5 mm 4,13 cm/g *vs*

D_d 7 mm 2,14 cm/g). L'interazione D_d x OP è risultata statisticamente significativa (P<0.0001) con riduzione lineare e quadratica per le diete D_d 7 mm e un aumento lineare per le diete D_d 5mm.

L'inclusione di OP ha ridotto linearmente l'espansione radiale delle crocchette rispetto alla dieta controllo (P<0,0001) in entrambe le produzioni con D_d differenti. La dieta prodotta con D_d 5 mm ha aumentato significativamente (P<0,0001) l'espansione radiale della crocchetta prodotta con fori della matrice D_d 7 mm.

L'inclusione di OP ha comportato un aumento significativo della resistenza al taglio (N) (P <0,0001) rispetto alla dieta CO, ed è stata influenzata anche dal D_d, risultando significativamente più elevata (P <0,0001) per le diete D_d 7 mm rispetto alle diete D_d 5 mm (D_d 7 mm 51.5 N *vs* D_d 5 mm 26.8 N); per le diete D_d 7 mm è stato verificato un aumento lineare e quadratico della resistenza al taglio (P <0,0001) mentre per le diete D_d 5 mm è stato lineare (P<0,0001).

Il grado di gelatinizzazione dell'amido (%) ha fatto registrare valori significativamente più bassi (P<0,0001) nelle diete prodotte con fori della matrice D_d 7 mm rispetto a quelle di 5 mm (D_d 7 mm 84,9 % *vs* D_d 5 mm 93,3 %). Le diete con inclusione di OP hanno fatto registrare valori significativamente più bassi (P=0003) rispetto alla dieta controllo. Non è stata verificata alcuna interazione tra D_d e OP per il grado di gelatinizzazione dell'amido.

Le immagini dell'osservazione in microscopia elettronica della struttura interna delle celle dei croccantini prodotti con i differenti livelli di inclusione di pastazzo

d’arancia e con fori della matrice di diametro D_d 7 mm e 5 mm sono riportate nelle figure 7 e 8, rispettivamente. La valutazione qualitativa delle immagini ha confermato i risultati delle caratteristiche macrostrutturali dei croccantini sino a qui discussi. Infatti, è stato evidenziato un andamento della percentuale occupata dalle celle aperte e quindi dell’espanzione radiale inversamente proporzionale all'inclusione di OP e al diametro dei fori della matrice.

Tabella 10.1. Caratteristiche macrostrutturali dei croccantini destinati a cani adulti e prodotti con differenti inclusioni di pastazzo d'arancia (OP) e due matrici con fori di diametro differente (D_d.)

	OP (%)[c]					Media	SEM[b]	P value			Contrast [e]	
D_d (mm) [a]	0	5	10	15	20			D_d	OP [c]	D_d x OP[d]	Lin	Quad
Densità apparente dopo l'estrusione (g/L)												
(mm)	471	506,8	537	529,8	527,3	514,4	1,63	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
5	331,8	346	324,5	342,3	342,3	337,4	1,69				0,1898	0,4779
Media	401,4	426,4	430,8	436	434,8							
Densità apparente dopo l'asciugatura (g/L)												
7	414,5	498	516,8	495,8	472,5	479,5	2,89	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
5	304	316,7	320,3	322,5	309,3	314,5	2,98				0,5151	0,0862
Media	359,3	407,3	418,5	409,1	390,9							
Volume del croccantino (cm3)												
7	49,3	39,7	31,1	31,6	34,8	36,8	0,53	0,0006	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
5	43,1	41,1	40,4	38,9	37,4	40,2	0,55				0,0237	0,9451
Media	46,2	40,4	35,8	35,3	35,9							
Densità del croccantino (g/cm3)												
7	0,43	0,64	0,84	0,82	0,78	0,7	0,006	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
5	0,40	0,43	0,43	0,44	0,46	0,43	0,006				0,0583	0,6623
Media	0,42	0,54	0,64	0,66	0,62							
Lunghezza specifica del croccantino (cm/ g)												
7	2,31	2,16	1,98	2,08	2,18	2,14	0,02	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0008	<0,0001
5	3,75	3,75	4,13	4,39	4,64	4,13	0,02				<0,0001	0,0538
Media	3,03	2,96	3,06	3,24	3,41							

[a] D_d = Diametro del foro della matrice.
[b] SEM= errore standard della media (n= 4 ripetizioni per trattamento).
[c] OP = Pastazzo d'Arancia.
[d] D_d x OP = interazione tra pastazzo d'arancia e diametro del foro della matrice.
[e] Effetto lineare e quadratico dell'inclusione di OP

Tabella 10.2. Caratteristiche macrostrutturali dei croccantini destinati a cani adulti e prodotti con differenti inclusioni di pastazzo d'arancia (OP) e due matrici con fori di diametro differente (Dd).

D_d (mm)[a]	OP (%)[c]					Media	SEM[b]	P value			Contrast [e]	
	0	5	10	15	20			D_d	OP [c]	D_d x OP[d]	Lin	Quad
Espansione Radiale												
7	10,7	7,56	6,31	6,1	6,16	7,37	0,13	<0,0001	<0,0001	0,0033	<0,0001	<0,0001
5	13,9	12,7	11,8	10,5	9,8	11,7	0,14				<0,0001	0,6702
Media	12,3	10,1	9	8,3	8							
Resistenza al taglio (N)												
7	21,9	29	72,2	74,6	59,7	51,5	0,81	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
5	21,3	26,9	26,4	30,1	29,2	26,8	0,81				<0,0001	<0,0001
Media	21,6	28	49,3	52,4	44,5							
Gelatinizzazione dell'Amido (%)												
7	90	89,9	80,8	81,4	82,5	84,9	0,71	<0,0001	0,0008	0,0915	0,0024	0,1305
5	95,5	94,8	92,9	94	89,6	93,3	0,82				0,0001	0,1089
Media	92,7	92,3	86,8	87,7	86,1							

[a] D_d = Diametro del foro della matrice.
[b] SEM= errore standard della media (n= 4 ripetizioni per trattamento).
[c] OP = Pastazzo d'Arancia.
[d] D_d x OP = interazione tra pastazzo d'arancia e diametro del foro della matrice.
[e] Effetto lineare e quadratico dell'inclusione di OP

5. DISCUSSIONE

In questo studio sono stati valutati gli effetti di diversi livelli d'inclusione di pastazzo d'arancia (OP) e l'utilizzo di due diametri (D_d) dei fori della matrice di un estrusore (D_d da 7 mm e da 5 mm) sui parametri di produzione, sulla macrostruttura e sulla gelatinizzazione dell'amido di diete destinate a cani adulti.

Le variabili considerate nello studio hanno influenzato praticamente tutti i parametri di produzione, eccezion fatta per il valore della pressione esercitata dall'impasto prima della sua fuoriuscita dalla matrice dell'estrusore. Sebbene le condizioni di lavorazione siano state mantenute costanti durante la produzione delle dieci diete, sono state messe in evidenza alcune fluttuazioni della temperatura e dell'umidità della miscela in uscita dal precondizionatore, con valori più alti per le diete prodotte con integrazione di OP. Questi risultati potrebbero sembrare inaspettati poiché ci sarebbe dovuto essere un ridotto assorbimento del vapore da parte dell'impasto, dopo l'inclusione del sottoprodotto; infatti la natura fibrosa del pastazzo d'arancia avrebbe dovuto favorire il passaggio del vapore, riducendone la sua condensa all'interno dell'impasto [Robin et al., 2012; Tran et al., 2008]. In realtà la risposta può essere ricercata nella natura stessa del pastazzo d'arancia, caratterizzata dalla presenza di polisaccaridi solubili in acqua, in primis le pectine, che a seguito dell'estrusione, risultano più solubili. In particolare, uno studio condotto su biscotti estrusi integrati con pastazzo d'arancia [Larrea et al., 2005] ha dimostrato un aumento dell'indice di assorbimento dell'acqua e dell'indice di solubilità dell'acqua. Questo potrebbe spiegare la più alta solubilizzazione della

componente fibrosa, soprattutto le pectine, i cui legami sarebbero disaggregati, con una maggiore possibilità di collegamenti tra loro, attraverso ponti di calcio, aumentando così il numero di spazi intermolecolari disponibili per la ritenzione idrica. Inoltre, i risultati di uno studio effettuato su bucce di agrumi [Redgwell et al., 2011] hanno indicato che modificando le condizioni di estrusione è possibile variare le proprietà fisico-chimiche della fibra contenuta nelle diete, aumentandone la capacità di ritenzione idrica. Nello studio le fibre estruse a bassa SME, come quelle che caratterizzano le diete con inclusione di OP, possedevano viscosità più elevate rispetto a quelle estruse con alta SME [Larrea et al., 2005; Ralet et al, 1994]. Questo risultato, unitamente all'alto livello di gelatinizzazione dell'amido, soprattutto nelle diete sperimentali prodotte con D_d 5 mm, avvalora i nostri risultati facendo pensare che l'OP abbia assunto un comportamento assimilabile a quello d'ingredienti ad alto contenuto in amido; quanto detto sembra essere confermato dall'aumento della resistenza del passaggio della miscela all'interno dell'estrusore, alla luce della maggiore viscosità dell'impasto.

La temperatura e la pressione dell'impasto prima della fuoriuscita dalla matrice dell'estrusore delle diete prodotte con un D_d 7 mm sono risultati maggiori rispetto a quelli registrati per le diete prodotte con un foro d'uscita di 5 mm. Non è chiaro perché la temperatura dell'estruso sia aumentata con l'aumento del diametro dei fori della matrice, perché generalmente si verificano questi tipi di fenomeni quando vi è una limitazione del flusso dovuta ad un diametro inferiore; tuttavia questi risultati concordano con quelli presentati anche da altri autori [Iwe et al.,

2001; Fletcher et al., 1984a; Fletcher et al., 1984b]. Tra le diete prodotte con fori della matrice di minor diametro (D_d 5 mm) è stato osservato come la pressione fosse lievemente più elevata per la dieta controllo e per quelle con livelli minori d'inclusione di OP; quanto detto potrebbe essere riconducibile ad una maggiore generazione di viscosità, che a sua volta ha portato a un aumento della resistenza al flusso e al taglio dell'impasto [Riaz, 2000]. La viscosità aumenta quando i quantitativi di amido idratato sono più alti [Tran et al., 2008] com'è evidente nelle diete con minore livello di inclusione di OP e, quindi, con quantitativi maggiori di mais, probabilmente proprio a causa dell'aumento dell'efficienza dell'idratazione dei granuli di amido stesso [Moscicki, 2011]. Il flusso dell'impasto all'interno del tubo dell'estrusore è variato non solo in base alle caratteristiche delle formulazioni, ma anche in funzione del diametro dei fori della matrice. Infatti, con un diametro dei fori della matrice dell'estrusore maggiore (D_d 7 mm) la resistenza al flusso dell'impasto è stato minore, in accordo con Gonçalves [2016].

