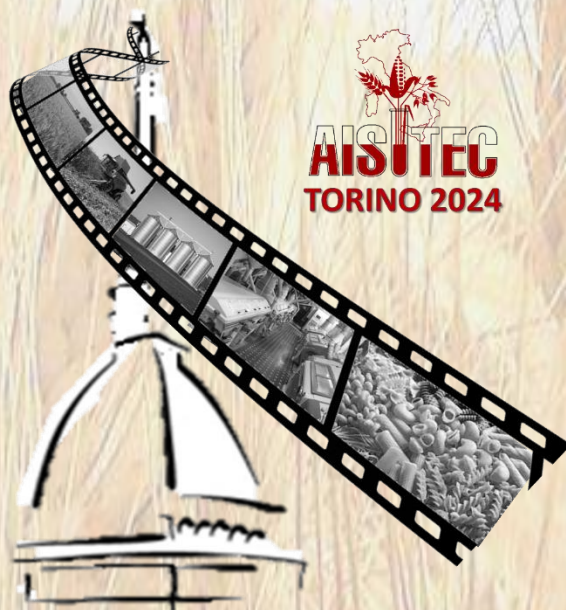




Atti del 13° Convegno AISITEC

FILIERE CEREALICOLE RIGENERATIVE

Cambiamenti climatici e nuove esigenze
qualitative e nutrizionali



A cura di:

M. Blandino, M. Carcea, L. Gazza, E. Marconi, A. Marti,
M.C. Messia, R. Redaelli, F. Sciacca, V. Turfani

Atti del 13° CONVEGNO AISTEC
FILIERE CEREALICOLE RIGENERATIVE
Cambiamenti climatici e nuove esigenze
qualitative e nutrizionali

19-21 giugno 2024

Auditorium Complesso Aldo Moro, Torino
Università degli Studi di Torino

A cura di:
M. Blandino, M. Carcea, L. Gazza, E. Marconi, A. Marti,
M.C. Messia, R. Redaelli, F. Sciacca, V. Turfani

Volume interamente pubblicato dall'AISTEC

In copertina: Mole Antonelliana (Elaborazione AISTEC)

© 2024 Associazione Italiana di Scienza e Tecnologia dei Cereali AISTEC

c/o Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria - Centro di ricerca
Alimenti e Nutrizione

Via Ardeatina 546 - 00178 Roma (RM)

ISBN: 978-88-906680-8-1

Con il patrocinio di:



Città metropolitana di Torino



Accademia di Agricoltura di Torino

Con il patrocinio di



*ENEA - Agenzia nazionale per le nuove tecnologie,
l'energia e lo sviluppo economico sostenibile*



Cluster Agrifood Nazionale



FIDAF - Federazione Italiana Dottori in Agraria e Forestali



CNR - Consiglio Nazionale delle Ricerche



ACCADEMIA DEI GEORGOFILI

Accademia dei Georgofili



SIA - Società Italiana di Agronomia



Associazione
Italiana
Società
Scientifiche
Agrarie

AISSA - Associazione Italiana Società Scientifiche Agrarie



Ente Nazionale Risi



ITALMOPA - Associazione Industriale Mugnai d'Italia



SIGA - Società Italiana Genetica Agraria



Unione Italiana Food

qualità, gusto e piacere

Con il contributo di:



Chiriotti Editori - Pinerolo (TO)

FOSS

Foss Italia S.r.l.



R-Biopharm Italia S.r.l.



Molino Peila S.p.A. - Valperga (TO)

PREFAZIONE

Il 13° Convegno dell'Associazione Italiana di Scienza e Tecnologia dei Cereali "Filieri agricole rigenerative. Cambiamenti climatici e nuove esigenze", co-organizzato da AISTEC, dal Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA) e dal Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA) dell'Università degli Studi di Torino, si è svolto dal 19 al 21 giugno 2024 a Torino, presso l'Auditorium Complesso Aldo Moro dell'Università degli Studi di Torino.

Sono intervenuti oltre 110 esperti che hanno affrontato il tema generale della transizione dei sistemi colturali cerealicoli e delle filiere alimentari ad essi collegate per rispondere all'esigenza di mitigare e adattarsi al cambiamento climatico e di garantire produzioni in linea con le richieste qualitative dell'industria di trasformazione e della società.

Sono stati presentati 79 contributi (tra comunicazioni orali e posters) nell'ambito di 7 sessioni scientifiche che hanno riguardato i modelli e le strategie per la cerealicoltura di domani, le materie prime e le tecnologie per la filiera della pasta, l'innovazione di prodotto e di processo per la produzione di alimenti e ingredienti funzionali, la gestione della risaia e la qualità del riso, nuovi ingredienti nei prodotti a base di cereali, le risorse genetiche ed i cereali minori. I partecipanti hanno anche potuto ascoltare ed intervenire ad una tavola rotonda avente per argomento la visione del settore sulle esigenze delle filiere cerealicole a cui hanno partecipato rappresentanti di ITALMOPA, ANTIM, SOREMARTEC Italia (FERRERO), AMI, AIRI e Fava S.p.A.

Il convegno ha offerto anche momenti di aggiornamento per la presenza di espositori di strumentazione scientifica oltre che culturali e di convivialità nel corso della cena sociale presso la splendida sede del Circolo Canottieri Esperia di Torino. Grazie alla ormai pluriennale collaborazione con Chiriotti Editori, durante la manifestazione sono stati inoltre assegnati 2 premi per i migliori poster: uno, intitolato alla memoria di Giovanni Chiriotti, per il miglior poster su tecnologie innovative nel settore della trasformazione e utilizzazione dei cereali e uno per il miglior poster sulle tematiche del convegno, rivolto a giovani ricercatori.

Il presente volume raccoglie 57 lavori che sono stati presentati come comunicazioni orali o poster al convegno e testimonia la vivacità scientifica della ricerca italiana nel settore dei cereali e derivati. I manoscritti forniti dagli autori sono stati rivisti per la stampa dal Comitato di Redazione. Il comitato desidera ringraziare la Dott.ssa Elisa De Arcangelis ed il Sig. Francesco Martiri per il prezioso supporto fornito nella raccolta dei lavori e nell'assemblaggio del presente volume.

Il Comitato di Redazione

Massimo Blandino

Marina Carcea

Laura Gazza

Emanuele Marconi

Alessandra Marti

Maria Cristina Messia

Rita Redaelli

Fabiola Sciacca

Valeria Turfani

COMITATO SCIENTIFICO

Massimo Blandino, Università di Torino, Torino

Marina Carcea, già CREA-AN, Roma

Raimondo Cubadda, Presidente onorario, AISTEC

Laura Gazza, CREA-IT Roma, Roma

Emanuele Marconi, CREA-AN; Università Campus Bio-Medico, Roma

Alessandra Marti, Università di Milano, Milano

Maria Cristina Messia, Università degli Studi del Molise, Campobasso

Nicola Pecchioni, CREA-CI, Foggia

Rita Redaelli, CREA-CI, Bergamo

Amedeo Reyneri Di Lagnasco, Università di Torino, Torino

Fabiola Sciacca, CREA-CI, Acireale

Valeria Turfani, CREA-AN, Roma

COMITATO ORGANIZZATORE

Marta Bertolino, Università di Torino, Torino

Virginia Glicerina, Università di Torino, Torino

Teresina Mancuso, Università di Torino, Torino

Monica Mezzalama, Università di Torino, Torino

SEGRETERIA DEL CONVEGNO

Elisa De Arcangelis, Università Campus Bio-Medico di Roma

Francesco Martiri, CREA-AN, Roma

E-mail: segreteria.aistec@gmail.com, www.aistec.it

SEGRETERIA LOCALE

Massimo Blandino

E-mail: massimo.blandino@unito.it

Tel.: 0116708895

SEDE DEL CONVEGNO

*Auditorium Complesso Aldo Moro
Università degli Studi di Torino*

Indice

LAVORI

- Frumenti antichi e popolazioni evolutive come tutela della biodiversità del genere *Triticum*: Qualità della pasta integrale** 17
O. Parenti, C. Cattaneo, M. Laureati, F. Scazzina, M. Dall'Asta, E. Chiavaro, E. Carini
- Qualità nutrizionale e tecnologica di pasta integrale di monococco ottenuta da sfarinato micronizzato** 22
L. Gazza, E. Galassi, F. Taddei, C. Natale, R. Mortaro, L. Sereni, E. Gosparini, V. Del Frate, A. Arcangeli, C. Cecchini, F. Nocente
- Tracciabilità nella filiera produttiva della pasta: un approccio altamente processivo basato sull'analisi degli SNPs** 27
G. Metelli, M. Bonarrigo, E. Blasi, A. Marucci, F. Sestili, S. Masci
- Pasta di semola arricchita: studio dell'effetto del processo produttivo e della cottura sui composti antiossidanti** 32
S. Marzocchi, F. Pasini, R. Santi, M.F. Caboni
- Ottimizzazione della tecnica molitoria per l'ottenimento di farine di mais speciali ad alto valore qualitativo e salutistico** 37
C. Sardella, A. Fratianni, F. Vanara, A. Rosso, V. Scarpino, G. Panfili, M. Blandino
- Da prodotto di scarto a cibo funzionale: utilizzo di farina di canapa per la produzione di pane e pasta funzionali** 42
F. Sciacca, M. G. Melilli, V. Di Stefano, C. Buzzanca, S. Bonacci, S. Licciardello, E. Li Puma, A. Leonardi, A. Pesce, M. Palumbo, N. Pecchioni, N. Virzì
- Caratterizzazione delle isoforme della "Agglutinina del Germe di Grano (WGA)" mediante analisi proteomica** 47
L. Di Stasio, S. De Caro, M.C. Messia, E. Marconi, G. Mamone
- I contaminanti inorganici nel riso italiano: stato dell'arte e prospettive** 52
M. Martin, D. Tenni, L. Celi, G. M. Beone, M. C. Fontanella, M. Romani
- Selezione di endofiti di riso da utilizzare in strategie di lotta biologica contro *Fusarium fujikuroi*** 57
S. Bosco, M. Mezzalama, D. Spadaro
- Ottimizzazione di gnocchi *gluten-free* a base di sfarinato di ceci** 62
V. Imeneo, C. Cappa, C. Alamprese
- Effetto di alcuni ingredienti (semi essiccati e olive nere) sulla formazione di acrilammide in biscotti salati** 67
M. A. Schouten, A. Santanatoglia, S. Angeloni, M. Ricciutelli, L. Acquaticci, G. Caprioli, S. Vittori, S. Romani

Impatto dei fattori climatici sulla qualità e le caratteristiche aromatiche di varietà di frumento tradizionali e moderne	72
<i>R. De Flaviis, V. Santarelli, G. Sacchetti</i>	
La caratterizzazione fenotipica di alcune linee di miglio per l'inserimento in filiere alimentare di nuova generazione	77
<i>N. Trotta, M. Mele, D. Zito, P.P. Adinolfi, M. Giannatiempo, E. L. Frusciante, G. M. Cioffi, E. De Falco</i>	
Il fonio: prospettive e criticità di un cereale antichissimo e sostenibile	82
<i>S. Errico, P. Sangiorgio, R. Lamanna, G. Baviello, R. Balducchi</i>	
Valorizzazione del sorgo tramite processi fermentativi: selezione di <i>starter</i> autoctoni, caratterizzazione metabolomica dei fermentati e impiego in panificazione	87
<i>M. Verni, A. Torreggiani, E. Brasili, C.G. Rizzello</i>	
Valorizzazione del grano saraceno nei prodotti a base di cereali	92
<i>A. Sergiacomo, A. Bresciani, M. Miele, A. Marti</i>	
Il progetto LIFE Agrestic come esempio di agricoltura rigenerativa.....	98
<i>B. Volta, A. Castellucci, M. Ruggeri</i>	
Progetto Co.S.Mo.: trasferimento tecnologico per l'implementazione della filiera del grano monococco in Sicilia.....	103
<i>B. Messina, G. Russo, G. Toscano, F. Nocente, L. Gazza</i>	
Introduzione delle colture di copertura sull'accumulo di carbonio nel suolo e sulla produttività e qualità del frumento tenero di forza in successione	108
<i>P. Colombatto, S. Maruccia, R. Cecire, L. Celi, A. Reyneri, M. Blandino</i>	
Controllo delle patologie del frumento con l'applicazione di bio-fungicidi: effetto sulla produttività e sul contenuto in micotossine da <i>Fusarium</i> e <i>Alternaria</i>	113
<i>S. Maruccia, P. Giorni, P. Colombatto, A. Abate, A. Reyneri, T. Bertuzzi, M. Blandino</i>	
La coltivazione del frumento ibrido per l'ottimizzazione dell'utilizzo dell'azoto ed il miglioramento della produttività e sostenibilità dei sistemi cerealicoli	118
<i>M. Scapino, R. Meloni, M. Blandino</i>	
Il contributo della certificazione nella filiera del frumento duro	122
<i>A. Mondillo, B. De Angelis, N. Trotta, E. L. Frusciante</i>	
La certificazione delle sementi dei cereali e il suo ruolo nelle filiere rigenerative.....	127
<i>B. De Angelis, A. Mondillo, N. Trotta, E. L. Frusciante</i>	
Fitopatie del frumento e comportamento delle varietà	132
<i>A. Iori, N. Pecchioni, P. Vaccino, N. Virzì, P. De Vita, A. Belocchi, M. Fornara, S. Licciardello, S. Mascheroni, V. Mazzon, S. Paone, A. Pesce, A. Troccoli, C. Cassetta, E. Grolì, L. Mameli, N. Mottola, A. Petrini, B. Randazzo, S. Ravaglia, P. Viola</i>	

Orzo da malto e cambiamenti climatici: varietà idonee per gli ambienti caldo-aridi. Risultati parziali del progetto INNO.MALTO	137
<i>N. Virzi, D. D'Angelo, A. Leonardi, S. Licciardello, E. Li Puma, A. Lo Scalzo, A. Pesce, F. Sciacca, N. Pecchioni, M. Palumbo</i>	
Presenza di metaboliti secondari fungini in cariossidi di frumento duro coltivato in Italia e loro correlazione con la comunità fungina ad esse associata	141
<i>A. Prodi, F. Tini, V. Balmas, A. Infantino, A. Onofri, E. Cappelletti, S. Ofensou, M. Sulyok, M. Montanari, D. Iraci Capuccinello, N. Virzi, I. Alberti, L. Covarelli, G. Beccari</i>	
Aspetti normativi delle analisi dei metalli nel riso: cadmio e arsenico inorganico (regole decisionali con incertezza di misura)	145
<i>E. Fantozzi, F. Trivero, C. Simonelli</i>	
Aspetti normativi relativi alla qualità del granello di riso: il DLgs 131/2017 e la norma ISO 7301	148
<i>E. Fantozzi, F. Trivero, A. Carnia, C. Simonelli</i>	
Applicazione dell'analisi di identificazione varietale genetica all'analisi delle diverse varietà di riso	152
<i>F. Trivero, E. Fantozzi, C. Cattaneo, A. Carnia, C. Simonelli</i>	
L'importanza dei dati storici: 20 anni di studio sulla collezione di riso del CREA-CI.	155
<i>F. Sansoni, L. Sena, M. Canella, P. Vaccino</i>	
A monte della riduzione di acrilammide in prodotti cerealicoli: esplorazione della variabilità allelica del gene asparagina sintetasi in frumenti a diverso livello di ploidia	160
<i>C. Morcia, R. Ghizzoni, V. Terzi, R.T. Gogam, E. Marconi, V. Turfani, V. Narducci, A. Raffo</i>	
Applicazione del telerilevamento satellitare per la valutazione della qualità e sanità dei cereali	164
<i>R. Meloni, A. Farbo, E. Borgogno-Mondino, A. Reyneri, M. Blandino</i>	
Cottura degli spaghetti: induzione o microonde?	169
<i>A. Cimini, L. Morgante, M. Moresi</i>	
Problemi e sfide nella macinazione della farina integrale: il caso della pasta integrale	174
<i>F. Pasini, S. Marzocchi, C. Ravagli, M.F. Caboni</i>	
Prodotti da forno ad elevata qualità nutrizionale e sostenibilità ambientale	179
<i>V. Turfani, V. Narducci, M. Ritota, E. De Arcangelis, F. Antonazzi, S. Lelli, P. Gabrielli, P. Buonocore, M.C. Trivisonno, S. Ruggeri</i>	
Caratterizzazione di impasti da sfarinati di frumento tenero con diverso grado di raffinazione mediante metodi reologici empirici e fondamentali	184
<i>S. Iacovino, F. Cuomo, M.C. Trivisonno, M.C. Messia, E. Marconi</i>	