Per quanto concerne la produzione oraria, questa è stata influenzata significativamente dal diametro dei fori della matrice, con un valore medio di 219,5 kg/h prodotti nelle diete estruse con una matrice da 7 mm, a confronto dei 170,8 kg/h prodotti con una matrice da 5 mm. Questo risultato è in accordo con Harper [1981] e Sokhey et al. [1997] i quali hanno osservato come l'aumento del diametro dei fori della matrice sia direttamente proporzionale alla produzione oraria.

L'energia meccanica specifica (SME) è un parametro quantitativo che fornisce buone informazioni sul processo di estrusione poiché la quantità di energia meccanica utilizzata sull'impasto da estrudere determina l'entità delle trasformazioni e interazioni macromolecolari che avvengono, ovvero la conversione dell'amido e, di conseguenza, le proprietà reologiche del prodotto finito [Moraru & Kokini, 2003; Carvalho et al., 2010]. Osservando il bilancio energetico delle diete sperimentali prodotte è possibile evidenziare che l'applicazione della SME è stata inversamente proporzionale al livello d'inclusione di OP e al diametro dei fori della matrice dell'estrusore (D_d 5 mm). In accordo con Gonçalves [2016] la SME è risultata inversamente proporzionale all'area aperta di estrusione (Eoa) generata. Anche l'aumento dell'umidità dei mangimi prodotti con inclusioni maggiori di OP potrebbe essere correlato alla riduzione della SME [Larrea et al., 2005]; quanto detto trova una spiegazione nell'attività lubrificante svolta dall'acqua che ha portato anche a una riduzione dell'attrito rotante delle viti e, quindi, del dispendio energetico elettrico. La quantità di energia meccanica fornita al materiale estruso ha un ruolo importante nella conversione dell'amido. Una SME più elevata di solito comporta un grado maggiore di gelatinizzazione dell'amido e di espansione degli estrusi. Altan et al. [2009] ha dimostrato che la SME diminuisce con l'aumentare della temperatura, e quindi dell'energia termica specifica (STE), e che dipende dal tipo di materia prima utilizzata e dalla configurazione delle viti. Gli effetti lubrificanti dell'acqua riducono l'utilizzo della SME. Nel nostro esperimento è stato messo in evidenza che con il diminuire della SME vi è stato un lieve

aumento della STE con conseguente aumento della TSE dopo l'inclusione del pastazzo di agrumi, effetto che è stato osservato in entrambe le produzioni indipendentemente dal diametro dei fori impiegati. L'aumento del rapporto STE/SME si è verificato perché l'energia meccanica è diminuita e la STE è aumentata. La relazione inversa tra STE e l'implementazione delle SME è ben nota [Riaz, 2000] ed è associata a una riduzione rilevante dei costi di produzione a causa di una riduzione del consumo di energia elettrica e di una riduzione dell'usura delle apparecchiature [Streit, 2015; Pacheco et al., 2018]. Nel nostro studio l'utilizzo di energia elettrica è diminuito dopo l'aggiunta di OP in entrambe le produzioni con diverso diametro dei fori della matrice. I possibili fattori che hanno influenzato la riduzione delle SME e della pressione esercitata dall'impasto prima della sua fuoriuscita dalla matrice sono stati il diametro della matrice stessa (e conseguentemente l'area aperta che è risultata maggiore), l'umidità dell'impasto nell'estrusore e un più alto input di STE (quindi una temperatura superiore prima dell'uscita dell'impasto dall'estrusore); tutti questi parametri appaiono critici per la comprensione e il confronto delle condizioni di estrusione, in accordo con Gonçalves [2016], Riaz, 2000, Suknark et al. [1998] e Pansawat et al. [2008]. Monti et al., [2016] evidenziano che la maggior parte degli studi pubblicati sull'impatto dell'applicazione della SME, sono stati condotti per snack estrusi o cereali destinati agli esseri umani. Da questi lavori si evince come la SME sia più rilevante per l'estrusione di cereali per la colazione e le formulazioni a base di amido rispetto alle ricette di alimenti per animali domestici, dove, invece, l'energia termica

assume maggiore rilevanza a causa dell'alto contenuto di proteine, grassi e fibre [Monti et al., 2016]. Un effetto noto della temperatura dell'impasto sulle trasformazioni del prodotto è il potenziamento nella rottura dei granuli di amido proprio mediante il processo di gelatinizzazione. Alcuni autori hanno riferito che la SME aumenta con l'aumento del contenuto di amido, o in presenza di alcune fonti fibrose come il pastazzo d'arancia, e con la riduzione del diametro dei fori della matrice negli estrusori a doppia vite [Meuser & Van Lengerich, 1984, Meuser et al., 1987, Meuser & Wiedmann, 1989 e Larrea et al., 2005]. Negli estrusori mono vite è stato osservato che con la riduzione del diametro della matrice la SME aumenta [Van Zuilichem et al., 1983] o può rimanere costante [Bhattacharya & Hanna, 1987] quando la velocità della vite diminuisce. I nostri risultati sono in linea con quelli osservati nelle estrusioni effettuate con estrusori a doppia vite.

Il più alto grado di gelatinizzazione nella dieta controllo prodotta con i due diametri dei fori della matrice dell'estrusore è coerente con le SME più elevate osservate per la produzione di queste diete, rispetto ai trattamenti con vari livelli di inclusione di OP. Nell'estrusione la trasformazione dell'amido è ottenuta sia attraverso l'applicazione di energia meccanica che di energia termica e, un aumento di entrambi, dovrebbe favorire una maggiore perdita della struttura granulare.

Analogamente a quanto osservato per i parametri di estrusione, i differenti diametri dei fori delle matrici dell'estrusore e i differenti livelli di inclusione di pastazzo d'arancia hanno influenzato tutti i parametri microstrutturali delle diete prodotte.

Sono state messe in evidenza differenze importanti sull'espansione delle crocchette, con valori più elevati per le diete con livelli di inclusione più bassi di OP e per le diete prodotte con i fori più piccoli della matrice. Confrontando le diete D_d 7 mm e le diete D_d 5 mm, queste ultime hanno presentato i valori medi più alti del tasso di espansione e della gelatinizzazione dell'amido. È probabile che l'aumento dell'espansione delle crocchette possa essere attribuito alla maggiore gelatinizzazione dell'amido osservata nelle diete D_d 5 mm; correlando questo risultato alla maggiore gelatinizzazione dell'amido è chiaro che l'impasto maggiormente gelatinizzato sia stato soggetto a una più facile deformazione durante l'estrusione, e che la vaporizzazione dell'acqua all'uscita dalla matrice dell'estrusore abbia creato una struttura cellulare interna con aree vuote più grandi e quindi meno compatte [Guy, 2001]. La maggiore espansione delle crocchette potrebbe essere correlata al processo di gelatinizzazione dell'amido e alla pressione dell'impasto all'interno del tubo estrusore prima della sua fuoriuscita. Questo è un aspetto di grande rilevanza per l'industria mangimistica degli animali da compagnia, che ha come obiettivo la produzione di crocchette ben formate, con specifiche caratteristiche macro e microstrutturali. Probabilmente l'alta capacità termica degli ingredienti fibrosi utilizzati, accoppiata alla capacità di legare l'acqua, potrebbe spiegare il più basso grado di gelatinizzazione e il più basso grado di espansione delle diete integrate con OP rispetto alla dieta controllo [Hill, 2003; Nelson, 2001].

L'alta densità degli estrusi e lo spostamento verso l'espansione longitudinale anziché radiale sono stati osservate soprattutto per diete prodotte con matrice D_d 7

mm. Le immagini di microscopia elettronica delle diete prodotte, sebbene siano state valutate solo qualitativamente, hanno chiaramente messo in evidenza una maggior compattezza e densità interna delle diete prodotte con D_d maggiore, con effetto quantitativo sulla densità cellulare (e quindi sulla nucleazione) e sul volume del singolo croccantino. Quindi possiamo affermare che a parità di condizioni di processo e formulazioni, la maggiore nucleazione sia stata indotta riducendo il diametro dei fori della matrice, e quindi come un numero maggiore di bolle in crescita possa modulare le proprietà di espansione.

Questi cambiamenti strutturali potrebbero essere responsabili della maggiore durezza delle stesse crocchette (resistenza al taglio). Negli estrusi, gli ingredienti ad alto contenuto in fibra, come il pastazzo d'arancia, sono altamente strutturati e poco espandibili, con capacità di assorbimento d'acqua variabile; tutto ciò può influenzare la viscosità, il flusso dell'impasto all'interno del tubo estrusore e la disposizione ed espansione delle celle all'interno del prodotto finito [Karkle et al., 2012]. A causa di ciò, l'espansione delle crocchette e la trama interna, alterate rispetto alla dieta controllo, sono importanti caratteristiche che influenzano fortemente la durezza [Karkle et al., 2012], cambiando così le caratteristiche sensoriali degli alimenti [Koppel et al., 2015]. Nel nostro esperimento la resistenza al taglio è stata influenzata sia dal diametro dei fori della matrice che dall'inclusione di pastazzo d'arancia. L'aumento della resistenza al taglio potrebbe essere una conseguenza della natura delle pareti cellulari più o meno resistenti alla deformazione [Karkle, 2011], dal momento che, anche grazie alla microscopia elettronica, si è

evidenziata per le diete prodotte con fori della matrice di 5 mm di diametro, una struttura interna caratterizzata da grandi celle con pareti cellulari apparentemente più sottili. L'inclusione del pastazzo d'arancia ha causato un aumento significativo della resistenza al taglio rispetto alla dieta controllo probabilmente per una significativa riduzione dell'espansione e della trama interna delle crocchette [Karkle et al., 2012]. Grazie alle caratteristiche strutturali della fibra, questi ingredienti possono condurre il vapore acqueo fuori dalle crocchette, riducendo l'effetto flash off sulla formazione delle celle [Lue et al., 1991; Robin et al., 2012], influenzando direttamente l'espansione. La fratturabilità e la croccantezza sono attributi fisici che potrebbero influire sull'accettabilità delle crocchette da parte dei cani, anche se ci sono pochissimi studi sull'influenza di questi attributi fisici sulla palatabilità. Sembra comunque molto probabile che queste alterazioni fisiche cambino la cinetica o la sensazione di masticazione, alterando l'accettabilità del cibo da parte del cane. Comunque, a oggi, l'interferenza esercitata dall'inclusione d'ingredienti fibrosi sulla sensazione di masticazione e accettabilità del cibo, è ben descritta solo su estrusi destinati a esseri umani [Karkle et al., 2012, Martin et al., 2013].

La riduzione dell'espansione delle crocchette è stata direttamente proporzionale alla riduzione osservata della SME e all'inclusione di OP. La spiegazione può essere sempre ricercata nei livelli di gelatinizzazione dell'amido, poiché la frazione di amido funziona come un polimero termoplastico durante l'estrusione. Quando acqua, energia e tempo sono sufficienti nella lavorazione, il granello di amido perde la sua cristallinità, si gonfia e si rompe, formando una massa amorfa

che lega tutti i componenti alimentari formando una struttura continua [Ding et al., 2005].