Ruolo della stabilizzazione termica delle frazioni cruscali di frumento tenero sul contenuto in acrilammide.....	189
<i>V. Guarino, V. Scarpino, F. Vanara, M. Blandino</i>	
Studio delle caratteristiche tecnologiche di FLAB per l'impiego nella preparazione di prodotti da forno	194
<i>S.J. Lombardi, B. Testa, S. Rosati, S. Giorgione, F. Vergalito</i>	
Il riso dalla tradizione all'innovazione: dal risotto al sushi	199
<i>F. Trivero, E. Fantozzi, A. Carnia, C. Simonelli</i>	
Distribuzione di moniliformina nella molitura e fiocatura di mais.....	202
<i>T. Bertuzzi, P. Giorni</i>	
MountainHER: un progetto PRIMA per rafforzare l'economia delle montagne ed il ruolo delle associazioni femminili nei Paesi del Mediterraneo, attraverso prodotti alimentari a base di cereali da filiera agro-ecologica	205
<i>M. Marchini^{1*}, I. Mazzoli, F. Bassi, M. Ben Salem, N. Mamula, R. El Amil, N. Bahri, F. Djellakh, A. Bouslamti, H. Ben Ghanem, R. Mrabet</i>	
Approcci agronomici rigenerativi: caratterizzazione tecnologica di linee di frumento perenne coltivate in Italia.....	209
<i>E. Galassi, C. Natale, F. Nocente, F. Taddei, E. Gosparini, A. Arcangeli, V. Del Frate, C. Cecchini, G. Galaverna, L. Gazza</i>	
Popolazioni evolutive di frumento: un approccio di agricoltura rigenerativa per filiere sostenibili e di qualità.....	214
<i>C. Natale, E. Galassi, F. Nocente, F. Taddei, M. Naso, P. Cacciatori, S. Folloni, G. Visioli, S. Ceccarelli, G. Galaverna, L. Gazza</i>	
Popolazioni evolutive di frumento coltivato su diverse precessioni in regime biologico stimolano processi del suolo e biodiversità microbica.....	219
<i>G. Giannelli^{1*}, C. Védère², C. Rumpel², L. Gazza³, S. Folloni⁴, G. Galaverna¹, G. Visioli</i>	
Attività del CREA per la valorizzazione del germoplasma italiano di mais attraverso un network internazionale.....	224
<i>C. Balconi, A. Torri, S. Goritschnig, R. Redaelli</i>	
Analisi comparativa dell'impatto ambientale di ingredienti ad alto amido resistente ..	229
<i>A. Cimini, L. Morgante, M. Moresi</i>	
Valutazione delle risposte agronomiche e qualitative di farri e varietà storiche e moderne di frumento tenero coltivate in ambienti non marginali	234
<i>C. Sardella, F. Vanara, M. Scapino, V. Scarpino, C. Pedrazzani, C. Dall'Asta, M. Blandino</i>	
Caratterizzazione agronomica e qualitativa di accessioni di <i>Triticum spelta</i>	239
<i>A. Belocchi, E. Galassi, F. Taddei, A. Cammerata, E. Gosparini, V. Mazzon, A. Iori</i>	

Strategie di sequenziamento di nuova generazione per lo studio della variabilità genetica nei mais piemontesi	244
<i>M. Martina, A.M. Milani, C. Comino, S. Spagnolo, P. Migliorini, E. Portis</i>	
Prodotti innovativi a base di cereali minori: cous cous e malto da grano monococco ...	249
<i>F. Nocente, E. Galassi, F. Taddei, C. Natale, P. Cacciatori, L. Sereni, L. Gazza</i>	
Il progetto SOUL “Innovazione nella filiera del sorgo ad uso alimentare nel Lazio: sostenibilità, coltivazione, trasformazione e recupero funzionale degli scarti di trasformazione”	254
<i>F. Taddei, L. Gazza, F. Nocente, E. Galassi, C. Natale, P. Cacciatori, A. Belocchi, V. Mazzon, M. Pagano, D. Ceccarelli, R. Ciorba, R. Ciccoritti</i>	
Effetto dei processi di estrusione di farine di mais per la produzione di snack e pasta sul contenuto di fumonisine libere e coniugate e delle principali micotossine normate ed emergenti in farine di mais	259
<i>V. Scarpino, F. Vanara, M. Blandino</i>	
Grani storici lombardi: germoplasma da caratterizzare e da valorizzare	264
<i>V. Pozzi, F. Sansoni, L. Sena, P. Vaccino</i>	
Valorizzazione di antiche popolazioni siciliane di <i>Triticum</i>: valutazione qualitativa e nutrizionale di nuovi prodotti a base di cereali	269
<i>F. Sciacca, A. Zappalà, S. Licciardello, E. Li Puma, A. Leonardi, A. Pesce, M. Palumbo, N. Pecchioni, N. Virzì</i>	
Caratterizzazione di farine per la produzione di pane a ridotto contenuto di FODMAPs	274
<i>F. Galgano, A. Tramutola, T. Scarpa, M. Di Cairano, A. Lomonaco, N. Condelli, A. Reale</i>	
Applicazione di una metodologia statistica di selezione a intervalli per il monitoraggio dello stress climatico sulla produzione di composti volatili nel frumento	279
<i>R. De Flaviis, V. Santarelli, G. Sacchetti</i>	
Caratterizzazione di sfarinati ottenuti dalla macinazione di frumenti pigmentati e produzione di alimenti ad alto valore dietetico nutrizionale	283
<i>I. Gaeta, M.C. Messia, E. Marconi, M.C. Trivisonno, L. Falasca, P. De Vita</i>	

RELAZIONI ORALI

Frumenti antichi e popolazioni evolutive come tutela della biodiversità del genere *Triticum*: qualità della pasta integrale

O. Parenti^{1*}, C. Cattaneo², M. Laureati², F. Scazzina¹, M. Dall'Asta³, E. Chiavaro¹, E. Carini¹

¹Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco, Parco Area delle Scienze 27/A, Università degli Studi di Parma, 43124 Parma (PR).

²Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente, Università degli Studi di Milano, Via G. Celoria 2, 20133 Milano (MI).

³Dipartimento di Scienze Animali, della Nutrizione e degli Alimenti, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense 84, 29122 Piacenza (PC).

*E-mail: ottavia.parenti@unipr.it

Abstract

The interest for unrefined cereal products, and for ancient and traditional wheat varieties (AW) obtained also from evolutionary populations (EP) is increasing. 2 durum wheat AWs (*T. turgidum*) (S.CappellixSvevo (CS), S.Cappelli (C)), 1 *T. turanicum* AW (Khorasan (K)), 2 EPs (*T. turgidum*, *T. turanicum*) (Evoldur N ed F (EN, EF)) cultivated in the same growing season in Tuscany and one sample of modern durum wheat (*T. turgidum*) (CTR) were milled as coarse semolina and used for pasta-making using standardized processing conditions to obtain dry pasta (spaghetti), characterized for physico-chemical, nutritional e sensory properties. Pasta samples showed significant differences in chemical composition. Cooking significantly modified the relative abundances of macronutrients. The cooking properties of AW samples were similar to those of CTR. No significant differences were obtained in the overall liking of pasta samples evaluated by 80 consumers (affective test - ISO 11136:2014) which resulted extremely appreciated obtaining exceptionally high scores (>70 VAS scale). This study outlined the importance of studying wheat varieties alternative to the conventional ones to safeguard genus *Triticum* biodiversity, and to promote sustainability and nutritional quality of cereal-based products.

Riassunto

L'interesse per prodotti da cereali non raffinati e per le varietà antiche e tradizionali di frumento (AW), ottenute anche da popolazioni evolutive (EP), è in continuo aumento. 2 AW di frumento duro (*T. turgidum*) (S.Cappellix Svevo (CS), S.Cappelli (C)), 1 AW di *T. turanicum* (Khorasan (K)), 2 EP (*T. turgidum*, *T. turanicum*) (Evoldur N ed F (EN, EF)) coltivate in Toscana nella stessa annata e un campione di frumento duro moderno (*T. turgidum*) (CTR) sono stati macinati come semolato e pastificati nelle stesse condizioni per ottenere pasta secca (spaghetti), caratterizzata per le proprietà fisico-chimiche, nutrizionali e sensoriali. I campioni di pasta hanno mostrato differenze significative nella composizione chimica. La cottura ha modificato significativamente l'abbondanza relativa dei macronutrienti. Le proprietà in cottura dei campioni AW sono risultate paragonabili a quelle del campione CTR. Non sono emerse differenze significative in termini di gradimento tra i campioni di pasta valutati da 80 consumatori (metodo affettivo - ISO 11136:2014) che sono risultati particolarmente apprezzati ottenendo punteggi eccezionalmente alti (>70 scala VAS). Lo studio evidenzia l'importanza di studiare varietà di frumento alternative alle convenzionali per salvaguardare la biodiversità del genere *Triticum*, e promuovere la sostenibilità e la qualità nutrizionale dei prodotti cerealicoli.

Introduzione

Il frumento è uno dei cereali maggiormente diffusi al mondo; è capace di adattarsi a differenti condizioni ambientali, facile da conservare, e in grado di formare impasti visco-elastici (De Sousa et al., 2021). Il frumento include numerose specie caratterizzate da un differente livello di ploidia, alcune delle quali si sono evolute parallelamente in differenti aree geografiche (Boukid et al., 2017; De Sousa et al., 2021). Nonostante non ci sia una definizione ufficiale nella letteratura scientifica, il termine frumenti antichi fa riferimento a quelle varietà di frumento che sono rimaste inalterate durante gli ultimi cento anni (Dinu et al., 2018). Una

definizione più stringente classifica come frumenti antichi i progenitori del frumento moderno einkorn, emmer, Khorasan e spelta, mentre come varietà locali/tradizionali e vecchie varietà quei frumenti selezionati naturalmente e tramite selezione dell'uomo, che risultano geneticamente eterogenei, adattati a specifici ambienti, e che sono stati selezionati a metà del XX secolo (Boukid et al., 2017). Al contrario, le varietà moderne sono state notevolmente modificate e sottoposte a ibridazioni durante la Rivoluzione Verde del 1930-1960 (Boukid et al., 2017; Dinu et al., 2018). Nonostante questi programmi di selezione abbiano incrementato la resa e la qualità tecnologica del frumento, ne hanno diminuito la variabilità genetica, e le proprietà nutrizionali e nutraceutiche (Dinu et al., 2018). Quindi, negli ultimi anni, l'interesse per l'utilizzo di varietà antiche, vecchie e tradizionali di frumento per lo sviluppo di prodotti a base di cereali è in costante aumento (Boukid et al., 2017; Dinu et al., 2018; Guerrini et al., 2019). Alcune di queste varietà sono ad oggi coltivate come popolazioni evolutive (EP), un metodo agronomico introdotto da Souneson (1956) che consiste nel seminare nello stesso appezzamento una miscela di semi della generazione F1 o F2, incrociandoli tutti o specifiche combinazioni di essi, oppure seminare una miscela di semi di differenti varietà (Ceccarelli et al., 2020). I vantaggi agronomici di questo metodo includono l'aumento della resa, della stabilità della resa, e della resistenza alle malattie (Ceccarelli et al., 2020). Il regolamento EU 2018/848 definisce nuove opzioni per la disponibilità del materiale sementiero per i produttori di biologico, e include le EP all'interno della categoria materiale eterogeneo biologico. Tale regolamento molto probabilmente aumenterà la disponibilità e la coltivazione di EP in Europa (Spaggiari et al., 2022). Nonostante il crescente interesse per i prodotti a base di sfarinati non raffinati, essi mostrano problematiche tecnologiche e sensoriali, e la letteratura scientifica relativa all'impiego di frumenti da varietà antiche e tradizionali in trasformazione risulta limitata e ha evidenziato difficoltà legate alla qualità tecnologica (Guerrini et al., 2019). Tali difficoltà sono associate sia a fattori come genotipo, ambiente, condizioni agronomiche e loro interazioni, così come ai metodi di lavorazione, quale l'impiego di sfarinati non raffinati (Guerrini et al., 2019). Al contempo, scarsissime sono le informazioni sul potenziale impiego di frumenti da varietà antiche e tradizionali ottenute da popolazioni evolutive (EP) per lo sviluppo di prodotti alimentari (Spaggiari et al., 2022). Tra i prodotti a base di cereali, la pasta secca risulta un alimento ampiamente consumato in tutto il mondo grazie alla sua convenienza, versatilità, facile preparazione e conservazione, qualità nutrizionale e sensoriale, e lunga shelf-life. Inoltre, la pasta rappresenta un vettore ideale per ingredienti funzionali (Gazza et al., 2022). Quindi, considerando il rinnovato interesse del consumatore per prodotti a base di sfarinati non raffinati da varietà antiche e tradizionali di frumento (AW) e popolazioni evolutive (EP) e le limitate informazioni presenti a tal riguardo nella letteratura scientifica, l'obiettivo del presente studio è stato quello di determinare la qualità tecnologica, nutrizionale e sensoriale di 5 campioni di pasta integrale da AW e EP a confronto con un campione di pasta integrale da frumento duro moderno.

Materiali e metodi

Il frumento utilizzato per la sperimentazione è stato coltivato a Firenze (Toscana, Italia) nella stagione di crescita 2020-2021. Le varietà di frumento testate sono state le seguenti: Senatore Cappelli (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*) x Svevo (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*), Khorasan (*Triticum turanicum* ssp. *turanicum*), Senatore Cappelli (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*), e una popolazione evolutiva (Evoldur) evoluta in 2 differenti aziende. Evoldur è stata selezionata nel 2015 dal Professor Stefano Benedettelli dell'Università di Firenze incrociando i semi ottenuti da 11 varietà di frumento duro siciliano (*Triticum turgidum* L. ssp. *durum*) (Russello, Ruscia, Tunisina, Scavuzza, Urria, Inglese, Scorza Nera, Crotona, Chaittulidda e Bidì) e 2 varietà di *Triticum turanicum* ssp. *turanicum* ottenute dalla collezione USDA. La selezione è stata effettuata sulla base delle caratteristiche nutraceutiche delle varietà di frumento. Un blend di varietà di frumento duro coltivato in Italia è stato utilizzato per ottenere il campione di controllo. Le cariossidi dei campioni di frumento sono state macinate dal Molino Angeli (Pietrasanta, Lucca, Italia), utilizzando un molino a pietra per ottenere semolato come

prodotto finito in accordo con la legislazione italiana (GU n.117 del 22-05-2001). La pastificazione è stata effettuata dall'azienda Fabbri (Greve in Chianti, Firenze, Italia) ed è stato selezionato il formato degli spaghetti.

Le analisi effettuate sui campioni di pasta hanno incluso l'analisi della composizione centesimale (umidità, ceneri, grassi, proteine, fibra alimentare totale - TDF, e carboidrati disponibili) della pasta secca e cotta in accordo con i metodi ufficiali AOAC Internazionali 2002 per le matrici vegetali. La pasta cotta è stata sottoposta a liofilizzazione e successivamente macinata in un mixer per ottenere uno sfarinato. La valutazione della qualità della pasta in cottura è stata effettuata seguendo il metodo standard AACC 66-50.01 e ha previsto la determinazione del tempo ottimale di cottura (OCT), l'assorbimento di acqua (WA), la perdita in cottura (CL), e l'espansione in volume. L'analisi della texture è stata effettuata utilizzando il Texture Analyzer (Stable Micro Systems, Goldalming, UK) seguendo il metodo riportato da Padalino et al. (2014). Il colore dei campioni è stato misurato utilizzando un colorimetro (CM-36dG, Minolta Co., Osaka, Giappone). L'analisi sensoriale è stata condotta su 80 consumatori, abituati al consumo di cereali, bilanciati per genere (F=42, M=38), e di età media pari a 38.3 ± 12.9 anni. È stato eseguito un test di accettabilità complessiva dei campioni di pasta con metodo affettivo (ISO 11136:2014) utilizzando la scala VAS (0-100). I risultati rispetto alla qualità in cottura della pasta, alla composizione nutrizionale e all'analisi sensoriale sono stati analizzati mediante ANOVA a una via per stimare differenze significative ($p < 0.05$) tra i campioni di pasta dovuti alla tipologia di campione e Tukey HSD come post-hoc test. L'effetto della cottura è stato stimato mediante test t di Student ($p < 0.05$) su dati normalizzati per le perdite in cottura.

Risultati e discussione

La composizione chimica dei campioni di pasta cruda non ha evidenziato differenze significative in termini di ceneri e fibra, che si aggirano nei range 1.43 - 1.83 g/100 g ss e 4.23 - 5.19 g/100 g ss in accordo con la letteratura (Padalino et al., 2015). In accordo con la classificazione italiana (GU n.117 del 22-05-2001), i campioni di pasta sono risultati appartenenti alla categoria pasta integrale. Le proteine hanno mostrato un range 12.80 -16.82 g/100 g ss con le seguenti differenze significative tra i campioni: Evoldur-N > CTR and Svevo x S. Cappelli and S. Cappelli > Evoldur-F > Khorasan. Valori simili di proteine sono riportati nella letteratura (Padalino et al., 2015; Fares et al., 2008). I lipidi hanno avuto valori nel range 0.84 - 1.31 g/100 g ss, mostrando le seguenti differenze: CTR>Svevo x S. Cappelli, Evoldur-N, e S. Cappelli, mentre Khorasan ed Evoldur-F non hanno mostrato differenze significative. Un contenuto di lipidi maggiore è stato riportato dagli autori Hidalgo et al. (2020). Il processo di cottura ha mostrato un effetto significativo sul contenuto di proteine ($p < 0.001$), lipidi ($p < 0.001$), e ceneri ($p < 0.001$), mentre non sono state riscontrate differenze significative sulla TDF ($p > 0.05$). I dati mostrano un decremento significativo delle ceneri dopo la fase di cottura. Al contrario, i lipidi e le proteine hanno evidenziato un aumento significativo nei campioni cotti rispetto ai crudi. Tali risultati sono in accordo con quanto riportato da Manthey et al. (2007). L'aumento di proteine e lipidi è un effetto che può essere attribuito alla grande perdita di amido rispetto a tutti gli altri macronutrienti durante la cottura, che può risultare in un aumento relativo di altri componenti come lipidi e proteine (de la Pena et al., 2015). Considerando l'effetto della cottura sulla TDF, sebbene non sia emersa differenza significativa tra i campioni di pasta cotta e cruda, i risultati hanno mostrato andamenti differenti in funzione del tipo di pasta. I campioni S. Cappelli x Svevo ed Evoldur-N hanno mostrato un aumento di TDF dopo la cottura, mentre tutti gli altri campioni hanno mostrato una diminuzione di TDF. Fares et al. (2008) hanno riportato un aumento di TDF quando hanno considerato l'andamento della media dei dati ottenuti su 11 campioni di pasta differenti e hanno attribuito questa variazione ad una piccola diminuzione della frazione solubile di fibra (SDF) e a un aumento della frazione insolubile (IDF). Tuttavia, Fares et al. (2008) hanno evidenziato trend differenti di TDF tra le varietà testate in funzione del genotipo. I differenti comportamenti osservati tra i campioni del presente studio potrebbero essere attribuiti ad una diversa composizione chimica della materia prima in particolare delle frazioni SDF e IDF. I risultati delle analisi tecnologiche effettuate sui campioni

di pasta sono riportati in Tabella 1. Gli OCT hanno evidenziato valori compresi tra 18'30'' e 22'. Non sono emerse differenze significative tra i campioni di pasta in merito ai parametri espansione in volume e adesività. Il tipo di pasta ha avuto un effetto significativo sul WA ($p < 0.001$), CL ($p < 0.001$) e durezza ($p < 0.001$). Questi valori sono più elevati rispetto ai range generalmente riportati nella letteratura scientifica (Padalino et al., 2015; Hidalgo et al., 2020; Gazza et al., 2022). Per quanto riguarda il WA i campioni di pasta non hanno evidenziato differenze significative rispetto al campione di CTR, ad eccezione di S. Cappelli che ha mostrato un valore di WA significativamente minore e tale risultato è in accordo con Padalino et al. (2015). Considerando i dati di CL, il campione CTR ha mostrato il valore minore e nessuna differenza significativa rispetto ad esso è stata riscontrata per Evoldur-F ed S. Cappelli. Khorasan ha avuto il valore massimo di CL, e anche Svevo x Cappelli ed Evoldur-N hanno mostrato valori maggiori rispetto a CTR. Valori più elevati di CL da varietà antiche sono stati riscontrati anche da Gazza et al. (2022). In relazione alla texture, nessuna differenza significativa è stata riscontrata in S. Cappelli e Khorasan rispetto al CTR. Al contrario, valori di durezza significativamente inferiori sono stati osservati in Svevo x S. Cappelli, Evoldur-N, and Evoldur-F. Tali risultati sono in accordo con quanto riportato da Gazza et al. (2022). Nel complesso i dati relativi alle proprietà della pasta in cottura hanno evidenziato un'ottima qualità tecnologica dei campioni da AW ed EP che hanno mostrato valori dei parametri qualitativi molto simili rispetto al CTR.