La densità apparente misura il volume totale degli estrusi, indicando l'estensione dell'espansione. La densità è quindi una misura del grado di espansione che si verifica a causa dell'estrusione. Il prodotto ad alta densità è un'indicazione di matrice proteica più uniforme e continua e, pertanto, l'estruso risulta denso, senza sacche d'aria e poco poroso. Nel nostro studio la densità dopo l'estrusione, nonostante alcune fluttuazioni, è stata maggiore dopo l'inclusione di pastazzo d'arancia in entrambe le produzioni con fori della matrice di diametro differenti, in accordo con quanto osservato da alcuni Autori in relazione alla maggiore densità con l'aggiunta d'ingredienti a base di fibre nella miscela per il prodotto estruso [Monti et al., 2016; Chinnaswamy & Hanna, 1991]. L'aumento della densità è spiegato da una riduzione della porosità del campione [Robin et al., 2011]; tuttavia è interessante notare che nel nostro studio la densità dopo l'essiccazione è stata più elevata per le diete contenenti OP e prodotte con fori della matrice di 7 mm, ma non per quelle prodotte con fori della matrice di 5 mm. Quanto detto, dimostra che il diametro dei fori della matrice può avere un effetto su questo parametro. In questo studio è stato osservato che riducendo il diametro dei fori della matrice, l'espansione radiale è aumentata e la densità è diminuita, quindi è chiaro che il diametro dei fori della matrice, così come i livelli d'inclusione di pastazzo d'arancia, abbiano influenzato questi parametri. I fori della matrice dell'estrusore deter-

minano le dimensioni dei semilavorati, ma i punti importanti da prendere in considerazione sono i processi reologici e termodinamici svolti dalla matrice, dal momento che questa promuove uno stiramento dell'impasto e la sua improvvisa espansione dovuta alla differenza di pressione al momento della fuoriuscita dallo stampo (pressione atmosferica), con effetti decisivi sulla qualità dei semilavorati estrusi [Sokhey et al., 1997; Panmanabhan & Bhattacharyya, 1989]. Dai nostri risultati possiamo affermare che una matrice con fori di piccolo diametro dovrebbe essere usata per una maggiore espansione radiale, in accordo con Sokhey et al. [1997]. Quindi, risulta chiaro come la scelta della matrice, necessaria per fornire un flusso uniforme e dimensioni corrette del prodotto finale, richieda molta esperienza [Harper, 1981]. Indipendentemente dai livelli d'inclusione del pastazzo d'arancia, la riduzione del diametro della matrice ha causato un aumento del numero e delle dimensioni delle celle. Questo si è tradotto in un aumento significativo del volume del singolo croccantino, che è risultato nettamente maggiore per le diete prodotte con fori della matrice di 5 mm. Allo stesso tempo è da tenere in considerazione l'effetto del pastazzo d'arancia, poiché il volume dei singoli croccantini, prodotti con entrambi gli stampi, è risultato inversamente proporzionale all'inclusione del sottoprodotto utilizzato, diminuendo in maniera lineare con la percentuale di inclusione. Quanto detto conferma ancora una volta l'ipotesi che il pastazzo d'arancia abbia limitato la formazione di croccantini ben espansi, con densità maggiore e volume ridotto. Alvarez-Martinez et al. [1988] e Harper & Tribelhorn [1992] hanno studiato l'espansione degli estrusi a base di

mais e hanno scoperto che la geometria dei fori della matrice influenza significativamente gli indici di espansione longitudinale e sezionale. Secondo precedenti osservazioni sembra che non solo l'espansione radiale, ma anche la lunghezza specifica del singolo croccantino sia fortemente influenzata dal design dei fori della matrice (diametro e lunghezza) oltre che dalle proprietà intrinseche dell'impasto, quali la viscosità [Bouzaza et al., 1996]. A conferma di questi risultati, nel nostro studio la riduzione del diametro della matrice ha avuto un impatto significativo sulla lunghezza specifica dell'estruso. È interessante notare come il tasso di espansione radiale sia diminuito linearmente con l'inclusione del pastazzo d'arancia, e questa tendenza può essere spiegata dalla maggiore inclusione del mais nella dieta controllo. Tuttavia, per quanto riguarda la lunghezza specifica la tendenza è stata diversa, dal momento che per le diete D_d 7 mm è risultata fluttuante, ma comunque inferiore per la dieta OP20 rispetto a quella di controllo, mentre nelle diete prodotte con D_d 5 mm è stato osservato un aumento lineare con livelli di inclusione crescenti di pastazzo d'arancia; quanto detto è risultato in accordo con alcuni autori che hanno riportato come questo avvenga negli estrusi ad alto contenuto di fibre [Jin et al., 1994; Lue et al., 1991]. La riduzione dell'espansione radiale e l'aumento della lunghezza specifica del singolo croccantino potrebbe trovare spiegazione nella presenza di macromolecole di amilopectina [Bouzaza et al., 1996]. La ramificazione e gli intrecci di molecole di amilopectina consentono all'impasto di immagazzinare energia all'interno della rete di amido quando scorre attraverso la matrice. Questa energia viene, quindi rilasciata nella

direzione radiale, in seguito all'uscita dell’impasto dalla matrice. Poiché parte della fonte di amido (mais) è stata sostituita con il pastazzo d’arancia, l'estensibilità dell’impasto nella direzione radiale è stata ridotta. I componenti insolubili della fibra (cellulosa, lignina e alcune emicellulose) probabilmente si sono allineati longitudinalmente ostacolando l'espansione radiale. Queste componenti, inoltre tenderebbero anche a ridurre le proprietà elastiche dell'amido, portando a un minore rigonfiamento dell’impasto [Karkle et al., 2012]. I risultati sulla lunghezza specifica e sull’espansione radiale ottenuti in questo studio confermano questa ipotesi.

6. CONCLUSIONI

L’interpretazione dei dati ottenuti in questo studio necessita di alcune considerazioni. Tutti i parametri di estrusione sono risultati fortemente dipendenti dal tipo di attrezzature utilizzate e dalle impostazioni dell’hardware e del software. La formula utilizzata per la produzione delle diete ha previsto l’utilizzo di solo due ingredienti, mais e farina di visceri di pollo, quindi l’utilizzo di formule più elaborate potrebbe dare risultati molto differenti, dal momento che la composizione chimica delle formulazioni ha importanti implicazioni sul trasferimento di energia all’impasto e sulla sua capacità di procedere all’interno dell’estrusore. In questo studio, la fonte di amido utilizzata è stata il mais, e va sottolineato che l’amido proveniente da altri cereali, così come dai legumi e dai tuberi, potrebbe mostrare comportamenti differenti durante l’estrusione.

Un’altra considerazione da fare riguarda la fibra alimentare. Ad oggi, l’analisi per la caratterizzazione delle frazioni fibrose del sottoprodotto utilizzato è *in fieri*, quindi non siamo ancora in grado di quantificare l’esatto quantitativo di fibre solubili e insolubili presenti nelle diete prodotte. A tal proposito, è importante sottolineare che l'effetto della fibra sulla macrostruttura dei prodotti estrusi dipende principalmente dalle loro interazioni con l'amido e quindi dalla qualità e dalla quantità di fibre. La fibra insolubile riduce significativamente i volumi di espansione e aumenta la densità dei prodotti estrusi, conseguentemente più duri. Al contrario, la fibra solubile porta a volumi di espansione migliori, riducendo al contempo la densità apparente dei prodotti estrusi rispetto ai componenti in fibra

insolubile. La differenza nei volumi di espansione tra fibra solubile e insolubile può essere spiegata dalla loro capacità d'assorbimento dell'acqua e dalle conseguenti proprietà visco-elastiche dell'impasto all'uscita dalla matrice.

Dai risultati sin qui ottenuti possiamo affermare che un ingrediente con alta componente fibrosa, come ad esempio il pastazzo d'arancia, può alterare la macrostruttura dei croccantini, che può, quindi, risultare meno espansa radialmente e maggiormente espansa longitudinalmente, molto densa e con minor volume. La maggior espansione longitudinale ottenuta con l'aggiunta di pastazzo d'arancia, è stata associata alla struttura interna costituita da un numero maggiore di piccole celle che a sua volta potrebbe essere spiegata dalla presenza di particelle nel pastazzo di arancia, incapaci di trattenere l'acqua, con conseguente riduzione del grado di nucleazione e riduzione della gelatinizzazione dell'amido.

I cambiamenti dei parametri che controllano l'espansione potrebbero essere principalmente attribuiti alle differenti proprietà reologiche delle materie prime e alla loro inferiore capacità di interagire e alla bassa compatibilità fisico-chimica. La macrostruttura delle diete sperimentali è stata influenzata dal diametro dei fori della matrice e dall'inclusione del pastazzo di arancia. Il diametro dei fori della matrice ha influenzato l'espansione radiale dell'estruso. Infatti, l'utilizzo della matrice con fori di diametro più grande unitamente all'inclusione più elevata di pastazzo d'arancia hanno modificato significativamente le proprietà dell'estruso. Nello specifico, l'aumento della densità apparente e della resistenza al taglio delle

crocchette ha determinato un grado di croccantezza e durezza superiore che potrebbe influire negativamente sull'accettabilità del prodotto da parte dei cani. Allo stesso tempo l'utilizzo dei diametri inferiori dei fori della matrice dell'estrusore ha mitigato questi effetti, rendendo, quindi, possibile l'utilizzo di queste fonti fibrose alternative come il pastazzo di arancia.

Dal punto di vista tecnologico, i risultati dimostrano che l'inclusione di pastazzo d'arancia unitamente all'utilizzo della matrice con fori di diametro più grande ha ridotto il dispendio energetico; quanto detto potrebbe dipendere più dalle proprietà intrinseche del pastazzo d'arancia che dalla componente fibrosa. Anche la pressione e la temperatura dell'impasto prima dell'uscita dalla matrice dell'estrusore sono aumentate con l'aumentare del diametro dei fori della matrice.

Ulteriori studi futuri volti alla caratterizzazione delle proprietà di assorbimento/ritenzione idrica delle fibre del pastazzo di arancia, potrebbero far meglio comprendere il possibile impiego di questi sottoprodotti come componenti non calorici della razione e potrebbero fornire maggiori informazioni sull'influenza del pastazzo di arancia sull'appetibilità dei mangimi nonché sul grado di accettazione da parte dei cani.

Nell'ottica di ricerca scientifica applicata all'ecosostenibilità, lo studio ha messo in evidenza il possibile utilizzo del pastazzo d'arancia quale fonte di fibra non convenzionale nella produzione di mangimi destinati ai cani, aumentando così il valore di mercato di questi sottoprodotti.