Tabella 1. Qualità tecnologica dei campioni di pasta

<i>Campione</i>	<i>OCT</i>	<i>WA (%)</i>	<i>CL (%)</i>	<i>Espansione volume (%)</i>	<i>Durezza (N)</i>	<i>Adesività (Ns)</i>
CTR	22'	124,8 ± 1,4 ^{abc}	6,15 ± 0,11 ^c	157,9 ± 9,5 ^a	18,0 ± 0,6 ^{ab}	0,410 ± 0,052 ^a
Svevo x S. Cappelli	20'30''	125,3 ± 0,8 ^{ab}	7,01 ± 0,36 ^{ab}	149,3 ± 14,9 ^a	16,3 ± 0,7 ^c	0,354 ± 0,065 ^a
Evoldur-N	18'30''	120,6 ± 3,3 ^{cd}	7,13 ± 0,46 ^{ab}	136,4 ± 13,6 ^a	15,6 ± 1,3 ^c	0,357 ± 0,029 ^a
Khorasan	21'30''	122,5 ± 1,2 ^{bcd}	7,36 ± 0,66 ^a	141,4 ± 5,9 ^a	17,2 ± 0,7 ^{bc}	0,368 ± 0,046 ^a
Evoldur-F	21'	127,9 ± 3,0 ^a	6,46 ± 0,16 ^{bc}	140,4 ± 7,7 ^a	16,2 ± 0,9 ^c	0,323 ± 0,049 ^a
S. Cappelli	21'	119,4 ± 2,4 ^d	6,65 ± 0,29 ^{bc}	138,4 ± 14,1 ^a	19,0 ± 0,8 ^a	0,360 ± 0,021 ^a
p-value	nd	***	***	ns	***	ns

I risultati relativi all'analisi sensoriale sono riportati in Tabella 2. I dati mostrano come i campioni non siano risultati differenti in termini di accettabilità complessiva ($p > 0.05$) e come i punteggi ricevuti siano stati attorno a una media di 70 sulla scala VAS. Questo punteggio risulta eccezionalmente alto a confronto con valori di accettabilità generalmente ottenuti su campioni alimentari.

Tabella 2. Analisi sensoriale dei campioni di pasta

<i>Campione</i>	<i>N</i>	<i>Gradimento</i>	<i>Deviazione standard</i>	<i>Errore standard</i>
Svevo x S. Cappelli	80	74,4	20,7	2,31
Evoldur-N	80	76,4	19,3	2,16
Khorasan	80	73,1	19,7	2,20
Evoldur-F	80	69,9	21,9	2,45
S. Cappelli	80	70,8	19,8	2,22
p-value	–	ns	–	–

Ringraziamenti

In conclusione, lo studio ha riportato risultati promettenti in merito alla possibilità di utilizzare materie prime alternative rispetto ai frumenti moderni attuali per lo sviluppo di pasta integrale di elevata qualità tecnologica, nutrizionale e sensoriale.

Lo studio è stato effettuato nell'ambito del progetto OnFoods project (www.onfoods.it).

Bibliografia

- Boukid F., Folloni S., Sforza S., Vittadini E., Prandi B. 2017. Current Trends in Ancient Grains-Based Foodstuffs: Insights into Nutritional Aspects and Technological Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12315>
- Ceccarelli S., Grando S. 2020. Evolutionary Plant Breeding as a Response to the Complexity of Climate Change. *IScience*, 23(12), 101815. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101815>
- de Sousa T., Ribeiro M., Sabeñca C., Igrejas G. 2021. The 10,000-year success story of wheat! *Foods*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/foods10092124>
- de la Pena E., Ohm J.B., Simsek S., Manthey F.A. 2015. Physicochemical changes in nontraditional pasta during cooking. *Cereal Chemistry*, 92(6), 578-587. <https://doi.org/10.1094/CCHEM-01-15-0014-R>
- Dinu M., Whittaker A., Pagliai G., Benedettelli S., Sofi F. 2018. Ancient wheat species and human health: Biochemical and clinical implications. In *Journal of Nutritional Biochemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.09.001>
- Englyst K. N., Englyst H. N., Hudson G. J., Cole T. J., Cummings J. H. 1999. Rapidly available glucose in foods: An in vitro measurement that reflects the glycemic response. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69(3), 448-454. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.3.448>
- Fares C., Codianni P., Nigro F., Platani C., Scazzina F., Pellegrini N. 2008. Processing and cooking effects on chemical, nutritional and functional properties of pasta obtained from selected emmer genotypes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(14), 2435-2444. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3350>
- Gazza L., Galassi E., Nocente F., Natale C., Taddei F. 2022. Cooking Quality and Chemical and Technological Characteristics of Wholegrain Einkorn Pasta Obtained from Micronized Flour. *Foods*, 11(18). <https://doi.org/10.3390/foods11182905>
- Guerrini L., Parenti O., Angeloni G., Zanoni B. 2019. The bread making process of ancient wheat: A semi-structured interview to bakers. *Journal of Cereal Science*, 87, 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.02.006>
- Hidalgo A., Alamprese C., Marti A., Galli S., Terno A. B., Brandolini A. 2020. Nutritional and technological properties of non-traditional einkorn (*Triticum monococcum*) wheat pasta. *Lwt*, 133(June), 109932. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109932>
- Manthey F. A., Hall C. A. 2007. Effect of processing and cooking on the content of minerals and protein in pasta containing buckwheat bran flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(11), 2026-2033. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2953>
- Padalino L., Mastromatteo M., Lecce L., Spinelli S., Conte A., Del Nobile M. A. 2015. Effect of raw material on cooking quality and nutritional composition of durum wheat spaghetti. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(3), 266-274. <https://doi.org/10.3109/09637486.2014.1000838>
- Suneson C. A. 1956. An Evolutionary Plant Breeding Method. *Agronomy Journal*, 6, 1-4.

Qualità nutrizionale e tecnologica di pasta integrale di monococco ottenuta da sfarinato micronizzato

L. Gazza^{1*}, E. Galassi¹, F. Taddei¹, C. Natale^{1,2}, R. Mortaro¹, L. Sereni¹, E. Gosparini¹, V. Del Frate¹, A. Arcangeli¹, C. Cecchini¹, F. Nocente¹

¹Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di Ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Via Manziana 30, 00189 Roma (RM).

²Università di Roma Campus Bio-Medico, via Alvaro del Portillo 21, 00128 Roma (RM).

*E-mail: laura.gazza@crea.gov.it

Abstract

The increased demand for healthier foods, the recognition of dry pasta as an ideal carrier of functional ingredients and the current interest for ancient wheats such as einkorn, motivated the present research. Two varieties of *Triticum monococcum*, Norberto and the free-threshing Hammurabi, were milled by ultra-fine milling process (micronization) to produce wholegrain spaghetti. Einkorn pasta was assessed in terms of technological and nutritional properties, cooking and sensorial quality and compared to durum wheat semolina pasta. Wholewheat einkorn pasta showed a threefold increase in total dietary fibre content as well as in total antioxidant capacity in comparison to the control. The level of resistant starch in cv Norberto resulted significantly higher with respect to semolina and einkorn cv Hammurabi pasta. Despite the very weak einkorn gluten network, the sensory and instrumental assessment of pasta quality highlighted that einkorn spaghetti presented good sensorial properties, related to their technological quality, especially for the overall judgment and firmness. Cultivar Hammurabi has provided the best compromise in terms of technological performances along with nutritional and sensorial aspects.

Riassunto

L'attuale interesse per le antiche specie di frumento, per la produzione di cibi più salutari e sostenibili insieme al riconoscimento della pasta secca come mezzo ottimale per veicolare composti salutistici, hanno motivato la presente ricerca inerente alla produzione di pasta integrale di grano monococco. Due varietà di *Triticum monococcum*, Norberto e Hammurabi, sono state coltivate in regime di bassi input di concimazione e la granella ottenuta è stata macinata mediante un processo di macinazione ultrafine (micronizzazione) per produrre sfarinati integrali, con cui sono stati formulati gli spaghetti essiccati mediante un diagramma a bassa temperatura. La qualità tecnologica, nutrizionale e sensoriale della pasta di monococco dopo la cottura è stata confrontata con la pasta di semola di grano duro. Nonostante l'indice di glutine molto basso, seppur con un alto contenuto proteico, riscontrato nel monococco, la valutazione sensoriale e strumentale della qualità in cottura della pasta ha evidenziato le buone caratteristiche degli spaghetti integrali di monococco, in particolare per il parametro del nervo. La cultivar Hammurabi è risultata come il miglior compromesso tra le prestazioni tecnologiche e le caratteristiche nutrizionali e sensoriali.

Introduzione

La pasta secca è un alimento molto popolare in tutto il mondo per la sua economicità, versatilità, e facilità di conservazione, e come tale, rappresenta un mezzo ottimale per veicolare composti salutistici e funzionali. Soprattutto il settore della pasta integrale sta guadagnando sempre più attenzione, ma nonostante le numerose evidenze scientifiche del loro maggiore valore nutritivo, il consumo di cereali integrali è ancora al di sotto delle attuali raccomandazioni alimentari. Ciò è dovuto anche agli effetti negativi delle parti cruscali sulla reologia dell'impasto e sulla qualità tecnologica e sensoriale dei prodotti finiti. La micronizzazione è un processo che consente di

ottenere uno sfarinato integrale molto fine che ne consente una migliore processabilità preservando le proprietà nutrizionali, salutistiche e tecnologiche degli sfarinati integrali, offrendo quindi al consumatore alimenti di buona qualità e migliore palatabilità. Inoltre, l'attuale interesse per le antiche specie di *Triticum*, come il farro dicocco, il monococco e lo spelta, è motivato non solo dalla crescente domanda di alimenti più salutari, ma anche dall'urgente necessità di un sistema di produzione agricola più sostenibile. Il monococco, *Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*, specie diploide con genoma A^mA^m (2n=2x=14), è stata la specie di grano più antica ad essere coltivata, progressivamente sostituita dalle specie di frumento oggi più diffuse, quali il grano tenero e duro, a seme nudo e più produttive. Oggi la sua coltivazione è limitata ad aree marginali dell'Europa, Turchia, Caucaso e Marocco, dove recentemente è stata reintrodotta grazie al suo adattamento a terreni poveri e marginali, ad un'agricoltura a basso input, alla tolleranza e resistenza naturale a parassiti e malattie, alle buone proprietà organolettiche e per il suo peculiare valore nutrizionale, compresa la digeribilità del suo glutine (Gazza *et al.*, 2023). In questo lavoro, gli sfarinati integrali ottenuti dalla micronizzazione delle cariossidi di due cultivar di monococco, costituite dal CREA-IT, Norberto e Hammurabi, sono stati utilizzati per la produzione di spaghetti che, dopo cottura, sono stati caratterizzati dal punto di vista tecnologico e nutrizionale.

Materiali e metodi

Le due cultivar di monococco (Figura 1), Hammurabi, a cariossidi nuda, e Norberto, a cariossidi vestita, sono state coltivate da Horta® in aziende agricole della Regione Marche con tre diverse tesi (T) di concimazione: 1) 0 Unità N/ha (T1/T6); 2) 60 Unità N/ha in fase di accestimento (T2/T7); 3) 60 Unità N/ha in fase di levata (T4/T8). Lo sfarinato integrale micronizzato è stato ottenuto macinando le cariossidi intere con un dispositivo KMX-500 (Separ Microsystem), ad una frequenza di 170Hz. La pastificazione è stata effettuata utilizzando una pressa sperimentale (NAMAD) per ottenere spaghetti (Ø 1,65 mm). Le paste sono state essiccate con un ciclo a bassa temperatura (T max= 58°C per circa 21 ore) e una diminuzione progressiva dell'umidità relativa dall'85% al 70% durante l'intero processo di essiccazione. Il contenuto di umidità finale degli spaghetti essiccati era del 12,5%. Sulle paste cotte sono stati determinati: amido resistente e amido totale, fibra alimentare totale, proteine totali, contenuto in ceneri, fruttooligosaccaridi e capacità antiossidante totale come riportato in Gazza *et al.* (2022). Le paste, inoltre, sono state sottoposte a cottura per la determinazione del tempo ottimale di cottura, della Sostanza Organica Totale, dell'assorbimento idrico, della perdita in cottura e del nervo mediante Texture Analyser (TAXT) (Gazza *et al.*, 2022). Sulle paste è stata inoltre condotta l'analisi sensoriale, eseguita da un panel di tre assaggiatori esperti ed addestrati che ne hanno valutato collosità, nervo e ammassamento e fornito un giudizio globale (Gazza *et al.*, 2022). Tutti i dati sono stati corretti rispetto al peso secco e sono stati riportati come media di due repliche indipendenti. I dati sperimentali sono stati sottoposti all'analisi della varianza ANOVA seguita dal test di Duncan (p<0,05) mediante il software MSTATC.

Risultati e discussione

Il contenuto proteico della pasta della cv Hammurabi è risultato in media di 19,3%, quasi un punto percentuale in più rispetto alla media dei campioni di pasta della cv Norberto (Tab. 1) e significativamente più elevato della pasta di semola di grano duro coltivato in convenzionale usata come controllo (13,3%), confermando l'altissimo contenuto proteico della specie *T. monococcum* anche in una gestione agricola a basso input di concimazione.

Tabella 1. Analisi nutrizionale delle paste cotte e indice di glutine degli sfarinati integrali delle cvs di monococco Hammurabi e Norberto, e della pasta di semola.

Varietà	Tesi	Proteine (%)	RS (%)	Fibre (%)	FOS (%)	TAC (mmol TEAC/kg)	Gluten Index
Hammurabi	T1	19,10±0,07 ^{bB}	0,276±0,002 ^{dB}	10,1±0,3 ^{aA}	1,11±0,03 ^{cB}	69,7±0,5 ^{bB}	0 ^c
	T2	19,0±0,1 ^{bC}	0,398±0,005 ^{cA}	10,2±1,3 ^{aA}	1,01±0,01 ^{dC}	66±1 ^{cC}	0 ^c
	T4	19,70±0,03 ^{aA}	0,28±0,01 ^{dB}	9,5±0,4 ^{aA}	1,16±0,02 ^{bA}	74,1±0,7 ^{aA}	0 ^c
Norberto	T6	18,3±0,2 ^{dB}	0,80±0,02 ^{bB}	10,21±0,08 ^{aA}	1,3±0,2 ^{aA}	62,4±0,7 ^{dB}	52±1 ^{bA}
	T7	18,10±0,04 ^{eB}	0,792±0,003 ^{bB}	10,0±0,2 ^{aAB}	1,29±0,02 ^{aA}	64,2±0,5 ^{cdB}	49±1 ^{cB}
	T8	18,8±0,1 ^{cA}	0,85±0,02 ^{aA}	9,8±0,2 ^{aB}	0,97±0,07 ^{dB}	72±2 ^{aA}	42,5±0,5 ^{dB}
Semola		13,3 ^f	0,38 ^c	3,6 ^b	1,3 ^a	46,8 ^e	95 ^a

T1/T6: 0 Unità N/ha; T2/T7: 60 Unità N/ha in fase di accostamento; T4/T8: 60 Unità N/ha in fase di levata. I risultati sono espressi come media ± deviazione standard. Le differenze significative ($p \leq 0,05$) tra le tesi sono indicate da lettere minuscole; le differenze significative ($p \leq 0,05$) all'interno della stessa varietà sono indicate da lettere maiuscole (Test di Duncan).

Da notare che a fronte di un contenuto proteico molto elevato, l'indice di glutine della cv Hammurabi è sostanzialmente nullo, mentre quello derivante dalla cv Norberto è in media di circa 45 attestandosi nella classe di qualità sufficiente. La pasta della cv Norberto ha mostrato, in media, un contenuto di amido resistente (RS) significativamente più elevato (+ 110%), rispetto alla pasta di semola, e addirittura fino a + 190% se confrontata con la cv Hammurabi (Tab. 1). È interessante notare che 100 g di pasta di monococco analizzati in questo studio contenevano più di 6 g di fibre alimentari totali (TDF) (Tab. 1), corrispondenti a circa il 40% della RDA per un adulto (25 g/die), e potrebbero essere definiti come “ad alto contenuto di fibre” secondo il regolamento UE n. 1047/2012. Il livello di capacità antiossidante totale (TAC) era significativamente più alto (+43%, in media) nella pasta di monococco rispetto alla pasta di semola (Tab. 1), con i valori più alti riscontrati nella cv Hammurabi. Gli elevati valori di TAC riscontrati in *T. monococcum*, significativamente maggiori rispetto a quelli riscontrati nel grano duro, sono probabilmente dovuti alla presenza di composti antiossidanti come tocoli e carotenoidi presenti in quantità maggiori in *T. monococcum* (Hidalgo e Brandolini, 2024). I fruttooligosaccaridi (FOS) possono essere utilizzati come substrati fermentabili per i microrganismi probiotici, fornendo quindi effetti prebiotici. Nel frumento, il livello di FOS è massimo nei chicchi allo stadio lattiginoso, successivamente la loro concentrazione si riduce rapidamente. Negli spaghetti di monococco, il contenuto di FOS è risultato essere in media di 1,2% (Tab. 1), non significativamente diverso dal controllo della pasta di semola (1,29%). Tali valori potrebbero sembrare piuttosto bassi, ma il frumento fornisce circa il 70% dei fruttani nelle diete occidentali.

Il diametro della pasta prima della cottura era simile per tutti i campioni, compreso tra 1,52 e 1,66 mm (Tab. 2). La variazione del diametro osservata in diverse zone degli spaghetti potrebbe essere attribuita alla superficie ruvida dovuta all'alto contenuto di particelle di fibre, osservato nella pasta integrale di monococco e anche al basso indice di glutine dei campioni di monococco, soprattutto nella cv Hammurabi.

Tabella 2. Parametri della qualità in cottura delle paste cotte di monococco Hammurabi (H) e Norberto (N).

Campione	Diametro spaghetti mm	OCT (min/sec)	Assorbimento H ₂ O(g)	SOT (%)	CL (%)	TAXT (Kg)
T1 (H)	1,52-1,64	7' 00" ± 5" ^{fC}	112,4 ^{cB}	2,06±0,01 ^{aA}	10,7±0,3 ^{aA}	0,33±0,02 ^{cA}
T2 (H)	1,55-1,61	7' 40" ± 5" ^{cA}	113,0 ^{cB}	1,89±0,03 ^{bB}	9,5±0,1 ^{bB}	0,293±0,007 ^{dB}
T4 (H)	1,56-1,68	7' 10" ± 5" ^{eB}	127,9 ^{aA}	2,06±0,01 ^{aA}	10,4±0,1 ^{aA}	0,34±0,03 ^{cA}
T6 (N)	1,60-1,68	8' 00" ± 5" ^{bB}	108,1 ^{dB}	1,65±0,03 ^{cA}	8,8±0,1 ^{cA}	0,63±0,03 ^{aA}
T7 (N)	1,56-1,66	7' 30" ± 5" ^{dC}	78,5 ^{eC}	1,7±0,1 ^{cA}	7,9±0,1 ^{dB}	0,48±0,04 ^{bB}
T8 (N)	1,58-1,72	8' 10" ± 5" ^{aA}	123,4 ^{bA}	1,62±0,04 ^{cA}	6,9±0,3 ^{cC}	0,50±0,04 ^{bB}

T1/T6: 0 Unità N/ha; T2/T7: 60 Unità N/ha in fase di accettazione; T4/T8: 60 Unità N/ha in fase di levata. I risultati sono espressi come media ± deviazione standard. Le differenze significative ($p \leq 0,05$) tra le tesi sono indicate da lettere minuscole; le differenze significative ($p \leq 0,05$) all'interno della stessa varietà sono indicate da lettere maiuscole (Test di Duncan).

La debolezza della maglia glutinica spiega anche la riduzione del tempo ottimale di cottura (OCT) osservato negli spaghetti di monococco, rispetto alla pasta di semola (10'30'', in media). La riduzione dei tempi di cottura è dovuta anche ad un minore assorbimento d'acqua per la pasta di monococco. Infatti, è stato osservato un significativo decremento dell'assorbimento di acqua nella pasta di monococco, rispetto al controllo (148,6 g), come già osservato in altri alimenti arricchiti di crusca, poiché la fibra assorbe meno acqua rispetto all'amido. Gli spaghetti integrali di Hammurabi presentavano il più alto livello di materia organica (SOT) sulla loro superficie (Tab. 2), anche questo dovuto all'alto contenuto di fibre, che disordina la rete amido/glutine con conseguente rilascio di più amido durante la cottura della pasta. Valori di SOT compresi tra 2,1 e 1,4% corrispondono a pasta di buona qualità, e tutti i campioni di pasta valutati nel presente studio rientrano in questo intervallo. La pasta di monococco ha mostrato un aumento della perdita di sostanza organica in cottura (CL) rispetto al controllo (Tab. 2). Il valore di perdita di cottura più alto è stato per i campioni di pasta T1 e T4 di Hammurabi, mentre i campioni di pasta Norberto avevano una perdita in cottura significativamente più bassa. La maggiore perdita in cottura nella pasta di monococco rispetto a quella di semola di grano duro (3,67%) è ancora una volta attribuibile ad un glutine più debole. La tenacità degli spaghetti cotti, come rivelato dall'analisi TAXT, era significativamente più alta nella cv Norberto rispetto ad Hammurabi, forse a causa del più alto contenuto di amido resistente di questa cultivar. Nervo, collosità e ammassamento degli spaghetti sono i parametri sensoriali più legati alla loro qualità tecnologica e sono quelli che i consumatori tengono maggiormente in considerazione per decretare una pasta di buona qualità. I punteggi migliori per collosità (80), nervo (75) e giudizio complessivo (72) sono stati registrati, come previsto, per il controllo della pasta di semola (Tab.3); ciò potrebbe essere correlato alla debole rete glutinica della farina integrale proveniente dalle varietà di monococco, che non è in grado di contrastare il rilascio di amido durante la cottura della pasta. Per quanto riguarda il giudizio sensoriale globale, le paste integrali di monococco hanno raggiunto in media il valore di 68 evidenziando una "buona" qualità degli spaghetti, nella stessa classe di qualità della pasta di semola di grano duro utilizzata come controllo (Tab.3).

Tabella 3. Valutazione sensoriale della pasta di monococco Hammurabi (H) e Norberto (N) e di semola.

Campione	Collosità	Nervo	Ammassamento	Giudizio globale
T1 (H)	75 ^a	55 ^d	75 ^a	68 ^c
T2 (H)	70 ^b	70 ^b	75 ^a	72 ^b
T4 (H)	70 ^b	50 ^e	70 ^b	63 ^d
T6 (N)	75 ^a	75 ^a	75 ^a	75 ^a
T7 (N)	60 ^d	60 ^c	60 ^c	60 ^{de}
T8 (N)	65 ^c	75 ^a	70 ^b	70 ^{bc}
Semola	80 ^a	75 ^a	70 ^b	72 ^b

Collosità e ammassamento, ≤ 20 = molto elevata, >20 e ≤ 40 = elevata, > 40 e ≤ 60 = rara, > 60 e ≤ 80 = quasi assente, > 80 e ≤ 100 = assente; per il nervo ≤ 20 = assente, >20 e ≤ 40 = rara, > 40 e ≤ 60 = sufficiente, > 60 e ≤ 80 = buona, > 80 e ≤ 100 = molto buona; per il Giudizio Sensoriale Globale < 55 = scarso, ≥ 55 e < 65 = sufficiente, ≥ 65 e < 75 = buono, ≥ 75 = molto buono. Lettere differenti nella stessa colonna indicano una differenza significativa ($p \leq 0,05$) (Test di Duncan).

In conclusione, le formulazioni di pasta integrale 100% monococco hanno mostrato un alto contenuto in fibre in tutte le formulazioni, mentre le proteine sono risultate più alte nelle paste della varietà Hammurabi, seppur con un indice di glutine pari a zero. L'amido resistente è risultato decisamente più elevato nelle formulazioni derivanti dalla varietà Norberto (0,81 vs 0,32 %) e la TAC delle paste cotte di monococco in media è risultata superiore di circa il 45% rispetto alla pasta di semola integrale micronizzata. I giudizi sensoriali globali del panel test delle tre formulazioni di pasta derivanti dalla varietà Hammurabi (67,7 in media) e dalla varietà Norberto (68,3 in media) sono piuttosto simili, anche se la varietà Norberto si è dimostrata con un nervo superiore sia all'analisi strumentale (TAXT) che a quella sensoriale. Tuttavia, la cv Hammurabi ha fornito il miglior compromesso in termini di prestazioni tecnologiche e aspetti nutrizionali e sensoriali. Le differenze significative registrate nelle diverse tesi di concimazione pongono l'attenzione sulle dosi e sulla tempistica delle fertilizzazioni. Le differenze osservate tra la pasta della cv Norberto e quella della cv Hammurabi hanno evidenziato l'importanza della scelta del genotipo per ottenere prodotti con caratteristiche adeguate che possano incontrare il gradimento dei consumatori di pasta integrale.

Bibliografia

- Hidalgo A., Brandolini A. 2014. Nutritional properties of einkorn wheat (*Triticum monococcum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94: 601-612.
- Gazza L., Hidalgo A., Brandolini A. 2023. A high protein ancient wheat species: Einkorn. *Journal of Cereal Science*, 114: 103790.
- Gazza L., Galassi E., Nocente F., Natale C., Taddei F. 2022. Cooking quality and chemical and technological characteristics of wholegrain einkorn pasta obtained from micronized flour. *Foods*, 11: 2905.

Tracciabilità nella filiera produttiva della pasta: un approccio altamente processivo basato sull'analisi degli SNPs

G. Metelli¹, M. Bonarrigo¹, E. Blasi², A. Marucci¹, F. Sestili¹, S. Masci^{1}*

¹Dipartimento di Scienze Agrarie e Forestali (DAFNE), Università della Tuscia, Via S. Camillo de Lellis, snc 01100 Viterbo (VT).

²Dipartimento per la innovazione nei sistemi biologici, agroalimentari e forestali (DIBAF), Università della Tuscia, Via S. Camillo de Lellis, snc 01100 Viterbo (VT).

*E-mail: masci@unitus.it

Abstract

The University Consortium for Socioeconomic and Environmental Research (CURSA) has launched a project aimed at enhancing the Italian pasta supply chain through digitalisation, following Industry 4.0 guidelines. One key objective is improving traceability by assessing the varietal composition of wheat at critical points in the supply chain. A novel method using Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) was developed to distinguish wheat varieties. This process involved an initial survey of the most commonly grown Italian varieties, followed by an SNP analysis using the Illumina Infinium 7K wheat array (TraitGenetics, Germany). An algorithm, **SNPs_finder**, was created to identify the minimum number of SNPs needed for varietal discrimination, leading to the selection of 24 SNPs. Samples from key stages in the supply chain, such as harvesting and milling, will be analysed using the Biomark X9 system (Standard BioTools, USA). Another algorithm, **Wheat_Line_Finder**, helps determine the varietal composition of samples based on SNP data. This high-throughput system can discriminate varieties in a blend, with future work focusing on estimating the percentage composition of varieties. The project is funded by the Italian Ministry of University and Research as part of the 2021 decree on university funding.

Riassunto

Il Consorzio Universitario per la Ricerca Socioeconomica e Ambientale (CURSA) ha avviato un progetto volto a migliorare la digitalizzazione della filiera italiana della pasta, seguendo le linee guida del programma Industria 4.0. Uno degli obiettivi principali è migliorare la tracciabilità attraverso la valutazione della composizione varietale del grano nei punti chiave della filiera. È stato sviluppato un nuovo metodo basato sui Polimorfismi a Singolo Nucleotide (SNPs) per distinguere le varietà di grano. Il processo ha incluso una prima indagine sulle varietà maggiormente coltivate in Italia, seguita dalla genotipizzazione degli SNP utilizzando Illumina Infinium 7K wheat array (TraitGenetics, Germany). È stato creato un algoritmo, **SNPs_finder**, per identificare il numero minimo di SNP necessari per discriminare le varietà, portando alla selezione di 24 SNP comuni a tutte le varietà. I campioni provenienti da fasi chiave della filiera, come la raccolta e la macinazione, saranno analizzati con il sistema Biomark X9 (Standard BioTools, USA). Un altro algoritmo, **Wheat_Line_Finder**, aiuta a determinare la composizione varietale dei campioni in base ai dati SNP. Questo sistema ad alta processività permette di discriminare le varietà in una miscela, con l'obiettivo futuro di stimare la percentuale di composizione delle varietà all'interno dei blend. Il progetto è finanziato dal Ministero dell'Università e della Ricerca (MUR) nell'ambito del decreto del 2021 sui finanziamenti ordinari alle università.

Introduzione

Attualmente i consumatori prestano sempre più attenzione alla qualità e all'origine dei prodotti (Vitale et al., 2021). La curiosità di provare nuovi sapori, soprattutto delle generazioni più giovani, non riesce ancora a superare la preferenza d'acquisto di cibi principalmente italiani o

comunque di origine nazionale, retaggio ancora molto radicato di una cultura storicamente contadina e rurale (Mattarello et al., 2024).

Il grano è la terza coltura per produzione al mondo dopo canna da zucchero e mais. L'Italia è il secondo paese per produzione di grano e il grano duro occupa solo il 5% della produzione totale (*World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2023*).

Il grano duro è principalmente utilizzato per la produzione di pasta e, in alcune regioni del bacino Mediterraneo, anche per la produzione di pane e altri lievitati.

Pane e pasta sono i principali prodotti della cucina italiana e rientrano tra quei prodotti la cui origine e informazioni riguardo la materia prima sono oggetto di attenzione da parte dei consumatori. Perciò, il crescente interesse sull'alimentazione in generale e sulla salubrità in particolare, con maggiore risalto riguardo la provenienza geografica delle materie prime utilizzate, ha portato alla necessità di perseguire l'obiettivo di una solida tracciabilità delle materie prime stesse all'interno delle catene di produzione del cibo.

Il progetto CURSA 4.0 si inserisce in questo settore come collegamento tra le molteplici figure attive nella filiera della pasta secca che in Italia, come stabilito dal D.P.R. n. 187/2001, può essere solamente prodotta con semola di grano duro.

La possibilità di tracciare l'elemento alla base delle catene di produzione resta un obiettivo perseguibile e da perseguire nell'ottica di migliorare la sicurezza alimentare e garantire elevati standard qualitativi (Cibecchini et al., 2020). In particolare, tracciare il frumento duro (*Triticum turgidum* sp.) dalla semina fino allo scaffale del supermercato, passando attraverso le fasi di raccolta e molitura, diventa di fondamentale importanza per poter dare la giusta rilevanza ad ogni figura lavorativa che interviene nel processo, fino ad assicurare la qualità, e quindi il giusto prezzo del prodotto acquistato anche al consumatore finale (Anastasiadis et al., 2021).

Attualmente l'Italia, infatti, appronta un'attività di tracciamento basata solo su iniziative dei privati coinvolti nella *food economy* e non ha un vero e proprio regolamento nazionale, se non per quanto concerne le direttive che provengono dagli organi di controllo europei (Charlebois et al., 2024).

L'utilizzo delle tecnologie biomolecolari come strumenti più puntuali e precisi da implementare nei processi di tracciabilità (Oddone et al., 2009), basato in questo caso sul riconoscimento degli SNPs, è applicabile alle catene di produzione per tracciare le materie prime lungo l'intero processo produttivo fino al prodotto finale.

Materiali e metodi

Sono state selezionate e raccolte cento varietà certificate di frumento tra le più coltivate in Italia. Sono state fatte germinare tutte le varietà ed è stato raccolto un campione di foglia per ciascuna. I campioni sono stati liofilizzati e spediti al servizio di genotipizzazione 7K basato sull'Illumina Infinium Array gestito dalla ditta TraitGenetics (Gatersleben, Germania). Questo array permette di analizzare 6707 SNPs distribuiti in tutto il genoma del frumento.

I dati riguardanti la genotipizzazione sono stati strutturati e gestiti utilizzando il software Plink (v1.90), TASSELL (v5.0) e il linguaggio di programmazione R (Bradbury et al., 2007; Chang et al., 2015; R Core Team, 2024).

I dati sono stati filtrati eliminando tutte le *probes* che mappavano su porzioni del genoma D del frumento tenero; sono state eliminate anche tutte le *probes* che mappavano sulla stessa identica posizione sui genomi A e B del frumento duro; infine sono state eliminate tutte quelle *probes* che per qualunque varietà avessero un valore mancante e quelle che, per tutte le varietà, avevano la medesima variante allelica.

È stato sviluppato un algoritmo in R, SNPs_finder, per estrapolare il minimo numero di SNPs in grado di discriminare tutte le varietà facenti parte del database.

Successivamente è stato sviluppato un altro algoritmo, Wheat_Line_Finder, che permette di identificare un campione ignoto partendo dalla composizione allelica degli SNPs selezionati da SNPs_finder.

È stato estratto il DNA, tramite kit NucleoMag Plant della Machaery Nagel (Germania), dalle varietà certificate per poterlo confrontare con i dati ricevuti dalla TraitGenetics.

Il confronto degli SNP è stato svolto attraverso l'utilizzo di un'analisi PCR di tipo competitivo che sfrutta la variante allelica presente nella regione d'interesse come elemento esclusivo per l'ibridazione del primer e quindi l'amplificazione selettiva della regione con la variante allelica presente. L'identificazione della variante avviene tramite una lettura fluorimetrica. Il BiomarkX9 della Standard Biotech (USA) è lo strumento utilizzato per questo procedimento. Lo strumento ha la possibilità di analizzare fino a 192 campioni contemporaneamente, che vengono fatti reagire, in singole reazioni, con 24 saggi, ognuno specificatamente definito sulla regione d'interesse che possiede la variante allelica discriminante scelta.