In virtù delle rigide norme che regolano lo smaltimento dei sottoprodotti dell'industria agrumaria, i relativi costi e la necessità dell'industria di ottimizzare i processi, e al fine di valorizzare le risorse locali e i sottoprodotti dell'agricoltura, il pastazzo di arancia, per il suo elevato valore nutritivo, rappresenta una risorsa strategica in alimentazione animale in un modello di filiera sostenibile e costituisce una risorsa economicamente vantaggiosa, non solo per l'industria del pet food ma anche per l'ambiente.

Oggi, quando si pensa a un'alimentazione di precisione per gli animali da compagnia, è sempre più elevato l'interesse nei confronti di alimenti/materie prime che rispondano alla regola delle 4R ovvero: Ridurre, Riutilizzare, Rivalorizzare e Ricerca, la cosiddetta "green economy". Ridurre la competizione fra alimenti destinati all'uomo e quelli destinati agli animali attraverso l'utilizzo di nuove fonti energetiche e proteiche; Riutilizzare gli "sprechi" alimentari; Rivalorizzare i coprodotti agroalimentari e industriali in alimenti funzionali; Ricerca volta a determinare le caratteristiche degli alimenti per poterli utilizzare in modo efficiente.

In quest'ottica tutte le componenti potenzialmente bioattive del pastazzo di arancia, in questo caso appunto la componente fibrosa, possono essere prese in considerazione per il contributo nell'aumento del benessere animale e miglioramento delle performances, il tutto collegato a un'economia circolare e più sostenibile. In questa logica, contro ogni spreco, ciò che una volta era considerato "scarto" oggi diventa "risorsa alimentare".

7 . BIBLIOGRAFIA

- ABINPET, 2018. (Associação Brasileira de Indústria de Produtos para Animais de Estimação). Setor de Pet Food (alimentos para animais de companhia).
- Alexandrino, A.M.; Faria, H.G.; Souza, C.G.M.; Peralta, R.M. (2007). Aproveitamento do resíduo de laranja para a produção de enzimas lignocelulolíticas por Pleurotus ostreatus (Jack: Fr). Ciência e Tecnologia de Alimentos, 27 (2), p. 364-368.
- Alles, G. (2003). Particle reduction technology. In: Kvamme, J.L.; Phillips, T.D. (Eds.). Petfood technology. Illinois: Mt. Morris, p. 327-335.
- Alonso, R.; Aguirre, A.; Marzo, F. (2000). Effects of extrusion and traditional processing methods on anti-nutrients and in-vitro digestibility of protein and starch in faba and kidney beans. Food Chemistry, 68 (2), p. 159-165.
- Altan, A.; McCarthy, K.L.; Maskan, M. (2009). Effect of screw configuration and raw material on some properties of barley extrudates. Journal of Food Engineering, 92 (4), p. 377–382.
- Alvarez-Martinez, L; Kondury, K.P.; Harper, J.M. (1988). A general model for expansion of extruded products. Journal of Food Science, 53 (2), p. 609-15.
- Al-Wesali, M.; Lambert, N.; Welham, T.; Domoney, C. (1995). The influence of pea seed trypsin inhibitors on the in vitro digestibility of casein. Science of food and agricolture, 68 (4), p. 431-437.
- Ammerman, C.B.; Henry, P.R. (1991). Citrus and vegetable products for ruminant animals. In: Proceedings of the Alternative Feeds for Dairy and Beef Cattle Symposium, St. Louis, MO, USA, p. 103–110.

- Andrews, J.W.; Davies, J.M. (1979). Surface coating of fish foods with animal fat and ascorbic acid. Feedstuffs, 51 (3), p. 33.
- ANPA – ONR (2001). Studio di settore relativo ai rifiuti del comparto agroalimentare. Rapporti 11/2001, Unità normativa tecnica, Osservatorio Nazionale sui Rifiuti, Roma.
- AOAC (1995). Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Askar, A. (1986). Faba beans (Vicia faba L.) and their role in the human diet. Food and Nutrition Bulletin, Tokyo, 8 (3), p.15-24.
- Atarés, L.; Chiralt, A.; González-Martínez, C. (2009). Effect of the impregnated solute on air drying and rehydration of apple slices. Journal of Food Engineering, 91 (2), p. 305-310.
- Athar, N.; Hardacre, A.; Taylor, G.; Clark, S.; Harding, R.; McLaughlin, J. (2006). Vitamin retention in extruded food products. Journal of Food Composition and Analysis, 19 (4), p. 379-383.
- Bampidis, V.A.; Robinson, P.H. (2006). Citrus by-products as ruminant feeds: a review. Animal Feed Science and Technology, 128 (3-4), p. 175–217.
- Barca, A.M.C.; Vázquez-Moreno, L.; Robles-Burgueño, M.R. (1991). Active soybean lectin in foods: isolation and quantification. Food Chemistry, Barking, 39 (3), p. 321-327.
- Bazolli, R.S. (2007). Influência do grau de moagem de ingredientes amiláceos utilizados em rações extrusadas sobre os aspectos digestivos e respostas metabólicas em cães. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- Bazolli, R.S.; Vasconcellos, R.S.; De-Oliveira, L.D.; Sá, F.C.; Pereira, G.T.; Carciofi, A.C. (2015). Effect of the particle size of maize, rice, and sorghum in extruded diets for dogs on starch gelatinization, digestibility,

and the fecal concentration of fermentation products. Journal of Animal Science, 93 (6), p. 2956–2966.

- Bezerra, J.R.; M.V.; Ziglio, B.R. (2007). Elaboração de biscoito com adição de resíduos (Farinha de Bagaço de Laranja). In: XVI Encontro Anual de Iniciação Científica, 2007, Maringá-PR, 1, p. 1-3.
- Bhattacharya, M.; Hanna, M.A. (1987). Mathematical modeling of food extruder. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 19, p. 34–38.
- Björck, I.; Asp, N.G. (1983). The effects of extrusion cooking on nutritional value, a literature review. Journal of Food Engineering, 2 (4), p. 281-308.
- Bjorck, I.; Asp, N.G.; Dahlqvist, A. (1984). Protein nutritional value of extrusion-cooked wheat flours. Food Chemistry, 15 (3), p. 203-14.
- Bontempo, V. (2005). Nutrition and health of dogs and cats: evolution of petfood. Journal of Veterinary Research, 29 (2), p. 45-50.
- Bosch, G.; Verbrugghe, A.; Hesta, M.; Holst, J.J.; Van der Poel, A.F.; Janssen, G.P.; Hendriks, W.H. (2009). The effects of dietary fibre type on satietyrelated hormones and voluntary food intake in dogs. British Journal of Nutrition, 102 (2), p. 318-325.
- Bouzaza, D.; Arhaliass, A.; Bouvier, J.M. (1996). Die Design and Dough Expansion in Low Moisture Extrusion-Cooking Process. Journal of Food Engineering, 29 (2), p. 130- 157.
- Brennan, M.A.; Merts, I.; Monro, J.; Woolnough, J.; Brennan, C.S. (2008). Impact of guar gum and wheat bran on the physical and nutritional quality of extruded breakfast cereals. Starch - Starke, 60 (5), p. 248–256.
- Brito, C.O.; Teixeira Albino L.F.; Rostagno H.S.; Gomes P.C.; Dionizio M.A.; Oliveira Carvalho D.C. (2006). Adição de complexo multienzimático em dietas à base de soja extrusada e desempenho de pintos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, 35 (2), p. 457-461.

- Brunetto, M.A.; Gomes, M.O.S.; Andre, M.R.; Teshima, E.; Gonçalves, K.N.V.; Pereira, G.T.; Ferraudo, A.S.; Carciofi, A.C. (2010) Effects of nutritional support on hospital outcome in dogs and cats. Journal of Veterinary Emergency and Critical Care, 20 (2), p. 224-231.
- Cadden, A. M. (1987). Comparative effects of particle size reduction on physical structure and water binding properties of several plant fibers. Journal of Food Science, 52 (6), p. 1595-1599.
- Calabrò, S.; Carciofi, A.C.; Musco, N.; Tudisco, R.; Gomes, M.O.S.; Cutrignelli, M.I. (2013). Fermentation Characteristics of Several Carbohydrate Sources for Dog Diets Using the In Vitro Gas Production Technique. Italian Journal of Animal Science, 12 (1), e4, p. 21-27.
- Camire, M.E.; Dougherty, M.P.; Briggs, J.L. (2007). Functionality of fruit powders in extruded corn breakfast cereals. Food Chemistry, 101 (2), p.765-770.
- Campbell, J.M.; Fahey, G.C.; Wolf, B.W. (1997). Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and mi-crobiota in rats. Journal of Nutrition, 127 (1), p. 130-136.
- Carciofi, A.C.; Palagiano, C.; SA, F.C.; Martinsa, M.S.; Gonçalves, K.N.V.; Bazolli, R.S.; Souza, D.F.; Vasconcellos, R.S. (2012). Amylase utilization for the extrusion of dog diets. Animal Feed Science and Technology, 177 (3-4), p. 211– 217.
- Carciofi, A.C.; Takakura, F.S.; Oliveira, L.D.; Teshima, E.; Jeremias, J.T.; Brunetto, M.A. (2008). Effects of six carbohydrate sources on dog diet digestibility and postprandial glucose and insulin response. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 92 (3), p. 326-336.
- Carciofi, A.C. (2005). Emprego de fibras em alimentos para cães e gatos. In: Simpósio sobre nutrição de animais de estimação, São Paulo. Anais Campinas, SP: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p. 95-108.

- Carciofi, A.C.; Gonçalves, K.N.V.; Vasconcellos, R.S.; Bazolli, R.S.; Brunetto, M.A.; Prada, F.A. (2005). Weight loss protocol and participation in the treatment of canine obesity. Ciência Rural, 35 (6), p.1331-1338.
- Carciofi, A.C. (2000). O uso de carboidratos em alimentos para cães. In: Simpósio Sobre Animais de Estimação, Campinas. CBNA, p.17-46.
- Carvalho, C.W.P.; Takeiti, C.Y.; Onwulata, C.I.; Pordesimo, O. (2010). Relative effect of particle size on the physical properties of corn meal extrudates: Effect of particle size on the extrusion of corn meal. Journal of Food Engineering, 98 (1), p. 10- 109.
- Case, L.P.; Carey, D.P.; Hirakawa, D.A. (1998). Hidratos de carbono. In: Nutrição canina e felina: manual para profissionais. Madrid: Harcourt Brace, Cap. 2, p. 17-20.
- Case, L.P.; Carey, D.P.; Hirakawa, D.A. (2010). Hidratos de carbono. In: Nutrição canina e felina: manual para profissionais. Madrid: Harcourt Brace, Cap. 2, p. 17-20.
- CESTEB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (2012). Câmara ambiental do setor da indústria cítrica.
- Challacombe, C.A.; Seetharaman, K.; Duizer, L.M. (2001). Sensory characteristics and consumer acceptance of bread and cracker products made from red or white wheat. Journal of Food Science, 76 (5), p. 337-46.
- Chau, C.F.; Huang, Y.L. (2003). Comparison of the chemical composition and physicochemical properties of different fibers prepared from the peel of Citrus sinensis L. Cv. Liucheng. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (9), p. 2615–2618.
- Cheftel, J.C. (1986). Nutritional effects of extrusion-cooking. Food Chemistry, 20 (4), p. 263-283.
- Chemat, F. (2010). Techniques for oil extraction. In: Sawamura, M. (Eds.). Citrus Essential Oils: Flavor and Fragrance, Wiley, Hoboken, p. 9–36.

- Chinnaswamy, R.; Hanna, M.A. (1991). Physicochemical and macromolecular properties of starch-Cellulose fiber extrudates. Food Structure, 10 (3) (Article 6), p. 229-239.
- Chiofalo, B.; Todaro, M.; Costa, R.; Alicata, M.L.; Chiofalo, V.; Giaccone, P. (2004). Influenza del pastazzo di limone sulla qualità del formaggio pecorino (Effect of fresh lemon citrus pulp on Pecorino cheese characteristics). Proceedings XVI Congress SIPAOC, Lamezia Terme (CZ), Italy, p. 261.
- Chiofalo, B.; Lo Presti, V.; Piccolo, D.; Arena, G. (2007a). Nero Siciliano pig: effect of the diet on meat quality. Italalian Jornal of Animal Science, 6 (1), p. 679.
- Chiofalo, B.; Costa, R.; Mondello, L.; Chiofalo, V. (2007b). Nero Siciliano pig for the production of Nebrosi cured sausages: effect on some traditional diets on sensorial characteristics. In: Costa, N.; L.; Zambonelli, P.; Russo, V. P. (Eds.). Proceedings of the 6th International Symposium of Mediterranean pig, p. 232-235.
- Chiofalo, B.; Di Rosa, A.R.; Cucinotta, S.; Vastolo, A.; Musco, N.; Lombardi, P. (2019). Effect of citrus molasses inclusion in the diet for GDB during training on blood cholesterol and triglyceride levels, oxidative and inflammatory status. Proceedings 23rd Congress of the European Society of Veterinary and Comparative Nutrition, University of Turin (IT), 18-20 September, p. 183.
- Clemente, E.; Flores, A.C.; Lourenzi Franco Rosa, C.I.; Menezes Oliveira, D. (2012). Características da Farinha de Resíduos do Processamento de Laranja. Revista Ciências Exatas e Naturais, 14 (2), p. 257-269.
- Corazza, M.; Rodrigues, D.G.; Nozaki, J. (2001). Preparação e caracterização do vinho de laranja. Química Nova, 24 (4), p. 449-452.

- Couto, M.A.L.; Canniatti-Brazaca, S.G. (2010). Quantificação de vitamina C e capacidade antioxidante de variedades cítricas. Ciência e Tecnologia de Alimentos, 30 (1), p. 15-19.
- Cowell, C.S.; Stout, N.P.; Brinkman, M.F.; Moser, E.A.; Crane, S.W. (2000). Making commercial pet foof. In: Hand, M.S.; Tatcher, C.D.; Remillard, R.L.; Roudebush, P. (Eds). Small animal clinical nutrition, 4ed Kansas: Mark Morris Institute, p. 127-146.
- Crane, S.W.; Griffin, R.W.; Messent, P.R. (2000). Introduction to commercial pet foods. In: Hand, M.S.; Tatcher, C.D.; Remillard, R.L.; Roudebush, P. (Eds.). Small animal clinical nutrition. 4 ed. Kansas: Mark Morris Institute, p. 111-126.
- Dahlke, F.; Ribeiro, A.M.L; Kessler, A.M.; Lima A.R. (2001). Tamanho da partícula domilho e forma física da ração e seus efeitos sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 3 (3), p. 211-217.
- Daris, D.; Jacques, R.; Valduga, E. (2000). Avaliação de características físicoquímicas e sensoriais de doces em pasta elaborados com polpa e/ou casca de banana. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Fortaleza. Resumos. Fortaleza: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1, p. 3-14.
- Darros-Barbosa, R.; Curtolo, J.E. (2005). Produção industrial de suco e subprodutos cítricos. In: Mattos, D.Jr.; De Negri, J.D.; Pio, R.M.; Pompeu, J.Jr. (Eds.). Citros. Campinas: Instituto Agronômico; Fapesp, cap. 28, p. 839-870.
- Deffenbaugh, L. (2007). Optimizing pet food, aquatic and livestock feed quality. In: Riaz, M.N. (Eds.). Extruders and expanders in pet food, aquatic and livestock feeds. Agrimedia GmbH, Clenze, Germany, p. 327-342.
- De-Oliveira, L.D.; Carciofi, A.C.; Oliveira, M.C.C.; Vasconcellos, R.S.; Bazolli, R.S.; Pereira, G.T.; Prada, F. (2008). Effects of six carbohydrate

sources on diet digestibility and postprandial glucose and insulin responses in cats. Journal of Animal Science, 86 (9), p. 2237−2246.

- Ding, Q.B.; Ainsworth, P.; Tucker, G.; Marson, H. (2005). The effect of extrusion conditions on the physicochemical properties and sensory characteristics ofrice-expanded snacks. Journal of Food Engineering, 66 (3), p. 283–289.
- Di Rosa, A.R.; Carcione, G.; Calagna, A.; Di Stefano, A.; Chiofalo, V. (2014) Biomasse agroindustriali: le "scorze depectinizzate di limone" nell'alimentazione del bovino da carne. Journal of the Italian Association For Buiatrics. http://www.rivistabuiatria.it/biomasse-agroindustriali-le-scorze-depectinizzate-di-limone-nellalimentazione-del-bovino-da-carne.
- Di Rosa, A.R.; Giarratana, F.; Bonfiglio, R.; D'Agata, A.; Ziino, G.; Giuffrida, A.; Chiofalo, V. (2015) Production of single cell protein from Orange Molasses using indigenous Candida krusei. Italian Journal of Animal Science,14 (1), p.168-169.
- Di Rosa, A.R.; Leone, F.; Chiofalo, V. (2018). Colour and odour changes during storage of Pecorino cheese as affected by inclusion of citrus byproducts in sheeps diet: evaluation through artificial senses and data fusion analysis. In: Bosco, A.; Musco, N.; Maurelli, M.P.; Infascelli, F. (Eds.). Proceedings of the XXIII SIPAOC Congress, Napoli 12-14 settembre 2018, p.131.
- Dobenecker, B.; Kienzle, E. (1998). Interactions of cellulose content and diet composition with food intake and digestibility in dogs. Journal of Nutrition, 128 (12), p. 2674S-2675S.
- Dona, A.C.; Pages, G.; Gilbert, R. G.; Kuchel, P.W. (2010). Digestion of starch: In vivo and In vitro kinetic models used to characterize oligosaccharide or glucose release. Carbohydrate Polymers, 80 (3), p. 599-617.

- Elleuch, M.; Bedigian, D.; Roiseux, O.; Besbes, S.; Blecker, C.; Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: characterisation, technological functionality and commercial applications: a review. Food Chemestry, 124 (2), p. 411–421.
- EMBRAPA-CNPSA. (1998). Comunicado Técnico, p. 224.
- EMBRAPA-CNPSA. (1999). Comunicado Técnico, p. 232.
- Ensminger, M.E.; Oldfield, J.E.; Heinemann, W.W. (1990). Feeds and Nutrition, 2nd edn. The Ensminger Publishing Company, Clovis.
- European Commission (2010). Preparatory study on food waste across EU 27. October, 33.
- European Commission (2012). Innovating for a sustainable growth, A bioeconomy for Europe.
- European Commission (2018). Directorate-General for Research and Innovation Unit F – Bioeconomy "A sustainable bioeconomy for Europe: strengthening the connection between economy, society and the environment" Updated Bioeconomy Strategy, Manuscript completed in October 2018. European Commission B-1049 Brussels. Printed in Belgium PDF ISBN 978-92-79-94144-3 doi:10.2777/792130. https://ec.europa.eu/research/bioeconomy/pdf/ec_bioeconomy_strategy_2018.pdf#view=fit&pagemode=none.
- European Commission (2019). Schema di regolamento recante disposizioni che consentono la produzione, la commercializzazione e l'uso del pastazzo quale sottoprodotto della lavorazione degli agrumi per il suo impiego agricolo e zootecnico, ai sensi dell'articolo 41-quater del decreto legge 21 giugno 2013, n. 69, convertito in legge con modificazioni dall'art.1, comma 1 della legge 9 agosto 2013, n. 98. [https://ec.europa.eu/growth/tools-databases/tris/it/search/?trisaction=search.detail&year=2019&num=62].
- Fahey, G.C.Jr.; Merchen, N.R.; Corbin, J.E.; Hamilton, A.K.; Serbe, K.A.; Hirakawa, D.A. (1990). Dietary fiber for dogs: II. Iso-total dietary fiber

(TDF) additions of divergent fiber sources to dog diets and their effects on nutrient intake, digestibility, metabolizable energy and digesta mean retention time. Journal of Animal Science, 68 (12), p. 4229-4235.

- FAO (2017). Citrus Fruit - Fresh and Processed Statistical Bulletin 2016. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, 2017. http://www.fao.org/3/a-i8092e.pdf
- FEDIAF - The European Pet Food Industry (2018). European Facts and Figures 2017 report. FEDIAF, Avenue Louise 89 B-1050 Bruxelles. www.fediaf.org
- FEDIAF – The European Pet Food Industry (2019). Nutritional Guidelines for Complete and Complementary Pet Food for Cats and Dogs. March 2019, FEDIAF, Avenue Louise 89 B-1050 Bruxelles. www.fediaf.org
- Fernandez-Gines, J.M.; Fernandez-Lopez, J.; Sayas-Barbera, E.; Perez-Alvarez, J.A. (2003). Effects of storage conditions on quality characteristics of bologna sausages made with citrus fiber. Journal of Food Science, 68 (2), p. 710–715.
- Fernandez–Lopez, J.; Fernandez–Ginès, J.M.; Aleson–Carbonell, L.; Sendra, E.; Sayas–Barberà, E.; Pérez-Alvarez, J.A. (2004). Application of functional citrus by-products to meat products. Trends in Food Science & Technology, 15 (3-4), p. 176–185.
- Figuerola, F.; Hurtado, M.L.; Estevez, A.N.; Chiffelle, I.; Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. Food Chemestry, 91 (3), p. 395–401.
- Fisher, J. (2009). Fruit Fibers. In: Fiber Ingredients: Food Applications and Health Benefits; CRC Press, Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL, USA, p. 427–438.
- Fischer, M.M.; Kessler, A.M.; Sá, L.R.M.; Vasconcellos, R.S.; Roberti Filho, F.O.; Nogueira, S.P.; Oliveira, M.C.C.; Carciofi, A.C. (2012). Fiber

fermentability effects on energy and macronutrient digestibility, fecal parameters, postprandial metabolite responses, and colon histology of overweight cats. Journal of Animal Science, 90 (7), p. 2233-45.