Risultati e discussione

Con il servizio di genotipizzazione Illumina Infinium Array wheat 7K sono state analizzate 6707 varianti alleliche del genoma di frumento duro nelle 100 varietà analizzate.

A seguito del filtraggio del database, gli SNPs che sono stati valutati idonei al processo successivo e che sono stati quindi utilizzati sono 2605.

L'algoritmo SNPs-finder, capace di estrapolare il numero minimo di SNPs in grado di discriminare tutte le 100 varietà genotipizzate, ha definito 24 SNP. La sequenza ordinata di questi 24 SNPs, riportante, per ciascuna varietà, la variante allelica riscontrata, è stata utilizzata per la determinazione del database di riferimento.

L'analisi di comparazione svolta con lo strumento BiomarkX9 ha confermato le varianti alleliche per ognuna delle varietà selezionate. Questo è stato possibile utilizzando il Wheat_Line_Finder, che è il secondo algoritmo sviluppato. L'algoritmo confronta la sequenza di riferimento di ogni varietà annotata con la sequenza risultante dall'analisi svolta con il BiomarkX9 per ognuno dei 192 campioni analizzati. Se il campione è composto da una singola varietà, di cui abbiamo già la sequenza di riferimento, l'algoritmo genera come risultato il nome dell'unica varietà che ha la stessa sequenza di varianti alleliche del campione analizzato. Se il campione è composto da due o più varietà, durante l'analisi, alcuni SNPs potrebbero risultare eterozigoti, ovvero l'analisi rileverà la presenza di entrambe le varianti alleliche possibili per uno o più SNPs. L'algoritmo genererà come risultato l'elenco delle varietà che condividono le stesse varianti alleliche, per gli SNPs risultanti omozigoti, e che invece hanno varianti alleliche differenti per gli SNPs risultanti eterozigoti.

La tracciabilità del frumento duro avviene tipicamente tramite l'analisi dei profili gliadinici e gluteninici delle varietà conferite prima della macinazione. Il processo prevede l'utilizzo di reagenti pericolosi e costosi, grande investimento in termini di tempo necessario alla preparazione del campione e all'analisi delle corse elettroforetiche e in ultimo, anche grande incertezza nella definizione varietale data dalla scarsa biodiversità in termini di composizione del glutine delle varietà moderne (Taranto et al., 2020).

Altre tecnologie sono attualmente disponibili per lo stesso procedimento di discriminazione, sempre basate su analisi molecolari (Cibecchini et al., 2020; Gao et al., 2016; Giancaspro et al., 2016; Morcia et al., 2020), ma la bassa processività li rende poco appetibili in attività di certificazione direttamente applicati ai processi di filiera. Il Biomark X9 riduce notevolmente il tempo di analisi, l'utilizzo dei reagenti e della plastica monouso e, conseguentemente, i costi. La tracciabilità molecolare, quindi, diviene anche un elemento di efficientamento sotto innumerevoli punti di vista che siano essi economici, sociali e ambientali (Bonaiuto et al., 2021).

Conclusioni

La possibilità di certificare, nei vari punti critici della filiera, le varietà di frumento duro presenti nei singoli processi produttivi, che portano alla realizzazione finale della pasta secca in Italia, risulta essere di fondamentale importanza per la valorizzazione delle materie prime e del duro lavoro di tutti gli attori della filiera. L'utilizzo di tecniche biomolecolari solide e ripetibili è

necessario per poter portare questa tipologia di analisi all'attenzione delle grandi aziende che potrebbero utilizzare questa tecnica come servizio di controllo interno alle proprie linee di approvvigionamento e produzione. La tecnica basata su marcatori molecolari quali gli SNPs risulta essere valida e certificabile e notevolmente meno onerosa dell'attuale analisi dei profili elettroforetici gliadinici e gluteninici.

La possibilità di riconoscere le varietà presenti all'interno di un campione è anche molto utile in caso di mistificazioni volontarie della granella, laddove la merce risulti di qualità inferiore all'atteso. La tecnologia sviluppata vuole essere messa a disposizione delle grandi aziende come sistema di certificazione interno della propria filiera produttiva. Questo tipo di tecnologia può applicarsi anche ad altre filiere, come quella del grano tenero, dell'olio d'oliva, del vino e di molte altre colture vegetali.

Bibliografia

- Anastasiadis F., Apostolidou I., Michailidis A. 2021. Food Traceability: A Consumer-Centric Supply Chain Approach on Sustainable Tomato. *Foods*, 10(3): 543. <https://doi.org/10.3390/foods10030543>
- Bonaiuto F., De Dominicis S., Ganucci Cancellieri U., Crano W. D., Ma J., Bonaiuto M. 2021. Italian Food? Sounds Good! Made in Italy and Italian Sounding Effects on Food Products' Assessment by Consumers. *Frontiers in Psychology*, 12(March). <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2021.581492>
- Bradbury P. J., Zhang Z., Kroon D. E., Casstevens T. M., Ramdoss Y., Buckler E. S. 2007. TASSEL: software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23(19), 2633–2635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>
- Chang C. C., Chow C. C., Tellier L. C., Vattikuti S., Purcell S. M., Lee J. J. 2015. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. *GigaScience*, 4(1): 7. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8>
- Charlebois S., Latif N., Ilahi I., Sarker B., Music J., Vezeau J. 2024. Digital Traceability in Agri-Food Supply Chains: A Comparative Analysis of OECD Member Countries. *Foods*, 13(7): 1-29. <https://doi.org/10.3390/foods13071075>
- Cibecchini G., Cecere P., Tumino G., Morcia C., Ghizzoni R., Carnevali P., Terzi V., Pompa P. P. 2020. A Fast, Naked-Eye Assay for Varietal Traceability in the Durum Wheat Production Chain. *Foods*, 9(11): 1-10. <https://doi.org/10.3390/foods9111691>
- Gao L., Jia J., Kong X. 2016. A SNP-Based Molecular Barcode for Characterization of Common Wheat. *PLOS ONE*, 11(3): e0150947. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150947>
- Giancaspro A., Colasuonno P., Zito D., Blanco A., Pasqualone A., Gadaleta A. 2016. Varietal traceability of bread “Pane Nero di Castelvetro” by denaturing high pressure liquid chromatography analysis of single nucleotide polymorphisms. *Food Control*, 59: 809-817. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.006>
- Mattarello G., Arfelli F., Cespi D., Passarini F., Vassura I. 2024. Regional food consumption in Italy, a life cycle analysis. *Environmental Research*, 262: 119867. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.119867>
- Morcia C., Bergami R., Scaramagli S., Ghizzoni R., Carnevali P., Terzi V. 2020. A chip digital PCR assay for quantification of common wheat contamination in pasta production chain. *Foods*, 9(7). <https://doi.org/10.3390/foods9070911>
- Oddone M., Aceto M., Baldizzone M., Musso D., Osella D. 2009. Authentication and Traceability Study of Hazelnuts from Piedmont, Italy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(9): 3404-3408. <https://doi.org/10.1021/jf900312p>
- R Core Team. 2024. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.r-project.org/>

Taranto F., D'Agostino N., Rodriguez M., Pavan S., Minervini A. P., Pecchioni N., Papa R., De Vita P. 2020. Whole Genome Scan Reveals Molecular Signatures of Divergence and Selection Related to Important Traits in Durum Wheat Germplasm. *Frontiers in Genetics*, 11(April). <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00217>

Vitale M., Giosuè A., Vaccaro O., Riccardi G. 2021. Recent trends in dietary habits of the Italian population: Potential impact on health and the environment. *Nutrients*, 13(2): 1-10. <https://doi.org/10.3390/nu13020476>

World Food and Agriculture - Statistical Yearbook 2023. (2023). FAO. <https://doi.org/10.4060/cc8166en>

Pasta di semola arricchita: studio dell'effetto del processo produttivo e della cottura sui composti antiossidanti

S. Marzocchi^{1}, F. Pasini^{1,2}, R. Santi³, M.F. Caboni^{1,2}*

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari, Università di Bologna, Piazza Goidanich 60, 47521 Cesena (FC).

²Centro Interdipartimentale di Ricerca Industriale Agroalimentare, Via Quinto Bucci 336, 47521 Cesena (FC).

³Colussi S.p.A, Via dell'Aeroporto 7, 06081 Petrignano d'Assisi (PG).

*E-mail: silvia.marzocchi4@unibo.it

Abstract

The importance of antioxidants in food and the human body is well known, mainly due to their oxidative stability and functional properties. This study evaluated the enrichment of antioxidant compounds in semolina pasta (P-S) by adding tomato (P-SP) and spinach powders (P-SS). Antioxidant compounds were analyzed in raw materials and in uncooked and cooked pasta to assess enrichment after processing and cooking. Total phenolic content (TPC) was determined using the Folin-Ciocalteu method, and antioxidant activity was measured with DPPH. Both powder tomato and spinach powders showed higher values than semolina, with no significant differences between them. In the pasta, TPC and antioxidant activity were higher in P-SP and P-SS compared to P-S, with a significant increase in cooked pasta. Chromatographic analysis identified three classes of phenols: phenolic acids, flavonols, and flavones. P-S showed no significant differences between raw and cooked pasta for free phenols, while P-SP and P-SS showed a decrease.

Riassunto

L'importanza degli antiossidanti negli alimenti e per il corpo umano è ben nota, principalmente grazie alla loro stabilità ossidativa e alle proprietà funzionali. Questo studio ha valutato l'arricchimento di composti antiossidanti nella pasta di semola (P-S) mediante l'aggiunta di pomodoro (P-SP) e spinacio (P-SS) in polvere. I composti antiossidanti sono stati analizzati nelle materie prime e nella pasta cruda e cotta per valutare l'arricchimento dopo la lavorazione e la cottura. Il contenuto totale di fenoli (TPC) è stato determinato con il metodo Folin-Ciocalteu e l'attività antiossidante è stata misurata mediante DPPH. Sia il pomodoro che lo spinacio in polvere hanno mostrato valori superiori alla semola, senza differenze significative tra di loro. Nella pasta, il TPC e l'attività antiossidante erano più elevati in P-SP e P-SS rispetto a P-S, con un aumento significativo nella pasta cotta. L'analisi cromatografica ha identificato tre classi di fenoli: acidi fenolici, flavonoli e flavoni. P-S non ha mostrato differenze significative tra pasta cruda e cotta per i fenoli liberi, mentre P-SP e P-SS hanno mostrato una diminuzione.

Introduzione

La pasta rappresenta un pilastro della dieta mediterranea, occupa la base della piramide alimentare ed il suo consumo giornaliero è raccomandato (Bach-Faig *et al.*, 2011). Per questo motivo, la pasta potrebbe essere un vettore ideale di composti bioattivi, come i fenoli che possiedono effetti benefici sulla salute umana grazie alle loro proprietà antiossidanti che conferiscono potenziale protezione contro malattie degenerative come le malattie cardiache ed il cancro (Dykes e Rooney, 2007). La produzione di pasta secca convenzionale si basa su due ingredienti principali: semola di grano duro raffinata e acqua. Purtroppo, è ampiamente riconosciuto che la maggior parte dei composti fenolici si concentra negli strati esterni della

cariosside di grano (Liyana-Pathirana e Shahidi, 2007), che vengono rimossi o ridotti durante i processi di debranning e macinazione per produrre la semola raffinata. Inoltre, il passaggio di essiccazione ad alta temperatura durante la produzione della pasta, unito alla cottura in acqua bollente, può ridurre la concentrazione finale dei composti fenolici. Per aumentare il contenuto antiossidante della pasta di semola, questa può essere arricchita con altre matrici vegetali, come il pomodoro e lo spinacio, ampiamente riconosciute come ricche in composti fenolici (Bergman *et al.*, 2001, Martinez-Valverde *et al.*, 2002).

Questo studio ha avuto l'obiettivo di arricchire il contenuto fenolico e aumentare l'attività antiossidante della pasta tradizionale di semola, introducendo polvere di pomodoro e spinaci nella ricetta tradizionale. Sono state eseguite analisi della componente antiossidante sia sulle materie prime che sulla pasta sia cruda che cotta mediante tecniche spettrofotometriche. In aggiunta, i singoli fenoli sono stati determinati mediante cromatografia liquida accoppiata a spettrometria di massa (HPLC-ESI-QQQ-MS).

Materiali e metodi

Campioni

Le materie prime erano rappresentate da semola di grano duro italiano (S), polvere di pomodoro (PP) e polvere di spinacio (PS). Sono stati formulati tre diversi campioni di pasta: uno con il 100% di semola (P-S), uno con il 70% di semola e il 30% di polvere di pomodoro (P-SP) e uno con il 70% di semola e il 30% di polvere di spinaci (P-SS). Tutti i campioni sono stati forniti dall'industria italiana Colussi S.p.a (Perugia, Italia).

Estrazione dei fenoli liberi e legati

La frazione fenolica libera e legata proveniente da semola, matrici vegetali e campioni di pasta cruda e cotta è stata estratta mediante il protocollo di Verardo *et al.* (2011). Entrambe le estrazioni, fenoli liberi e legati, sono state eseguite in doppio ($n=2$).

Cottura della pasta

Per isolare la frazione fenolica libera e legata dalla pasta cotta, 10 g di pasta secca sono stati cotti in 400 mL di acqua per 13 minuti. Il tempo di cottura ottimale per ciascun campione è stato determinato utilizzando il metodo AACC 66-50.26. I campioni di pasta cotti sono stati liofilizzati, quindi macinati utilizzando un mulino da laboratorio (IKA A10-Ikawerke GmbH & Co. KG, Staufen, Germania) e i composti fenolici liberi e legati sono stati estratti come descritto nel paragrafo precedente.

Determinazione del contenuto in fenoli totale (TPC)

Il contenuto fenolico totale (TPC) dei campioni è stato valutato utilizzando il metodo di Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi, 1965), misurando l'assorbanza mediante spettrofotometro a 750 nm. L'analisi è stata effettuata in doppio per ciascun estratto fenolico ($n=4$) e i risultati sono stati espressi in milligrammi equivalenti di acido gallico (GAE)/ 100 g.

Determinazione dell'attività antiossidante mediante test DPPH

L'attività antiradicalica delle materie prime e della pasta è stata analizzata utilizzando il radicale 2,2-difenil-picrilidrazile (DPPH), come descritto da Baliyan *et al.* (2022) misurando l'assorbanza a 517 nm. L'attività antiossidante è stata calcolata sulla base della curva di calibrazione del Trolox (da 25 a 1000 mg/mL). Per ciascun estratto fenolico, la procedura è stata eseguita in doppio ($n=4$) e i risultati sono stati espressi in μmol di Trolox/100 g.

Determinazione dei composti fenolici liberi mediante HPLC-ESI-QqQ-MS

La separazione dei composti fenolici liberi è stata eseguita con il metodo riportato da Borgonovi *et al.* (2023). Lo strumento HPLC utilizzato era un 1290 Infinity Series, collegato ad uno spettrometro di massa triplo quadrupolo 6420 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). Per la separazione dei composti è stata utilizzata una colonna Poroshell 120, SB-C18 (3,0 x 100 mm, 2,7 μ m) di Agilent Technologies; la temperatura della colonna è stata mantenuta a 35°C durante le analisi. La fase mobile A era acqua acidificata (1% di acido acetico) e la fase mobile B era acetonitrile. È stato applicato il seguente gradiente lineare multistep: 0 min, 5% B; 12,5 min, 30% B; 17,5 min, 60% B; 22 min, 5% B. Le condizioni iniziali sono state mantenute per 5 minuti. La velocità di flusso è stata impostata a 0,6 mL/min durante tutto il gradiente. Il volume di iniezione nel sistema HPLC era di 2,5 μ L. Dopo una procedura di ottimizzazione, sono state adottate le seguenti condizioni per l'analisi MS: tipo di analisi: monitoraggio delle reazioni multiple (MRM); tipo di sorgente: ionizzazione a pressione atmosferica-elettrospray (API-ES); polarità: negativa; temperatura del gas di essiccazione (azoto): 350°C; flusso del gas: 13 L/min; pressione del nebulizzatore: 50 psi; voltaggio del capillare: +3500 V; voltaggio dell'acceleratore cellulare: 3 V; energia di collisione: 20 eV; fragmentor: 85. Acido ferulico, catechina e rutina sono stati utilizzati come standard per la quantificazione. Ogni estratto fenolico è stato analizzato in doppio ($n=4$).

Analisi statistica

L'analisi della varianza mediante ANOVA è stata valutata utilizzando il software Statistica 8 (2006, StatSoft, Tulsa, OK, USA). I valori di p inferiori a 0,05 sono stati considerati statisticamente significativi mediante il test di Tukey honest significant difference (HSD).

Risultati e discussione

Determinazione del contenuto in fenoli totale (TPC)

In Figura 1 sono riportate le concentrazioni in fenoli totali delle materie prime e della pasta (cruda e cotta). Per quanto riguarda le materie prime, le polveri di pomodoro e di spinacio hanno mostrato un TPC significativamente ($p<0,05$) più alto della semola (450 e 37 mg acido gallico/100g, rispettivamente). Considerando la pasta, dalla semola alla pasta cruda non si sono registrate differenze significative nel contenuto fenolico totale; si è registrata una significativa diminuzione dalle polveri vegetali alla pasta arricchita a causa della diluizione con semola, infatti erano solo il 30% nella pasta arricchita. La pasta arricchita ha mostrato un TPC doppio dopo la cottura rispetto alla pasta fatta con solo semola. Questo può essere spiegato con la liberazione di alcuni composti fenolici durante il processo di cottura grazie alle alte temperature che rompono i legami chimici con le macromolecole o le pareti cellulari facilitando il rilascio di composti fenolici, rendendoli più accessibili ed estraibili.