- Fletcher, S.I.; Mc Master, T.J.; Richmond, P.; Smith, A.C. (1984a). Physical and rheological assessment of extrusion-cooked maize. In: Zeuthen, P.; Cheftel, J.C.; Eriksson, C.; Jul, M. (Eds.). Thermal Processing and Quality of Foods, p. 223-234.
- Fletcher, S.I.; Mc Master, T.J.; Richmond, P.; Smith, A.C. (1984b). Physics and extrusion of soft solid food-stuffs. In: Engineering and Food, 2, p. 277-286.
- Fortes, C.M.L.S. (2001). Digestibilidade in vivo e in vitro de fontes de fibra para cães. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- Frailha, M. (2005). Benefício do investimento energético na redução do tamanho de partículas na alimentação animal. In: Simpósio de engenharia de produção, 9, Bauru (SP), Brazil.
- Frame, N.D. (1994). The Technology of Extrusion Cooking. Blackie Academic & Professional, London.
- Gadient, M. (1986). Effect of pelleting on nutritional quality of feed. Proceedings of Maryland Nutrition Conference, p. 73–79.
- Gallaher, D.; Schneeman, B.O. (2001). Dietary fiber. In: Bowman, B., Russel, R. (Eds.). Present Knowledge in Nutrition, ILSI-Press, Washington, D.C., p. 83–91.
- Garau, M. C.; Simal, S.; Femenia, A.; Rosselló, C. (2006). Drying of orange skin: drying kinetics modelling and functional properties. Journal of Food Engineering, 75 (2), p. 288–295.

- Garau, M.C.; Simal, S.; Rossello, C.; Femenia, A. (2007). Effect of air drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of Orange (Citrus aurantium v. Canoneta) by-products. Food Chemistry, 104 (3), p. 1014–1024.
- Garcia Neto, M. (1995). Uso de polpa de citrus na alimentação animal. Agro-pec Coopercitrus, 101, p. 30-31.
- Gerhardt, C.; Wiest, J.M.; Girolometto, G.; Silva, M.A.S.; Weschenfelder, S. (2012). Aproveitamento da casca de citros na perspectiva de alimentos: prospecção da atividade antibacteriana. Brazilian Journal of Food Technology, 4, p. 11-17.
- Gibson, G.R.; Scott, K. P.; Rastall, R.A.; Tuohy, K.M.; Hotchkiss, A.; Dubert-Ferrandon, A.; Gareau, M.; Murphy, E.F.; Saulnier, D.; Loh, G.; Macfarlane, S.; Delzenne, N.; Ringel, Y.; Kozianowski, G.; Dickmann, R.; Lenoir-Wijnkoop, I.; Walker, C.; Randal, B. (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. Food Science & Technology Bulletin Functional Foods, 7 (1), p. 1−19.
- Gibson, M.; Alavi, S. (2013). Pet Food Processing-Understanding Transformations in Starch during Extrusion and Baking. Cereal Foods World, 58 (5), p. 232-236.
- Gonçalves, K.N.V. (2016). Granulometria da matéria prima e configuração da extrusora sobre os parâmetros de processo, características do extrusado e digestibilidade de rações para gatos. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Campus de Jaboticabal.
- Gorinstein, S.; Martn-Belloso, O.; Park, Y.S.; Haruenkit, R; Lojek, A.; Cı´z, M.; Caspi, A.; Libman, I.; Trakhtenberg, S. (2001). Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits. Food Chemistry, 74 (3), p. 309–315.

- Grigelmo-Miguel, N.; Martın-Belloso, O. (1999). Characterization of dietary fiber from orange juice extraction. Food Research International, 31 (5), p. 355–361.
- Guy, R. (2001). Extrusion Cooking. Technologies and Applications, CRC Press Inc., Boca Ration, FL.
- Harmuth-Hoene, A.E.; Seiler, K. (1984). Einfluss verschiedener Extrusionsbedingungen auf die Protein-qualität bei Weizenvollkorn-Extrudaten, Getreide, Mehl und Brot, 8, p. 245-249.
- Harper, J.M. (1981). Extrusion of Foods. CRC Press Inc., FL., p. 41-91.
- Harper, J.M.; Tribelhorn, R.E. (1992). Expansion of native cereal starch extrudates. In: Kokini J.L., Ho C.T., Karwe M.V. (Eds.). Food extrusion science and technology. New York, N.Y.: Marcel Dekker, Inc., p. 653-66.
- Headley, V.; Pfost, H. (1970). Describing particle size. In: Feed Production Council. Feed Manufacturing Technology. Chicago: American Feed Manufactures Association, p. 563-568.
- Healy, B.J.; Hancock, J.D.; Kennedy, G.A.; Bramelcox, P.J.; Behnke, K.C.; Hines, R.H. (1994). Optimum particle size of corn and hard and soft sorghum for nursery pigs. Journal of Animal Science, 72 (9), p. 2227-2236.
- Henderson, S.M.; Perry, R.L. (1976). Size Reduction. In: Agricultural Process Engineering. 3° Ed. The Avi Publishing Company, Inc., Westport, Connecticut, p. 130-159.
- Hendriks, W.H.; Sritharan, K. (2002). Apparent ileal and fecal digestibility of dietary protein is different in dogs. Journal of Nutrition, 132 (6), p. 1692-1694.
- Hendrix, D.L. (1993). Rapid extraction and analysis of nonstructural carbohydrates in pant tissue. Crop Science, 33 (6), p. 1306–1311.
- Hill, D.A. (2003). Fiber, texturized protein and extrusion. In: Kvamme, J.L., Phillips, T.D. (Eds.). Petfood Technology. Watt publishing, Mount Morris, IL, p. 361–365.

- Hullár, I.; Fekete, S.; Szöcs, Z. (1998). Effect of extrusion on the quality of soybean-based catfood. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 80 (1-5), p. 201–206.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2010). Indicadores IBGE. Estatística da produção agrícola.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2012). Indicadores IBGE. Estatística da produção agrícola.
- Interlandi, S. (2014) Tesi di Laurea "Produzione di biogas dagli scarti della lavorazione degli agrumi".
- Ishizaki, M.H.; Visconte, L.L.Y.; Furtado, C.R.G.; Leite, M.C.A.M.; Leblanc, J.L. (2006). Caracterização Mecânica e Morfológica de Compósitos de Polipropileno e Fibras de Coco Verde: Influência do Teor de Fibra e das Condições de Mistura. Polímeros: Ciência e Tecnologia, 16 (3), p. 182-186.
- ISTAT. (2018). Istituto Nazionale di Statistica. http://agri.istat.it/sag_is_pdwout/jsp/dawinci.jsp?q=plC240000010000011000&an=2018&ig=1&ct=506&id=15A|21A|31A
- Iwe, M.O.; Van Zuilichem, D.J.; Ngoddy, P.O. (2001). Extrusion cooking of blends of soy flour and sweet potato flour on specific mechanical energy (sme), extrudate temperature and torque. Journal of Food Processing and Preservation, 25, p. 251- 266.
- Kale, P.N.; Adsule, P.G. (1995). Citrus. In: Salunkhe, D.K., Kadam, S.S. (Eds.). Handbook of Fruit Science and Technology: Production, Composition, Storage, and Processing, Marcel Dekker Inc., New York, p. 39–65.
- Kang, H.J.; Chawla, S.P.; Jo, C.; Kwon, J.H.; Byun, M.W. (2006). Studies on the development of functional powder from citrus peel. Bioresearch Technology, 97 (4), p. 614–620.

- Karkle, E.N.L. (2011). Carbohydrate components of pomace in corn-based extrudates: interactions, expansion dynamics, and structure-texture relationships. Tese de Doutorado (Philosophy Department of Grain Science and Industry). College of Agriculture Kansas State University, Manhattan, Kansas.
- Karkle, E.L.; Alavi, S.; Dogan, H. (2012). Cellular architecture and its relationship with mechanical properties in expanded extrudates containing apple pomace. Food Research, 46 (1), p. 10–21.
- Killeit U. (1994). Vitamin retention in extrusion cooking. Food Chemistry, 42 (9), p. 149–155.
- Koppel, K.; Gibson, M.; Alavi, S.; Aldrich, G. (2015). The effects of cooking process and meat inclusion on pet food flavor and texture characteristics. Animals, 4 (2), p. 254–271.
- Kubitza, F.; Cyrino, J.E.P. (1998). Effects of feed quality and feeding practices on the quality of fish: a Brazilian fish culture outlook. In: Chang, Y. K. and Wang, S. (Eds.). Advances in Extrusion Technology. Tecnomic publishing company, Lancaster USA, p. 53–71.
- Jewell, D.E.; Toll P.W.; Novotny B.J. (2000). Satiety Reduces Adiposity in Dogs. Veterinary Therapeutics, 1 (1), p. 17-23.
- Jewell, D.E.; Toll P.W. (1996). Effects of fiber on food intake in dogs. Veterinary Clinical Nutrition, 3 (4), p. 115-118.
- Jewell, D.E.; Toll, P.W.; Azain, M.J.; Lewis, R.D.; Edwards, G.L. (2006). Fiber But Not Conjugated Linoleic Acid Influences Adiposity in Dogs. Veterinary Therapeutics,7 (2), p. 78-85.
- Jin, Z.; Hsieh, F.; Huff, E.E. (1994). Extrusion cooking of corn meal with soy fiber, salt, and sugar. Cereal Chemestry, 71 (3), p. 227–234.
- Lankhorst, C.; Tran, Q.D.; Havenaar, R.; Hendriks, W.H.; Van Der Poel, A.F.B. (2007). The effect of extrusion on the nutritional value of canine

diets as assessed by in vitro indicators. Animal Feed Science and Technology, 138 (3-4), p. 285–297.

- Lanza, M.; Priolo, A.; Biondi, L.; Bella, M.; Ben Salem, H. (2001). Replacement of cereal grains by orange pulp and carob pulp in faba bean-based diets fed to lambs: effects on growth performance and meat quality. Animal. Research, 50 (1), p. 21-30.
- Lario, Y.; Sendra, E.; Garcıa-Perez, J.; Fuentes, C.; Sayas-Barbera, E.; Fernandez-Lopez, J.; Pérez-Alvarez, J.A. (2004). Preparation of high dietary fiberpowder from lemon juice by-products. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 5 (1), p. 113–117.
- Larrauri, J.A. (1999). New approaches in the preparation of high dietaryfibre powders from fruit by-products. Trends in Food Science & Technology, 10 (1), p. 3–8.
- Larrea, M.A.; Chang, Y.K.; Martinez-Bustos, F. (2005). Some functional properties of extruded orange pulp and its effect on the quality of cookies LWT - Food Science and Technology, 38 (3), p. 213-220.
- Leandro, N.S.M.; Stringuini, J.H.; Café, M.B.; Orsine, G.F.; Rocha, A.C. (2001). Efeito da granulometria do milho e do farelo de soja sobre o desempenho de codornas japonesas. Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa, 30 (4), p. 1266- 1271.
- Licitra, G.; Schadt, I.; Carpino, G.; Azzaro, G.; Petriglieri, R.; Scollo, C.; Lanza, M.; Fasone, V.; Van Soest, P.J. (2001). Manuale degli alimenti e dei foraggi in Sicilia. Tipografia Criscione Junior Print – Ragusa.
- Liener, I.E. (1981). The nutritional significance of the plant lectins. In: Ory, R.L. (Ed.). Antinutrients and natural toxicants in foods. Westport: Food & Nutrition Press, p.143-157.
- Liener, I.E. (1994). Implications of antinutritional components in soybean foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 34 (1), p. 31-67.

- Lillard, D.A. (1983). Effect of processing on chemical and nutrition changes in food lipids. Journal of Food Protection, 46 (1), p. 61-67.
- Lin, S.; Hsieh, F.; Huff, H.E. (1998). Effects of lipids and processing conditions on lipid oxidation of extruded dry pet food during storage. Animal Feed Science and Technology, 71 (3-4), p. 283-194.
- Liotta, L.; Zumbo, A.; Di Rosa, A.R.; D'angelo, G.; Magazzù, G.; Chiofalo V. (2018). Effect of the inclusion of citrus by-products in the diet of dairy sheep on cheeses characteristics. In: Bosco, A.; Musco, N.; Maurelli, M.P.; Infascelli, F. (Eds.). Proceedings of the XXIII SIPAOC Congress, Napoli 12-14 settembre 2018, p. 135.
- Liotta, L.; Randazzo, C.L.; Russo, N.; Zumbo, A.; Di Rosa A.R.; Caggia, C.; Chiofalo, V. (2019). Effect of Molasses and Dried Orange Pulp as Sheep Dietary Supplementation on Physico-Chemical, Microbiological and Fatty Acid Profile of Comisana Ewe's Milk and Cheese. Frontiers in Nutrition, 6 (1), p.1.
- Lis, H.; Sharon, N. (1973). The biochemistry of plant lectins (phytohemagglutinins). Annual Review of Biochemistry, 42 (0), p. 541. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4599386
- Lo Presti, V.; Leone, A.; Vasi, S.; D'Aquino, S.; Chiofalo, B. (2009). Utilizzo dei sottoprodotti dell'industria agrumaria sulle caratteristiche fisiche e chimiche della carne bovina. In: Proceedings LXIII Annual Meeting of the Italian Society for Veterinary Science, Udine 16-18 settembre, p. 467-470.
- Lue, S.; Hsieh, F.; Huff, H.E. (1991). Extrusion cooking of corn meal and sugar beet fiber: effects on expansion properties, starch, gelatinization, and dietaryfiber content. Cereal Chemestry, 68, p. 227.
- Mamma, D.; Christakopoulos, P. (2013). Biotransformation of Citrus By-Products into Value Added Products. Waste and Biomass Valorization, 5 (4), p. 529–549.

- Mandalari, G.; Nueno Palop, C.; Tuohy, K.; Gibson, G.R.; Bennett, R.N.; Waldron, K.W.; Bisignano, G.; Narbad, A.; Faulds, C.B. (2007). In vitro evaluation of the prebiotic activity of a pectic oligosaccharide-rich extract enzymatically derived from bergamot peel. Applied Microbiology and Biotechnology, 73 (5), p. 1173–1179.
- Manjarres-Pinzon, K.; Cortes-Rodriguez, M.; Rodríguez-Sandoval, E. (2013). Effect of drying conditions on the physical properties of impregnated orange peel. Brazilian Journal of Chemical Engineering, 30 (3), p. 667–676.
- Marın, F.R.; Soler-Rivas, C.; Benavente-Garcıa, O.; Castillo, J.; Perez-Alvarez, J.A. (2007). By-products from different citrus processes as a source of customized functional fibres. Food Chemistry, 100 (2), p. 736–741.
- Martin, C.; Chiron, H.; Issanchou, S. (2013). Impact of dietary fiber enrichment on the sensory characteristics and acceptance of French baguette. Journal of Food Quality, 36, p. 324–333.
- Mathew, J.M.; Hoseney, R.C.; Faubion, J.M. (1999). Effects of corn hybrid and growth environment on corn curl and pet food extrudates. Cereal Chemistry, 76 (5), p.625-628.
- Melendez-Martınez, A.J.; Britton, G.; Vicario, I.M.; Heredia, F.J. (2008). The complex carotenoid pattern of orange juices from concentrate. Food Chemestry, 109 (3), p. 546–553.
- Mercier, C.; Linko, P.; Harper, J.M. (1989). Extrusion Cooking. American Association of Cereal Chemists Inc., St. Paul, Minnesota, USA.
- Meuser, F.; Van Lengerich, B. (1984). System Analytical Model for the Extrusion of Starches. In: Zeuthen, P.; Cheftel, J.C.; Eriksson, C.; Jul, J.; Leniger, H.; Linko, P.; Varela, G.; Andvos, G. (Eds.). Thermal Processing and Quality of Foods, London, NY: Elsevier Applied Science Publishers, p. 175–179.

- Meuser, F.; Pfaller, W.; Van Lengerich, B. (1987). Technological Aspects Regarding Specific Changes to the Characteristic Properties of Extrudates by HTST Extrusion Cooking. In: O'Connor, C. (Ed.). Extrusion Technology for the Food Industry. London, NY: Elsevier Applied Science Publishers, p. 35–53.
- Meuser, F.; Wiedmann, W. (1989). Extrusion plant design. In: Mercier, C.; Linko, P.; Harper, J.M. (Eds.). Extrusion Cooking, American Association of Cereal Chemists, St Paul, MN, p. 91-155.
- Minciotti, G. (2019). Animali, il mercato del pet food vale 2,082 miliardi nel 2018. Il Sole24Ore, 9 maggio, 2019.
- Monti, M.; Gibson, M.; Loureiro, B.A.; Sá, F.C.; Putarov, T.C.; Villaverde, C.; Alavi, S.; Carciofi, A.C. (2016). Influence of dietary fiber on macrostructure and processing traits of extruded dog foods. Animal Feed Science and Technology, 220, p. 93–102.
- Moraru, C.I.; Kokini, J.L. (2003). Nucleation and expansion during extrusion and microwave heating of cereal foods. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2 (4), p. 120-138.
- Moscicki, L.; Mitrus, M.; Wojtowicz, A. (2007). Technika ekstruzjiw przetworstwie rolno-spo _zywczym (in Polish), PWRiL, Warszawa.
- Moscicki, L. (2011). Extrusion-Cooking Techniques. Applications, Theory and Sustainability. Wiley-Vch Verlag & Co. KGaA, Boschstr, Weinheim, Germany.
- Munz, K. (2008). Pet food production. Workshop Petfood/Aquafeed, Uzwil, Switzerland, 24, September.
- Murray, S.M.; Flickinger, A.E.; Patil, A.R.; Merchen, N.R.; Brent, J.L.Jr.; Fahey, G.C.Jr. (2001). In vitro fermentation characteristics of native and processed cereal gains and potato starch using ileal chyme from dogs. Journal of Animal Science, 79 (2), p. 435–444.

- Musco, N.; Calabrò, S.; Tudsco, R.; Grossi, M.; Addi, L.; Moniello, G.; Lombardi, P.; Cutrignelli, M.I. (2017). Diet effect on short and long-term glycaemic response in adult healthy cats. Veterinaria Italiana, 53 (2), p. 141-145.
- National Research Council - NRC. (2006). Nutrient requirements of dogs and cats. Washington, D.C: National Academy Press.
- Nelson, R.W.; Scott-Moncrieff, J.C.; Feldman, E.C.; Devriesconcannon, S.E.; Kass, P.H.; Davenport, D.J.; Kiernan, C.T.; Neal, L.A. (2000). Effect of dietary insoluble fiber on control of glycemia in cats with naturally acquired diabetes mellitus. Journal of the American Veterinary Medical Association, 216 (7), p. 1082-1088.
- Nelson, A.L. (2001). High-fiber Ingredients. Eagan Press, St. Paul, Minnesota, USA, p. 45–62.
- Neves, G.A.R.; Santana, M.F.S.; Valença, R.S. (2008). Capacidade higroscópica de farinhas de diferentes frutas. In: VI Seminário de Iniciação Científica da UFRA e XII Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA Amazônia Oriental.
- Nguyen, P.; Dumon, H.; Biourge, V.; Pouteau, E. (1998). Glycemic and insulinemic responses after ingestion of commercial foods in healthy dogs influence of food composition. Journal of Nutrition, 128 (12), p. 2654S-2658S.
- Noguchi, A.; Mosso, K.; Aymard, C.; Jeunink, J.; Cheftel, J.C. (1982). Maillard reactions during extrusion-cooking of protein-enriched biscuits. Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie, 15, p. 105-110.
- Nunes, I.J. (1998). Carboidratos. In: Nutrição animal básica. 2. ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ, cap. 4, p. 51-74.
- OECD - Organization for Economic Co-operation and Development (1995). OECD Definitions. Recommendation of the Council of the OECD

On Improving the Quality of Government Regulation (adopted on 9 march 1995), 2, rue André-Pascal, 75775 PARIS CEDEX 16, France.

- Olano-Martın, E.; Rimbach, G.H.; Gibson, G.R.; Rastall, R.A. (2003a). Pectin and pectic-oligosaccharides induce apoptosis in in vitro human colonic adenocarcinoma cells. Anticancer Research, 23 (1A), p. 341–346.
- Olano-Martın, E.; Williams, M.R.; Gibson, G.R.; Rastall, R.A. (2003b). Pectins and pectic-oligosaccharides inhibit Escherichia coli O157:H7 Shiga toxin as directed towards the human colonic cell line HT29. FEMS Microbiology Letters, 218 (1), p. 101–105.
- Owens, J.M.; Heimann M. (1994). Material processing cost center. In: McEllhiney, R.R. (Eds.). Feed Manufacturing Technology IV. Arlington:VA, p. 81-92.
- Owsley, W.F.; Knabe, D.A.; Tanksley, T.D.Jr. (1981). Effect of sorghum particle size on digestibility of nutrients at the terminal ileum and over the total digestive tract of growing-finishing pigs. Journal of Animal Science, 52 (3), p. 557-66.
- Pacheco, P.D.G.; Putarov, T.C.; Baller, M.A.; Peres, F.M.; Loureiro, B.A.; Carciofi, A.C. (2018). Thermal energy application on extrusion and nutritional characteristics of dog foods. Animal Feed Science and Technology, 243, p. 52–63.
- Palumbo, G.R. (2009). Efeito da ingestão de amido, fibra e energia na resposta glicêmica pós-prandial e saciedade em cães. 2009. 73f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual de São Paulo, Jaboticabal.
- Panmanabhan, M.; Bhattachayrya, M. (1989). Extrudate expansion during extrusion cooking of foods. Cereal Food World, 34, p. 945– 949.
- Pansawat, N.; Jangchud, K.; Jangchud, A.; Wuttijumnong, P.; Saalia, F.K.; Eitenmiller, R.R.; Phillips, R.D. (2008). Effects of extrusion conditions on

secondary extrusion variables and physical properties of fish, rice-based snacks. Lebensmittel- Wissenschaft und-Technologie, 41 (4), p. 632–641.