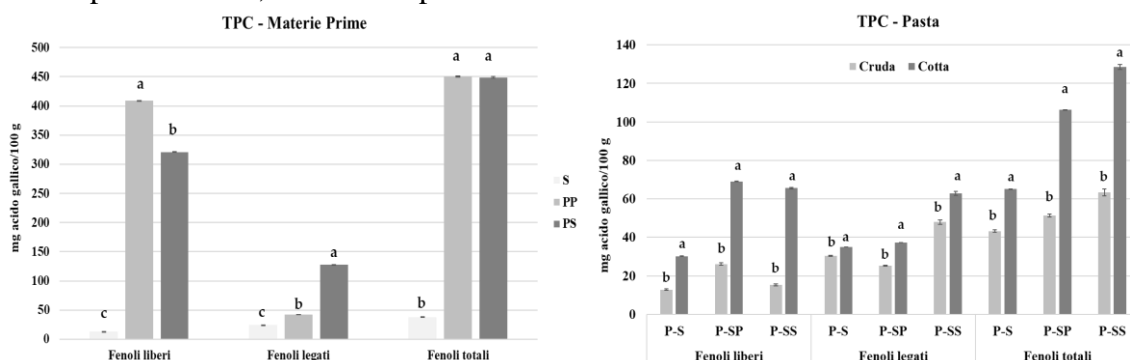


Figura 1. Contenuto totale in fenoli delle materie prime (a sinistra) e della pasta cruda e cotta (a destra). Nel grafico di destra lettere differenti mostrano differenze significative all'interno della stessa classe di fenoli ($p<0,05$). Nel grafico di sinistra lettere differenti mostrano differenze significative tra pasta cruda e cotta ($p<0,05$).

Determinazione dell'attività antiossidante (DPPH)

L'attività antiossidante nelle materie prime ha mostrato la stessa tendenza del TPC; quindi, le polveri di pomodoro e spinaci avevano un'attività antiossidante significativamente ($p < 0,05$) più elevata della semola. Per quanto riguarda la pasta arricchita cruda, l'attività antiossidante diminuisce di circa il 30% a causa, ancora una volta, della diluizione con semola; inoltre anche a causa del processo di produzione e dell'impatto combinato dell'ossigeno durante l'impasto e delle alte temperature durante l'essiccazione; la pasta di arricchita con spinacio ha mostrato la maggiore attività antiossidante. Nella pasta cotta l'attività antiossidante era superiore a quella cruda e questo può essere correlato al rilascio di alcuni prodotti di reazione Maillard durante il processo di cottura che contribuiscono all'attività antiossidante complessiva.

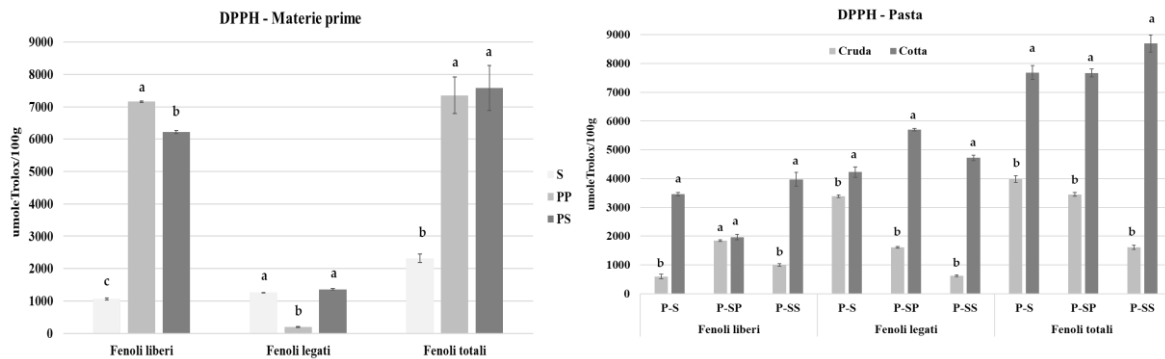


Figura 2. Attività antiossidante delle materie prime (a sinistra) e della pasta cruda e cotta (a destra). Nel grafico di destra lettere differenti mostrano differenze significative all'interno della stessa classe di fenoli ($p < 0,05$). Nel grafico di sinistra lettere differenti mostrano differenze significative tra pasta cruda e cotta ($p < 0,05$).

Determinazione analitica dei fenoli

Come mostra la Figura 3 si nota una differenza tra le due polveri vegetali; infatti, la polvere di pomodoro ha mostrato un contenuto fenolico totale più elevato rispetto alla polvere di spinaci. La pasta cruda arricchita con polveri presentava un contenuto di composti fenolici superiore a quello della pasta a base di sola semola, circa il 23 e l'80 % nella pasta arricchita rispettivamente di pomodoro e spinaci. Al contrario di quanto abbiamo visto per il contenuto fenolico totale e l'attività antiossidante con analisi spettrofotometrica, qui dopo la cottura la concentrazione di fenoli totali nella pasta arricchita con polvere di spinaci diminuisce significativamente.

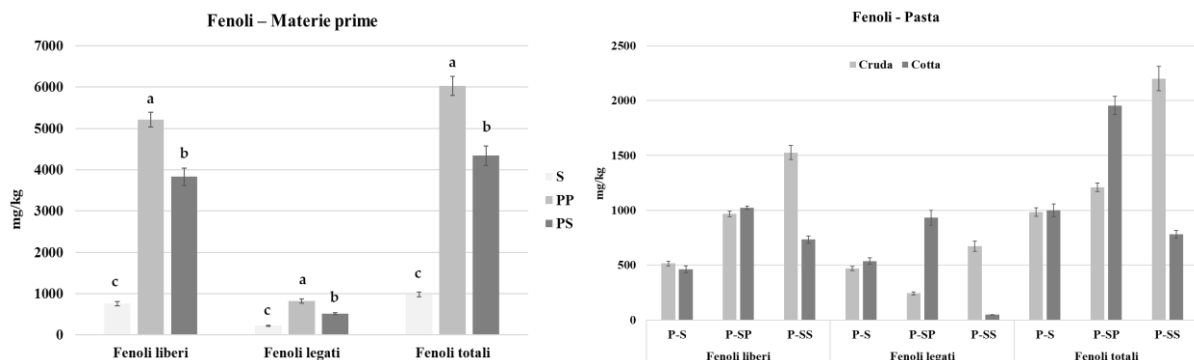


Figura 3. Contenuto in fenoli nelle materie prime (a sinistra) e della pasta cruda e cotta (a destra) mediante determinazione analitica. Nel grafico di destra lettere differenti mostrano differenze significative all'interno della stessa classe di fenoli ($p < 0,05$). Nel grafico di sinistra lettere differenti mostrano differenze significative tra pasta cruda e cotta ($p < 0,05$).

Per spiegare questo comportamento abbiamo studiato le classi di fenoli determinate nei diversi campioni. La polvere di pomodoro ha mostrato una concentrazione preponderante di acidi fenolici e la polvere di spinacio aveva solo fenoli appartenenti alla classe dei flavonoli. I

flavonoli sono riconosciuti come termosensibili, infatti sotto i 70 °C possono resistere ma oltre i 100 °C iniziano a degradarsi (Chaaban *et al.*, 2017) D'altra parte, la pasta arricchita con pomodoro ha mostrato un aumento del composto fenolico dopo la cottura perché gli acidi fenolici sono spesso legati alle pareti cellulari o ad altri composti e il processo di cottura consente di rompere questi legami (Cheng *et al.*, 2014).

L'analisi spettrofotometrica ha rilevato un incremento significativo sia per quanto riguarda i fenoli totali che l'attività antiossidante della pasta di semola arricchita con polvere di pomodoro e spinacio. La determinazione analitica conferma il trend di arricchimento nella pasta arricchita con polvere di pomodoro; mentre la pasta di semola arricchita con polvere di spinacio mostrava una più bassa concentrazione di composti fenolici dopo la cottura. Questo perché i composti fenolici presenti nelle materie prime hanno mostrato un differente comportamento quando sono sottoposti ad alte temperature. I risultati ottenuti dalla pasta di semola arricchita possono generalmente essere considerati positivi e significativi.

Bibliografia

- AACC. 2000. *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*, 10th ed., American Association of Cereal Chemists: St. Paul, MN, USA.
- Bach-Faig, A., Berry, E.M., Lairon, D., Reguant, J., Trichopoulou, A., Dernini, S., Medina, X., Battino, M., Belahsen, R., Miranda, G., Serra-Majem, L. 2011. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutrition*, 14: 2274-2284.
- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R.P., Chang, C.M. 2022. Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4): 1326.
- Bergman M., Varshavsky L., Gottlieb H.E., Grossman S. 2001. The antioxidant activity of aqueous spinach extract: chemical identification of active fractions. *Phytochemistry*, 58: 143-152.
- Borgonovi S.M., Chiarello E., Pasini F., Picone G., Marzocchi S., Capozzi F., Bordoni A., Barbiroli A., Marti A., Iametti S., Di Nunzio M. 2023. Effect of Sprouting on Biomolecular and Antioxidant Features of Common Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Foods*, 12: 2047.
- Chaaban H., Ioannou I., Chebil L., Slimane M., Gérardin C., Paris C., Charbonnel C., Chekir L., Ghoul M. 2017. Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5): e13203.
- Cheng Y., Xu Q., Liu J., Zhao C., Xue F., Zhao Y. 2014. Decomposition of five phenolic compounds in high temperature water. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 25: 2102-2107.
- Dykes L., Rooney L.W. 2007. Phenolic compounds in cereal grains and their health benefits. *Cereal Foods World*, 52(3): 105-111.
- Liyana-Pathirana C., Shahidi F. 2007. Antioxidant and free radical scavenging activities of whole wheat and milling fractions. *Food Chemistry*, 101: 1151-1157.
- Martinez-Valverde I., Periago M.J., Provan G., Chesson A. 2002. Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 323-330.
- Singleton V.L., Rossi J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3): 144-158.
- Verardo V., Arráez-Román D., Segura-Carretero A., Marconi E., Fernández-Gutiérrez A., Caboni M.F. 2011. Determination of free and bound phenolic compounds in buckwheat spaghetti by RP-HPLC-ESI-TOF-MS: effect of thermal processing from farm to fork. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59 (14): 7700-7707.

Ottimizzazione della tecnica molitoria per l'ottenimento di farine di mais speciali ad alto valore qualitativo e salutistico

C. Sardella^{1*}, A. Fratianni², F. Vanara¹, A. Rosso¹, V. Scarpino¹, G. Panfili², M. Blandino¹

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO).

²Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Via Francesco De Sanctis, 86100 Campobasso (CB).

*E-mail: claudia.sardella@unito.it

Abstract

The gluten-free market presents opportunities for the corn sector as more people with celiac disease or gluten intolerance are seeking gluten-free products with good sensory and functional properties. However, the use of gluten-free and whole grain flours has some limitations related to the lack of the viscoelastic gluten network and the potential sanitary risks associated with the addition of the outer layers of cereal grains. The aim of the present work was to explore the influence of different milling strategies on the distribution of contaminants and antioxidant compounds between milling fractions and flours of three hybrids, two of reference for the food chains and one obtained from local germplasm (Pignoletto rosso). The hybrid derived from Pignoletto cultivar was characterized by lower mycotoxin content, higher concentration of bioactive compounds (carotenoids and phenolic acids) and superior antioxidant capacity. Micro-Visco-Amilograph analysis provided information on the gelatinization and retrogradation behavior of the derived flours. Through the application of appropriate milling management, the innovative hybrid exhibited good properties for incorporation into advanced food supply chains.

Riassunto

Nuovi impieghi nel settore *gluten-free* hanno determinato interessanti opportunità per il settore dei mais destinati alla produzione di farine alimentari, così come per quello degli alimenti funzionali, caratterizzati da un elevato profilo salutistico. Tuttavia, l'utilizzo di farine prive di glutine e integrali pone alcuni limiti d'utilizzo, legati all'assenza della formazione della rete viscoelastica del glutine e ai potenziali rischi sanitari associati all'aggiunta degli strati esterni della cariosside. Lo scopo del lavoro è stato quello di esplorare l'influenza di diversi percorsi molitori sulla distribuzione dei contaminanti e dei principali composti ad azione antiossidante tra intermedi di lavorazione e farine di tre ibridi, due di riferimento per la filiera alimentare e uno ottenuto a partire da germoplasma locale (Pignoletto rosso). L'ibrido ottenuto utilizzando la varietà Pignoletto come linea impollinante si è distinto per un minor contenuto in micotossine, una maggiore concentrazione di composti bioattivi (carotenoidi e acidi fenolici) e da un superiore capacità antiossidante. L'analisi al Micro-Visco-Amilografo ha fornito informazioni circa il comportamento di gelatinizzazione e retrogradazione delle semole derivate. Opportunamente valorizzato con adeguate gestioni molitorie, l'ibrido innovativo ha dimostrato di possedere caratteristiche ideali per l'inserimento in filiere alimentari avanzate.

Introduzione

Le filiere alimentari sono oggi guidate dalle richieste del mercato per materie prime e prodotti alimentari dall'alto valore d'uso, ovvero in grado di rispondere a specifici obiettivi tecnologici e nutrizionali, nonché caratterizzati da una sanità adeguata allo specifico utilizzo. Nel settore *gluten-free* è oggi richiesta maggiore attenzione per l'ottenimento di alimenti con caratteristiche

sensoriali, strutturali e nutrizionali simili a quelle dei prodotti convenzionali e con migliorate caratteristiche funzionali e salutistiche. Materie prime di partenza innovative, dalle migliori proprietà salutistiche intrinseche, e macinazioni integrali o semi-integrali possono permettere di soddisfare tali richieste. Tuttavia, l'utilizzo di farine prive di glutine e integrali pone alcuni limiti legati all'assenza della formazione della rete viscoelastica del glutine e ai potenziali rischi sanitari associati all'aggiunta degli strati esterni della cariosside. Grazie al miglioramento genetico, specifici caratteri qualitativi, finora espressi solo in ecotipi di mais a libera impollinazione, possono essere introdotti in nuovi ibridi da inserire in filiere alimentari avanzate. L'utilizzo in filiera di materiali genetici innovativi richiede una valutazione e un'ottimizzazione dei diagrammi molitori, che permetta di valorizzare le componenti di interesse, come il contenuto in fibra e composti bioattivi, e di minimizzare i rischi sanitari, ovvero la contaminazione da micotossine. La valutazione dell'impatto di strategie molitorie sulle proprietà reologiche delle diverse tipologie di semole ottenute è inoltre di fondamentale importanza per fornire indicazioni alla filiera sulle possibili destinazioni d'uso.

Materiali e metodi

Il confronto ha previsto l'utilizzo di tre lotti commerciali, due dei quali mono-varietali e rappresentati da ibridi (Dekalb DKC6092 e Pioneer P1547) ampiamente impiegati dalla filiera molitoria del mais per l'ottenimento di *hominy grits*. Il terzo lotto è stato ottenuto dalla coltivazione dell'ibrido Pignoletto X SN148, sviluppato incrociando la varietà Pignoletto rosso del Canavese (linea parentale impollinante) con una linea parentale femminile (SN148). Tutti gli ibridi sono stati coltivati durante la campagna agraria 2022 e sottoposti a diverse strategie di molitura su scala reale. Le operazioni di molitura hanno permesso di ottenere un totale di 14 frazioni molitorie, comprendenti 6 semole e 8 tra sottoprodotti e intermedi di lavorazione. La macinatura a pietra della granella pulita ha permesso di ottenere semola integrale tutto corpo (IP) e, in seguito a setacciatura tramite *plansichter* per separare la farinetta, una semola semi-integrale (SIP). L'adozione del processo convenzionale di degerminazione a secco ha permesso invece di separare la farinetta, il germe e gli scarti cruscali grossolani e ottenere gli spezzati come base di partenza per ottenere altre tipologie di semola. Una parte degli spezzati ha continuato il processo di raffinazione, per l'ottenimento di una semola raffinata (RC), con separazione di fumetto e scarti cruscali. A partire dalla semola raffinata RC sono state ottenute due semole ricombinate semi-integrali (SIC D e SIC RC), aggiungendo rispettivamente un 25% in peso di crusca proveniente dal processo di degerminazione ed un 25% di crusca proveniente dal processo di raffinazione. Infine, un'aliquota di spezzati è stata macinata a pietra con separazione della frazione più fine (fumetto), al fine di ottenere una semola macinata a pietra priva di germe (RP). Le 6 semole sono state analizzate per la composizione dei macronutrienti e delle ceneri, e per le proprietà reologiche tramite Micro-Visco-Amilografo (Brabender OHG, Duisburb, Germania), previa uniformazione della granulometria (< 500 µm) con molino ultracentrifugo (Retsch ZM 200). Sui macinati delle 14 frazioni molitorie sono stati determinati il contenuto dei principali composti bioattivi presenti nel mais, ovvero carotenoidi (Panfili *et al.*, 2004) e acidi fenolici (Giordano *et al.*, 2019) tramite analisi cromatografica HPLC/DAD. I campioni sono stati caratterizzati per la loro capacità antiossidante totale tramite metodica QUENCHER-ABTS (Serpen *et al.*, 2012). Infine, il rischio sanitario è stato determinato tramite estrazione e quantificazione delle fumonisine B₁ e B₂ con analisi LC-MS/MS (Scarpino *et al.*, 2019). I risultati sono stati espressi sul peso secco.

Risultati e discussione

L'analisi della composizione nutrizionale delle 6 semole finali di ogni lotto ha messo in evidenza un maggior contenuto in proteine e in grassi del Pignoletto X SN148 (rispettivamente

+18 e +22% rispetto alla media di DKC6092 e P1547), con una conseguente riduzione della quantità di amido e della fibra dietetica. Le semole macinate a pietra, sia tutto corpo sia semi-integrali, si sono distinte per un maggiore contenuto di grassi, fibra e ceneri, mentre la ricombinazione con le crusche ha permesso di ottenere semole simili a quelle raffinate dal punto di vista del contenuto in grassi, ma con un più alto contenuto in ceneri e fibra.