- Parfitt, J.; Barthel, M.; Macnaughton, S. (2010). Food waste within food supply chains: quantification and potential for change to 2050. Philosophical Transiction of Royal Society B, 365, p. 3065–3081.
- Ralet, M.C.; Aexlos, M.A.V.; Thibault, J.F. (1994). Extraction and charcaterisation of very highly methylated pectins from lemon cell walls. Carbohydrate Research, 260 (2), p. 283–296.
- Rapporto Assalco – Zoomark 2019, XII edizione. http://www.zoomark.it/media/zoomark/pressrelease/2019/7.%20Zoomark_2019_Dati_mercato.pdf.
- Ratnayake, W.S.; Jackson. D.S. (2003). Starch: sources and processing. In: Caballero, B.; Finglas, P.; Toldra, F. (Eds.). Encyclopedia of Food Science. Food Technology and Nutrition. 2nd ed. Rev. New York: John Wiley & Sons, p. 5567-5572.
- Redgwell, R.J.; Curti, D.; Robin, F.; Donato, L.; Pineau, N. (2011). Extrusion- Induced Changes to the Chemical Profile and Viscosity Generating Properties of Citrus Fiber. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59 (15), p. 8272–8279.
- Regolamento UE 2017/1017 della Commissione del 15 giugno 2017 che modifica il Regolamento UE n. 68/2013.
- Rezzadori, K.; Benedetti S. (2009). Proposições para Valorização de Resíduos do Processamento do Suco de Laranja. 2nd International Workshop Advances in Cleaner Production, São Paulo – Brazil – 20-22 maggio.
- Riaz, M.N. (2000). Extruders in food applications. Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA.
- Riaz, M.N. (2007). Extruders and Expanders in Pet Food, Aquatic and Livestock Feeds. Agrimedia, Clenze, p. 400.

- Riaz, M.N.; Asif, M; Ali, R. (2009). Stability of Vitamins during Extrusion, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 49 (4), p. 361-368.
- Roberti-Filho, F. (2013). Influência da granulometria da matéria-prima e da configuração da extrusora no conteúdo de amido resistente, digestibilidade, fermentação intestinal e respostas metabólicas de cães. 54f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal.
- Robin, F.; Dubois, C.; Pineau, N.; Schuchmann, H.P., Palzer, S. (2011). Expansion mechanism of extruded foams supplemented with wheat bran. Journal of Food Engineering, 107 (1), p. 80-89.
- Robin, F.; Schuchmann, H.P.; Palzerc, S. (2012). Dietary fiber in extruded cereals: Limitations and Opportunities. Trends in Food Science & Technology, 28 (1), p. 23-32.
- Roediger, W.E. (1982). The effect of bacterial metabolites on nutrition and function of the colonic mucosa. Symbiosis between man and bacteria. Falk Symposium, 32.
- Rokey, R.J.; Plattner, B.; de Souza, E.M. (2010). Feed extrusion process description. Revista Brasileira de Zootecnia, 39, p. 510-518.
- Roussos, P.A. (2011). Phytochemicals and antioxidant capacity of orange (Citrus sinensis (l.) Osbeck cv. Salustiana) juice produced under organic and integrated farming system in Greece. Scientia Horticulturae, 129 (2), p. 253–258.
- Sá, F.C.; Vasconcellos, R.S.; Brunetto, M.A.; Filho, F.O.R.; Gomes, M.O.S., Carciofi, A.C. (2013). Enzyme use in kibble diets formulated with wheat bran for dogs: effects on processing and digestibility. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 97 (1), p. 51–59.
- Salerno, A. (2013). Petcare e pet food, mercati in crescita in tutta Europa. I Mercati magazine, maggio 2013, p. 67–77.

- Santana, M.F.S. (2005). Caracterização físico-química de fibra alimentar de laranja e maracujá. Tese de Doutorado. Faculdade Estadual de Engenharia de Alimentos, FEA - UNICAMP. Campinas, São Paulo.
- Scotto, A.L. (2012). Impatto ambientale dei rifiuti e degli sprechi agroalimentari in Europa e in Italia. Tesi di dottorato di ricerca in cooperazione internazionale e politiche per lo sviluppo sostenibile, Bologna.
- Segrè, A.; Gaiani, S. (2011). Transforming Food Waste into a Resource. Royal Society of Chemistry Publishing.
- Sgarbieri, V.C.; Whitaker, J.R. (1982). Physical, chemical and nutritional properties of common bean (Phaseolus) proteins. Advances in Food Research, 28 (3), p. 93-166.
- Silva, M.R.; Silva, M.A.A.P. (2000). Antinutritional factors: protease inhibitors and lectins. Revista de Nutrição. Pontifícia Universidade Católica de Campinas, 13 (1), p. 3-9.
- Silva, D.J.; de Queiroz, A.C. (2002). Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. Edição: 3, UFV Edition (Brasil).
- Silva, F.L. (2013). Emprego de fibra de cana-de-açúcar na alimentação de cães: controle da digestibilidade, tempo de retenção intestinal, efeito de saciedade e interferência na saciedade e respostas glicêmicas, insulínicas, colesterol e triglicerídeos pós-prandiais. Tese de Mestrado. Medicina Veterinária. Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária, FCAV, UNESP, São Paulo, Jaboticabal.
- Silva, J.A. (2000). Tópicos da Tecnologia de Alimentos. São Paulo, Varela, p. 227.
- Sinclair, W.B. (1984). The Biochemistry and Physiology of the Lemon and Other Citrus Fruits. Division of Agriculture and Natural Resources, University of California, Oakland.
- Soares C.M.; Hayashi, C.; Boscolo, W.R.; Meurer F. (2003). Diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas peletizadas para a tilápia-do-

nilo (Oreochromis niloticus L.) em fase de crescimento. Desempenho e digestibilidade aparente. Zootecnia Tropical, 21 (3), p. 275-287.

- Socaciu, C. (2014). Bioeconomy and green economy: European strategies, action plans and impact on life quality. Bulletin UASVM Food Science and Technology, 71(1), p. 2344-5300.
- Sokhey, A.S.; Ali Y.; Hannab, M.A. (1997). Effects of Die Dimensions on Extruder Performance. Journal of Food Engineering, 31 (2), p. 251-261.
- Streit, B. (2015). Thermal Versus Mechanical Energy in Pet Food Extrusion Cooking. http://www.petfoodindustry.com/articles/5364-thermalversus-mechanical-energy-in-pet-food-extrusion-cooking?v=preview.
- Stroucken, W.P.J.; Van Der Poel, A.F.B.; Kappert, H.J.; Eynen, A.C. (1996). Extruding vs pelleting of a feed mixture lowers apparent nitrogen digestibility in dogs. Journal of Science Food Agriculture, 71, p. 520-522.
- Suknark, K.; McWatters, K.H.; Phillips, R.D. (1998). Acceptability by American and Asian consumers of extruded fish and peanut snack products. Journal of Food Science, 63 (4), p. 721–725.
- Sunvold, G.D.; Fahey, JR G.C.; Merchen, N.R.; Titgemeyer, E.C.; Bourquin, L.D.; Bauer, L.L.; Reinhart, G.A. (1995). Dietary fiber for dogs: IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion and metabolism of fiber-supplemented di-ets. Journal of Animal Science, 73 (4), p. 1099-1109.
- Swanson, K.S.; Grieshop, C.M.; Clapper, G.M.; Shields, R.G.; Belay, T.Jr.; Merchen, N.R.; Fahey, Jr.G.C. (2001). Fruit and vegetable fiber fermentation by gut microflora from canines. Journal of Animal Science, 79 (4), p. 919–926.
- Teixeira, M.; Gonçalves, L.C.; Frederico, O.V.et al. (2009). Polpa cítrica na alimentação de bovinos de leite. Belo Horizonte, cap.7, p. 116-131.

- Tran, Q.D.; Hendriks, W.H.; Van Der Poel, A.F. (2008). Effects of extrusion processing on nutrients in dry pet food. Journal of the Science of Food and Agriculture, 88 (9), p. 1487-1493.
- Trivedi, N.; Benning, J. (2003). Palatability Keys. In: Kvamme, J.L.; Phillips, T.D. (Eds.). Petfood technology. Illinois Mt Morris, p. 178-179.
- Van Der Poel, A.F.B.; Blonk, J.; Van Zuilichem, D.J.; Van Oort, M.G. (1990). Thermal inactivation of lectins and trypsin inhibitor activity during steam processing of dry beans (Phaseolus vulgaris) and effects on protein quality. Journal of Science Food Agricuture, 53, p. 215-228.
- Van Zuilichem, D.J.; Stolp, W.; Janssen, L. (1983). Engineering aspects of single and twin screw extrusion cooking of biopolymers. Journal of Food Engineering, 2 (3), p. 157–175.
- Van Zuilichem, D.J. (1992). Extrusion Cooking. Craft or Science. Ph.D. thesis, Wageningen University, Netherlands.
- Vastolo, A., Calabró, S., Liotta, L., Musco, N., Di Rosa, A.R., Cutrignelli, M.I., Chiofalo, B. (2019). In Vitro Fermentation and Chemical Characteristics of Mediterranean By-Products for Swine Nutrition. Animals, 9 (8), 556-567.
- Villanueva-Suarez, M.J.; Redondo-Cuenca, A.; Rodrıguez-Sevilla, M.D.; de las Heras, M. (2003). Characterization of nonstarch polysaccharides content from different edible organs of some vegetables, determined by GC and HPLC: Comparative study. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51 (20), p. 5950–5955.
- Yamka, R.L.; Jamikorn, U.; True, A.D.; Harmon, D.L. (2003). Evaluation of soyabean meal as a protein source in canine foods. Animal Feed Science and Technology, 109 (1–4), p. 121-132.

- Wichert, B.; Schuster, S.; Hofmann, M.; Dobenecker, B.; Kienzle, E. (2002). Influence of Different Cellulose Types on Feces Quality of Dogs. American Society for Nutritional Sciences. Journal of Nutrition, 132 (6 – Suppl. 2), p. 1728–1729.
- Zema, D.M.; Tamburino, V. (2015) Citrus - Trattato di agrumicoltura. Vacante V. (Eds.). Il Sole 24 Ore-Edagricole, p. 459-470.
- Zeng, M.; Morris, C.F.; Batey, I.L.; Wrigley, C.W. (1997). Sources of variation for starch gelatinization, pasting, and gelation properties in wheat. Cereal Chemistry, 74 (1), p. 63-71.
- Zhang, M.; Liang, Y.; Pei, Y.; Gao, W.; Zhang, Z. (2009). Effect of Process on Physicochemical Properties of Oat Bran Soluble Dietary Fiber. Journal of Food Science. 74 (8), p. C628-636.