Tabella 1. Confronto del contenuto in carotenoidi e acidi fenolici (solubili e insolubili) e della capacità antiossidante in funzione dell'ibrido e della tipologia di semola (integralità e metodo di macinazione). IP: integrale macinata a pietra; SIP: semi-integrale macinata a pietra; SIC D: semi-integrale raffinata a cilindri ricombinata con crusche da degerminazione; SIC RC: semi-integrale raffinata a cilindri ricombinata con crusche da laminazione; RP: raffinata a pietra; RC: raffinata a cilindri. I risultati sono espressi sulla sostanza secca. Nell'ambito di ciascun fattore, lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per $p (F) < 0.05$.

Fattore	Fonte di variazione	Carotenoidi (mg/kg)	Acidi fenolici solubili (mg/kg)	Acidi fenolici insolubili (mg/kg)	Capacità antiossidante (mmol TE/kg)
Ibrido	Dekalb DKC6092	25.7 b	230.7 a	1071.6 a	8.3 b
	Pioneer P1547	24.8 b	184.3 b	910.0 b	8.1 b
	Pignoletto X SN148	27.7 a	148.4 c	890.8 b	9.4 a
Semola	IP	21.3 d	271.6 a	1618.7 a	11.4 a
	SIP	21.9 d	252.7 b	1599.1 a	10.5 b
	SIC D	28.0 b	205.3 c	1033.6 b	9.2 c
	SIC RC	28.9 ab	155.8 d	740.7 c	7.8 d
	RP	25.6 c	106.6 f	508.0 d	6.8 e
	RC	30.8 a	134.9 e	303.4 e	5.9 f

Per quanto riguarda il contenuto in carotenoidi (Tabella 1), le semole di Pignoletto X SN148 si sono distinte per una concentrazione in media maggiore del 26% rispetto a quelle di DKC6092 e P1547. In particolare, è stato osservato un maggiore contenuto di β -carotene, β -criptoxantina e luteina, e un minore contenuto di zeaxantina rispetto agli ibridi di controllo. L'analisi degli intermedi e dei sottoprodotti ha permesso di ottenere informazioni sulla distribuzione di tali composti nelle cariossidi di mais: spezzati e crusca da raffinazione hanno mostrato la più elevata concentrazione di luteina e zeaxantina, i carotenoidi presenti maggiormente, con valori simili alla granella di partenza. Conseguentemente, i più alti valori sono stati osservati in media per tutti e tre gli ibridi nella farina raffinata a cilindri (RC), e valori statisticamente simili sono stati riscontrati nella farina semi-integrale ricombinata con crusche da raffinazione (SIC RC). Valori di poco inferiori sono stati osservati per la farina semi-integrale ricombinata con crusche da degerminazione (SIC D), mentre più marcate sono state le differenze con la farina raffinata a pietra (RP), a cui hanno fatto seguito le semole integrali e semi-integrali (IP e SIP) macinate a pietra (mediamente -30% rispetto a RC).

Relativamente agli acidi fenolici (Tabella 1), il contenuto della frazione insolubile è risultato, come atteso, maggiore rispetto a quello della frazione solubile (nelle semole dei tre ibridi, 955 vs 188 mg/kg). Il contenuto è risultato mediamente simile tra le semole dei tre ibridi, mentre il processo molitorio ha contribuito maggiormente alla variabilità dei dati ottenuti. La separazione di crusche e frazioni fini dell'endosperma ha determinato una riduzione marcata di tali composti, e tale riduzione è risultata notevolmente maggiore per Pignoletto X SN148. Ciò ha trovato conferma con l'analisi di intermedi e sottoprodotti. In particolare, nella crusca e nella farinetta di degerminazione di Pignoletto X SN148 si è osservato un livello di acidi fenolici insolubili significativamente maggiore rispetto a quanto riscontrato negli stessi campioni degli altri ibridi (circa 2 volte superiore rispetto alla media di DKC6092 e P1547). L'accumulo di

acidi fenolici nella crusca da raffinazione è risultato mediamente inferiore rispetto a quella da degerminazione (-33%). Complessivamente, il maggior contenuto di acidi fenolici insolubili è stato osservato nelle crusche e nella farinetta provenienti dalla fase di degerminazione del Pignoletto X SN148 (+33 e +99% rispetto a DKC6092, rispettivamente). Risultati simili sono stati osservati con la valutazione della capacità antiossidante totale (Tab. 1): le semole ricombinate di tutti e tre gli ibridi si sono posizionate su valori intermedi, con i valori maggiori osservati per la ricombinazione con crusca da degerminazione dell'ibrido Pignoletto X SN148.

Tabella 2. Confronto del contenuto in fumonisine in funzione dell'ibrido e della tipologia di semola (integralità e metodo di macinazione). IP: integrale macinata a pietra; SIP: semi-integrale macinata a pietra; SIC D: semi-integrale raffinata a cilindri ricombinata con crusche da degerminazione; SIC RC: semi-integrale raffinata a cilindri ricombinata con crusche da laminazione; RP: raffinata a pietra; RC: raffinata a cilindri. Nell'ambito di ciascun fattore, lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per p (F) < 0.05.

Fattore	Fonte di variazione	Fumonisina B ₁ (µg/kg)	Fumonisina B ₂ (µg/kg)	Fumonisine B ₁ +B ₂ (µg/kg)
Ibrido	Dekalb DKC6092	1079 b	268 b	1347 b
	Pioneer P1547	1956 a	484 a	2440 a
	Pignoletto X SN148	642 c	188 c	830 c
Semola	IP	2624 a	663 a	3287 a
	SIP	2066 b	517 b	2583 b
	SIC D	1441 c	327 c	1769 c
	SIC RC	342 e	113 e	455 e
	RP	582 d	156 d	738 d
	RC	299 e	104 e	403 e

L'utilizzo delle sotto-frazioni della molitura a più alto potenziale antiossidante deve essere attentamente valutato, in quanto alcuni contaminanti della granella, ed in particolare le fumonisine, tendono ad accumularsi nelle frazioni fini e corticali della cariosside (Blandino *et al.*, 2017). Le crusche da degerminazione si sono infatti caratterizzate per una concentrazione significativamente maggiore in fumonisine (B₁+B₂) rispetto alle crusche provenienti dalla fase di raffinazione, e ciò ha avuto un conseguente effetto sul contenuto in fumonisine delle semole derivate (-74% SIC RC vs SIC D;

Tabella 2). Per entrambe le tipologie di crusca è stato osservato un contenuto in fumonisine dell'ibrido innovativo Pignoletto X SN148 significativamente inferiore rispetto agli ibridi convenzionali. In generale, l'iniziale concentrazione della granella di Pignoletto X SN148, inferiore rispetto sia a DKC6092 (-16%) che a P1547 (-69%), ha permesso di ottenere semole e sotto-frazioni della molitura caratterizzate da una concentrazione inferiore di tali contaminanti. Tuttavia, nel caso studio considerato, solo il diagramma molitorio nel quale è stata effettuata un'operazione di degerminazione ha permesso di ottenere semole commercializzabili ai sensi del Reg. (UE) 2023/915, grazie all'accumulo della contaminazione nelle frazioni fini dell'endosperma, ovvero nella farinetta. Anche la molitura dell'ibrido più sano non ha permesso di ottenere semole macinate a pietra o ricombinate con crusche di degerminazione con livelli al di sotto del tenore massimo ammesso (<1000 µg/kg).

Il comportamento reologico delle semole ottenute durante la sperimentazione è stato valutato attraverso i parametri del Micro-Visco-Amilografo (Tab. 3). L'ibrido Pignoletto X SN148, caratterizzato da una maggiore durezza delle cariossidi, si è differenziato dal punto di vista reologico rispetto agli ibridi testimoni, con un generale abbassamento delle curve dei tracciati visco-amilografici. Differenze più marcate sono state osservate nelle semole semi-integrali

macinate a pietra (SIP) rispetto alle semole raffinate a cilindri (RC). È stato ipotizzato che la minor capacità di gelatinizzazione e di retrogradazione dell'ibrido ottenuto dal Pignoletto, ecotipo a granella *flint*, sia dovuta ad una superiore percentuale di endosperma vitreo, caratterizzato da catene d'amido più strettamente legate alla frazione proteica, e ad un maggiore contenuto proteico.

Tabella 3. Parametri del Micro-Visco-Amilografico in funzione dell'ibrido e della tipologia di semola (integralità e metodo di macinazione). IP: integrale macinata a pietra; SIP: semi-integrale macinata a pietra; SIC D: semi-integrale raffinata a cilindri ricombinata con crusche da degerminazione; SIC RC: semi-integrale raffinata a cilindri ricombinata con crusche da laminazione; RP: raffinata a pietra; RC: raffinata a cilindri. Nell'ambito di ciascun fattore, lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per p (F) < 0.05.

Fattore	Fonte di variazione	Tempo viscosità max (s)	Viscosità max (UB)	Temperatura gelatinizzazione (° C)	Breakdown (UB)	Viscosità finale (UB)	Setback (UB)
Ibrido	Dekalb DKC6092	1376 b	194 a	93.9 b	18 a	615 a	439 a
	Pioneer P1547	1372 b	188 a	93.5 c	19 a	599 a	430 a
	Pignoletto X SN148	1987 a	159 b	95.0 a	3 b	560 b	402 b
Semola	RC	1545 b	257 a	95.0 a	20 a	860 a	623 a
	RP	1495 b	219 b	94.3 c	16 ab	780 b	577 b
	SIC D	1692 a	174 d	94.3 c	11 bc	550 d	387 c
	SIC RC	1707 a	177 c	95.0 b	5 c	592 c	420 c
	SIP	1510 b	113 f	92.9 d	7 c	352 f	246 d
	IP	1521 b	143 e	93.2 d	20 a	416 e	290 d

In conclusione, la sperimentazione effettuata ha messo in evidenza come l'ibrido innovativo Pignoletto X SN148, ottenuto da germoplasma locale, possa risultare un'innovazione interessante ed un'attrattiva per il mercato agro-alimentare delle farine e delle semole di mais. I prodotti della sua macinazione hanno dimostrato di possedere chiari vantaggi qualitativi, in particolare in termini di valori nutrizionali, contenuto in composti antiossidanti e minori rischi sanitari. Tuttavia, è fondamentale che le modalità di macinazione vengano modulate in funzione dei livelli sanitari della campagna agraria e vengano attuate in funzione degli obiettivi tecnologici richiesti dalle aziende di trasformazione. Infatti, per valorizzare appieno le potenzialità di questi nuovi materiali genetici e delle semole derivate ad alto valore salutistico, sarà importante valutare nuovi impieghi e adattamenti dei processi di seconda trasformazione.

Bibliografia

- Blandino, M., Alfieri, M., Giordano, D., Vanara, F., & Redaelli, R. (2017). Distribution of bioactive compounds in maize fractions obtained in two different types of large scale milling processes. *J. Cereal Sci.*, 77, 251-258.
- Giordano, D., Reyneri, A., Locatelli, M., Coisson, J. D., & Blandino, M. (2019). Distribution of bioactive compounds in pearled fractions of tritordeum. *Food Chem.*, 301, 125228.
- Panfili, G., Fratianni, A., & Irano, M. (2004). Improved normal-phase high-performance liquid chromatography procedure for the determination of carotenoids in cereals. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 6373-6377.
- Scarpino, V., Reyneri, A., & Blandino, M. (2019). Development and comparison of two multiresidue methods for the determination of 17 *Aspergillus* and *Fusarium* mycotoxins in cereals using HPLC-ESI-TQ-MS/MS. *Front. Microbiol.*, 10:361.
- Serpen, A., Gökmen, V., & Fogliano, V. (2012). Solvent effects on total antioxidant capacity of foods measured by direct QUENCHER procedure. *J. Food Compos. Anal.*, 26, 52-57.

Da prodotto di scarto a cibo funzionale: utilizzo di farina di canapa per la produzione di pane e pasta funzionali

F. Sciacca^{1}, M. G. Melilli², V. Di Stefano³, C. Buzzanca³, S. Bonacci⁴, S. Licciardello¹, E. Li Puma¹, A. Leonardi¹, A. Pesce¹, M. Palumbo¹, N. Pecchioni¹, N. Virzi¹*

¹Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA) - Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Laboratorio di Acireale, Corso Savoia 190, 95024 Acireale (CT).

²Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) - Istituto per i Sistemi Agricoli e Forestali del Mediterraneo, Sede Secondaria di Catania, Via Empedocle 58, 95128 Catania (CT).

³Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche, Università di Palermo, Viale delle Scienze, 90128 Palermo (PA).

⁴Dipartimento di Scienze della Salute, Università Magna Grecia di Catanzaro, Viale Europa, 88100 Catanzaro (CZ).

*E-mail: fabiola.sciacca@crea.gov.it

Abstract

The progressive intensification of agricultural systems, coupled with the simultaneous generation of large quantities of production waste, has led international organizations to strongly advocate for the use of agro-industrial by-products, particularly for the potential extraction of bioactive molecules in the food industry. In this context, industrial hemp flour (*Cannabis sativa* L.), a by-product obtained after the extraction of oil from the seeds, is frequently utilized. Hemp seeds, in fact, offer high nutritional value due to their rich content of easily digestible proteins, essential amino acids, and a favorable ω -6/ ω -3 fatty acid ratio. Bread and pasta, given their widespread consumption and relatively low cost, serve as suitable vehicles for incorporating these functional ingredients. The objective of this study was to evaluate the technological, nutritional, and sensory characteristics of functional bread and pasta, produced using durum wheat semolina from the Ciclope variety, enriched with two different types of hemp flour from the Futura 75 variety, varying in particle size. Specifically, three formulations were developed with 5%, 7.5%, and 10% hemp flour integration. The results of the study showed that the fortification process produced bread and pasta with enhanced nutritional properties and good technological quality.

Riassunto

La progressiva intensificazione dei sistemi agricoli e la contemporanea formazione di grandi quantità di scarti di produzione hanno indotto le organizzazioni internazionali a incoraggiare fortemente l'utilizzo dei rifiuti agroindustriali, per il potenziale sfruttamento di molecole bioattive, nell'ambito dell'industria alimentare. A tal proposito, viene spesso utilizzata la farina di canapa industriale (*Cannabis sativa* L.), sottoprodotto ottenuto in seguito all'estrazione dell'olio dai semi. Quest'ultimi, infatti, vantano un alto valore nutrizionale, in relazione all'alto contenuto di proteine rapidamente digeribili, aminoacidi essenziali e un buon rapporto degli acidi grassi ω -6/ ω -3. Il pane e la pasta, grazie al loro largo consumo e costo relativamente basso, vengono impiegati per l'integrazione di tali ingredienti funzionali. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare le caratteristiche tecnologiche, nutrizionali e sensoriali di pani e pasta funzionali, realizzati con semola di frumento duro della varietà Ciclope e integrazione di due diverse tipologie di farina di canapa della varietà Futura 75, differenti per granulometria. In particolare, sono state messe a punto tre formulazioni di miscele: al 5-7.5-10% di integrazione.

I risultati della sperimentazione hanno dimostrato che il processo di fortificazione ha prodotto pani e pasta con migliori proprietà nutrizionali e buona qualità tecnologica.

Introduzione

Un approccio innovativo mira a ridurre gli sprechi e massimizzare l'uso efficiente delle risorse agricole, permettendo di valorizzare materiali altrimenti destinati alla distruzione. Le attuali strategie di sviluppo dell'OMS e dell'UE, infatti, includono la transizione verso un'economia circolare come parte di un approccio strategico per la crescita sostenibile e la promozione della salute, proteggendo al contempo l'ambiente e le sue risorse naturali, e riducendo l'impatto dei cambiamenti climatici. In questo quadro, i sottoprodotti agroindustriali possono fornire molecole bioattive (peptidi, proteine, fibre, ecc.) utilizzabili in alimenti, mangimi e cosmetici (Branca *et al.*, 2022; Del Gatto *et al.*, 2015). Questi composti aiutano nella prevenzione di malattie cardiovascolari, tumori e altre patologie. Il consumo di alimenti funzionali, arricchiti con ingredienti bioattivi, è stato associato alla prevenzione di numerose malattie. Prodotti a base di cereali di largo consumo, come il pane e la pasta, possono essere arricchiti con questi ingredienti e fungere da alimenti funzionali (Melilli *et al.*, 2020; Sciacca *et al.*, 2021). Gli ingredienti bioattivi possono provenire da matrici di origine vegetale, come la farina di canapa industriale (*Cannabis sativa* L.), un sottoprodotto ottenuto dalla macinazione dei semi per l'estrazione dell'olio e ricca di carboidrati, acidi grassi polinsaturi delle serie ω -6 e ω -3 e fibre alimentari. L'obiettivo di questo studio è stato realizzare pane e pasta funzionali, ottenuti utilizzando semola di grano duro arricchita con farina di canapa.

Materiali e metodi

Per la realizzazione di pane e pasta panificati, sono stati utilizzati semola di frumento duro della varietà "Ciclope" e farina di canapa della varietà "Futura 75", quest'ultima di due tipologie differenti per granulometria: una setacciata a 530 μ m, denominata "Hemp1" (meno proteica) e l'altra, setacciata a 236 μ m (più proteica), denominata "Hemp 2". Sono state messe a punto tre formulazioni di miscele: al 5-7.5-10% di integrazione di farina di canapa. Negli sfarinati e nei prodotti trasformati, sono stati determinati il profilo fenolico (HPLC-ESI/QTOF-MS) e il contenuto totale dei fenoli (metodo Folin-Ciocalteu). Inoltre, è stata eseguita la determinazione quali-quantitativa degli acidi grassi (gascromatografia-spettrometria di massa-GC/MS - Sistema GC-MS quadrupolo ISQ™ 9000) ed è stata valutata l'attività antiossidante. Sugli impasti, sono stati determinati gli indici alveografici (Alveografo di Choipin, metodo UNI n° 10453), gli indici farinografici (Farinografo di Brabender, metodo AACC n° 54-21), gli indici colorimetrici (Colorimetro Minolta, spazio colorimetrico CIE L*, a*, b*). Sono stati eseguiti il test di panificazione sperimentale e un test di tipo artigianale. Sul pane e sulla pasta sono state condotte le analisi sensoriali.

Risultati e discussione

Per quanto riguarda il contenuto totale di fenoli (TPC), le due tipologie di farina di canapa hanno mostrato valori più elevati rispetto alla farina di Ciclope. Anche per quanto riguarda l'attività anti-radicalica, le due farine di canapa hanno mostrato valori simili tra loro, ma nettamente superiori a quelli relativi alla semola di Ciclope. Per quanto riguarda il profilo lipidico, i principali acidi grassi identificati nelle frazioni lipidiche della semola di Ciclope sono risultati essere l'acido palmitico, oleico e linoleico, con una percentuale inferiore di acido α -linolenico (ω -3) (Tab. 1).

Tabella 1. Contenuto totale di fenoli, attività antiradicalica e profilo lipidico degli sfarinati.

	CTRL	Hemp 1	Hemp 2
TPC mgGAE/g	2,45	6,38	6,35
% Scavenging	29,7	53,2	51,5
Acidi grassi (%)			
Acido palmitico	17,6	9,04	9,10
Acido stearico	1,54	3,42	3,32
Acido oleico	17,3	14,6	14,5
Acido linoleico (ω -6)	59,9	53,7	53,7
Acido γ - linolenico (ω -6)	0	2,44	2,47
Acido α - linolenico (ω -3)	3,62	15,7	15,5
Acido $\Sigma\omega$ -6	59,9	56,1	56,1
Acido $\Sigma\omega$ -3	3,62	15,7	15,5
Rapporto ω-6/ω-3	16,54	3,57	3,62

Quest'ultimo, invece, è stato significativamente più elevato nelle farine di canapa, raggiungendo il 15,5%. In termini di contenuto di amminoacidi, di particolare interesse è la quantità di amminoacidi essenziali rilevata nelle farine di canapa, pari a 15,9 g/100 g e 17,5 g/100 g rispettivamente in Hemp 1 e Hemp 2. Per quanto concerne il profilo fenolico, degna di nota è la presenza delle cannaflavine C, flavonoidi noti per le loro proprietà antinfiammatorie, che svolgono un'azione simile a quella dei farmaci analgesici e antiflogistici. Dal punto di vista tecnologico, i risultati delle analisi reologiche, condotte mediante la determinazione degli indici alveografici e farinografici, hanno dimostrato come l'aggiunta di farina di canapa abbia influenzato positivamente le proprietà qualitative e tecnologiche degli impasti. Tutti i dati vengono riportati in tabella 2.

Tabella 2. Indici alveografici e farinografici degli impasti

	INDICI ALVEOGRAFICI			INDICI FARINOGRAFICI		
	Umidità (%)	W (10⁻⁴ J)	P/L	Assorbimento idrico a 500 U.B	Sviluppo (min)	Stabilità (min)
CTRL	13,8	201	1,04	60,4	5,5	4,7
Hemp 1 - 5%	13,5	200	1,12	60,0	3,8	7,8
Hemp 1 - 7,5%	13,5	186	1,36	58,7	4,0	6,6
Hemp 1 - 10%	13,3	180	1,52	58,7	3,3	7,1
Hemp 2 - 5%	13,6	171	1,17	60,5	3,0	4,0
Hemp 2 - 7,5%	13,3	182	1,08	60,2	3,3	4,5
Hemp 2 - 10%	13,2	173	1,19	60,1	3,3	4,9

Sui campioni di pane realizzati, i risultati dei test di cottura hanno mostrato che i volumi parziali hanno subito una diminuzione, passando da 427 cm³ per pane CTRL per arrivare a 300 cm³, nei campioni di Hemp 1, al 10%.

Il fenomeno è attribuito al minore contenuto di glutine nei pani arricchiti con farina di canapa e al contemporaneo aumento del contenuto di fibre, che riduce la capacità di trattenere i gas della fermentazione (Gavurníková et al., 2011). Anche l'altezza dei pani ha subito una riduzione di circa il 30%, in particolare nel campione Hemp 1, con il 10% di farina di canapa. Sono state riscontrate differenze statisticamente significative negli indici colorimetrici della crosta e della mollica in relazione alla percentuale di sostituzione: all'aumentare dell'integrazione, si è osservata una tendenza all'imbrunimento, con una riduzione dei valori di L* per entrambe le componenti. I parametri sensoriali sono stati valutati sul pane due ore dopo la cottura e il raffreddamento. La quantità di fibre, proteine e una percentuale di olio (circa il 9%) presenti nei due tipi di farina di canapa hanno certamente influenzato la qualità del prodotto finito. Tutti i campioni di pane hanno mostrato buona elasticità, spessore, croccantezza e morbidezza apparente, con pochissime variazioni tra le due farine di canapa. In generale, il punteggio di giudizio è stato sempre superiore a 6, superando la soglia di accettabilità. Dal punto di vista nutrizionale, il profilo lipidico determinato sui pani (Tab. 3) ha evidenziato valori di acido linoleico ω -3 sensibilmente superiori rispetto al campione CTRL, contribuendo a ridurre il rapporto ω -6/ ω -3. In un corretto rapporto e quantità, gli acidi grassi ω -3 e ω -6 svolgono una funzione antinfiammatoria e riducono la condizione di infiammazione sistemica.

Tabella 3. Profilo lipidico dei pani

Contenuto acidi grassi (%)	CTRL	Hemp 1 5%	Hemp 1 7.5%	Hemp 1 10%	Hemp 2 5%	Hemp 2 7.5%	Hemp 2 10%
Acido $\Sigma\omega$ 6	60,46	60,24	60,06	60,09	59,37	59,82	60,50
Acido $\Sigma\omega$ 3	3,40	6,70	7,60	8,90	8,10	9,04	9,99
Rapporto ω 6/ ω 3	17,78	8,99	7,97	6,75	7,32	6,62	6,06

Riguardo il contenuto di aminoacidi, è stato osservato un incremento, rispetto al CTRL, soprattutto in glutammina, tirosina, prolina e lisina, con concentrazione crescente in Σ AA essenziali, secondo la percentuale di fortificazione.

Per quanto riguarda la pasta, i risultati migliori, soprattutto in riferimento alla fermezza e adesività, sono stati registrati per i campioni di pasta ottenuti con integrazione di farina Hemp 2, al 7,5% di sostituzione. Riguardo il contenuto totale di fenoli (TPC), i dati rivelano valori più elevati nei campioni di pasta Hemp 1 e Hemp 2, al 10% di sostituzione, con valori pari a 4,92 e 4,21 mgGAE/g rispettivamente, in accordo con l'attività antiradicalica anch'essa con valori superiori a quelli della pasta di CTRL (Tab. 4). Riguardo il profilo lipidico, in particolare il valore del rapporto ω 6/ ω 3, che nel CTRL era di 11,76 ha subito una notevole diminuzione in tutti i campioni di pasta arricchiti con farina di canapa (valori compresi tra 3.00 e 3.37) (Tab. 4).

Tabella 4. Profilo lipidico dei campioni di pasta.

Contenuto acidi grassi (%)	CTRL	Hemp 1 5%	Hemp 1 7.5%	Hemp 1 10%	Hemp 2 5%	Hemp 2 7.5%	Hemp 2 10%
Acido $\Sigma\omega$ -6	47,3	44,9	46,5	48,3	51,2	52,1	53,6
Acido $\Sigma\omega$ -3	4,02	14,7	15,5	15,9	15,3	15,6	15,9
Rapporto ω -6/ ω -3	11,76	3,05	3,00	3,03	3,34	3,34	3,37

Per quanto riguarda il contenuto di aminoacidi essenziali, nei campioni di pasta Hemp 1 e Hemp 2, al 10% di integrazione, sono stati registrati i valori più elevati, nettamente superiori al contenuto riferito alla pasta CTRL (Tab. 5).

Tabella 5. Contenuto aminoacidi essenziali nei campioni di pasta.

Contenuto aminoacidi	CTRL	Hemp 1 5%	Hemp 1 7.5%	Hemp 1 10%	Hemp 2 5%	Hemp 2 7.5%	Hemp 2 10%
Σ AA essenziali (g/100g)	2,05	2,38	3,35	4,30	3,39	4,01	4,62

In conclusione, l'integrazione fino al 10% di farina di canapa nel pane e fino al 7,5% nella pasta migliora le proprietà nutrizionali, senza alterare significativamente le caratteristiche tecnologiche. Questo approccio risponde alla crescente domanda di prodotti fortificati e sfrutta gli scarti agroalimentari, aumentando proteine, acidi grassi insaturi, fibre e minerali, a beneficio della salute umana.

Ringraziamenti

Gli autori desiderano ringraziare i fratelli Giuseppe e Francesco Sammartino, responsabili del progetto “La filiera della canapa: dal seme alla tavola” SEMINCANTA, per la fornitura di farine di canapa.

Bibliografia

- Melilli, M.G.; Di Stefano, V.; Sciacca, F.; Pagliaro, A.; Bognanni, R.; Scandurra, S.; Virzì, N.; Gentile, C.; Palumbo, M., 2020. Improvement of Fatty Acid Profile in Durum Wheat Breads Supplemented with *Portulaca oleracea* L. Quality Traits of Purslane-Fortified Bread. *Foods* 9, 764.
- Branca, F.; Arena, D.; Argento, S.; Frustaci, F.; Ciccarello, L.; Melilli, M.G., 2022. Recovery of healthy compounds in waste bracts of globe artichoke heads. *Acta Hort.* 1354, 361-366.
- Del Gatto, A.; Mengarelli, C.; Foppa Pedretti, E.; Duca, D.; Pieri, S.; Mangoni, L.; Signor, M.; Raccuia, S.A.; Melilli, M.G., 2015. Adaptability of Sunflower (*Helianthus Annuus* L.) High Oleic Hybrids to Different Italian Areas for Biodiesel Production. *Ind. Crops Prod.* 2015, 75, 108–117.
- Sciacca, F.; Palumbo, M.; Pagliaro, A.; Di Stefano, V.; Scandurra, S.; Virzì, N.; Melilli, M.G., 2021. *Opuntia cladodes* as functional ingredient in durum wheat bread: Rheological, sensory, and chemical characterization. *CyTA J. Food*, 19: 96-104.
- Gavurníková, S.; Havrlentová, M.; Mendel, L.; Čiřcová, I.; Bieliková, M.; Kraic, J., 2011. Parameters of Wheat Flour, Dough, and Bread Fortified by Buckwheat and Millet Flours. *Agriculture (Pol'nohospodárstvo)*. 57: 144-153.
- UNI 10453, 1995. Durum Wheat and Semolina-Determination of Rheological Properties Using an Alveograph. UNI: Milan, Italy.
- AACC. Approved Methods of Analysis, 11th Edition. *Cereals & Grains Association*. Available online: <https://www.cerealsgrains.org/resources/Methods/Pages/54PhysicalDoughTests.aspx> (accessed on 23 June 2022).

Caratterizzazione delle isoforme della “Agglutinina del Germe di Grano (WGA)” mediante analisi proteomica

L. Di Stasio^{1*}, S. De Caro¹, M.C. Messia², E. Marconi^{2,3}, G. Mamone¹

¹Istituto di Scienze dell’Alimentazione, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Via Roma 64, 83100 Avellino (AV).

²Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Via Francesco De Sanctis, 86100 Campobasso (CB).

³Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l’Analisi dell’economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Alimenti e Nutrizione, Via Ardeatina 546, 00178 Roma (RM).

*E-mail: luigia.distasio@isa.cnr.it

Abstract

The wheat germ agglutinin (WGA) is a lectin of approximately 18 kDa, predominantly expressed in the germinal tissue, involved in the plant's immune system and currently considered the only biomarker of wheat germ. Similar to other lectins, WGA is a globular protein that binds sugars and/or glyco-conjugates. These proteins are considered anti-nutritional elements as they affect the integrity of the intestinal epithelium. *In vitro* studies have also demonstrated that WGA possesses antifungal and antitumor properties, making it of interest for biomedical applications. A detailed analysis of WGA is of interest from both nutritional and technological perspectives, as this protein is a biomarker of whole-grain products. The aim of this study was to characterize WGA from durum wheat germ using proteomic analysis. The experimental approach involved the purification of WGA by affinity chromatography, using a glycoprotein-based resin, followed by characterization through gel-based (SDS-PAGE) and gel-free (HPLC and mass spectrometry) proteomics. LC-MS/MS analysis enabled the identification of two isoforms of WGA, named WGA1 and WGA3, and their respective proteotypic peptides, thus laying the foundations for both qualitative (technological) and quantitative (bioactivity/nutritional) analyses of WGA in germ and processed products.

Riassunto

La WGA è attualmente l’unico bio-marcatore del germe di grano. Le uniche tecniche in grado di rilevare la presenza della WGA sono l’ELISA e il Western-blot, sebbene spesso vi siano difficoltà analitiche legate al rilevamento di questa proteina in matrici più complesse. In questo studio l’applicazione di tecniche di purificazione mediante cromatografia per affinità e tecniche di spettrometria di massa ad alta risoluzione ha permesso una completa caratterizzazione della WGA e l’identificazione di due isoforme (WGA1 e WGA3). Questo approccio proteomico ha posto le basi per un’analisi non solo qualitativa ma soprattutto quantitativa della WGA nei prodotti whole-grain.

Introduzione

La crescente sensibilizzazione verso un’economia basata su un minore impatto ambientale sta incoraggiando la comunità scientifica a valorizzazione i sottoprodotti ad alto valore nutrizionale. Tra i sottoprodotti cerealicoli fortemente rivalutati negli ultimi anni ritroviamo il germe di grano che rappresenta circa il 3% del chicco intero. Grazie al suo alto contenuto proteico (28%) e alla sua ricca fonte di aminoacidi essenziali, il germe è considerato un sottoprodotto ad alto valore nutrizionale. Tra le proteine espresse nel germe di grano ritroviamo la WGA (wheat germ agglutinin), una piccola proteina (lectina) prevalentemente espressa nel tessuto germinale, coinvolta nel sistema immunitario della pianta (Di Stasio *et al.* 2024). La

WGA, e più in generale le lectine, sono considerate molecole anti-nutrizionali poiché influiscono sull'integrità dell'epitelio intestinale, compromettono l'assorbimento di altre proteine ed inducono il rilascio di mediatori chimici, aumentando così il rischio di reazioni infiammatorie. Studi *in vitro* hanno inoltre dimostrato che la WGA possiede proprietà antifungine e antitumorali, rendendola interessante per applicazioni biomediche (Balčiūnaitė-Murzienė & Dzikaras 2021).

Un'analisi dettagliata della WGA è di interesse sia dal punto di vista nutrizionale che da quello tecnologico, poiché questa proteina è un bio-marcatore dei prodotti whole-grain (Di Stasio *et al.* 2024; Marengo *et al.* 2022). In letteratura sono riportati studi sulla WGA prevalentemente mediante tecniche immunochimiche, mentre pochi riguardano la sequenza amminoacidica (Marengo *et al.* 2022). Lo scopo di questo studio è stata la caratterizzazione della WGA da germe di grano duro mediante analisi proteomica ed immunochimica.

Materiali e metodi

Il germe è stato separato manualmente dalle cariossidi di grano duro seguendo la procedura riportata da Barron *et al.* (2007). L'operazione è stata effettuata su un numero elevato di cariossidi per avere un quantitativo di germe pari a circa 1 g.

Le proteine del germe di grano duro sono state estratte con HCl 0.05 M e successivamente processate su una resina specifica a base di glicoproteine da albume d'uovo, al fine di arricchire e purificare la WGA. La resina, preparata in accordo a Zoccatelli *et al.* (2003) con alcune modifiche, è stata impaccata in colonne centrifughe (su spin-column) da 0.5 mL, sfruttando la forza centrifuga per l'eluizione, così da accelerare il processo di purificazione/arricchimento. Successivamente la WGA è stata analizzata mediante elettroforesi (SDS-PAGE) e Western-blot, utilizzando un anticorpo anti-lectina (*Triticum vulgare* antibody produced in rabbit, Sigma cod. T4144). Le bande ottenute dall'analisi elettroforetica sono state tagliate e digerite con tripsina per poi essere analizzate mediante spettrometria di massa.

In seguito, lo stesso campione è stato sottoposto ad analisi cromatografica RP-HPLC e i relativi picchi cromatografici sono stati raccolti e digeriti con tripsina per poi sottoporli ad analisi di spettrometria di massa.

L'analisi di spettrometria di massa è stata eseguita utilizzando un modello Q Exactive Orbitrap, accoppiato all'HPLC Ultimate 3000 (Thermo Scientific, San Jose, CA, USA). Gli spettri MS/MS risultanti sono stati elaborati contro il database del *Triticum* (<https://uniprot.org>), utilizzando motori di ricerca quali MaxQuant (<https://maxquant.org>) (versione 1.6.2.10) e ProteinProspector (<https://prospector.ucsf.edu/prospector/mshome.htm>). I parametri di ricerca nel database per l'analisi proteomica delle bande da gel SDS sono stati impostati come segue: carbossimetilazione della cisteina come modificazione fissa e ossidazione della metionina come modificazione variabile; una tolleranza di massa di 10 ppm per lo ione precursore e 20 ppm per i frammenti MS/MS. Di seguito è stata riportata una rappresentazione grafica del workflow utilizzato per l'analisi della WGA di germe di grano duro.

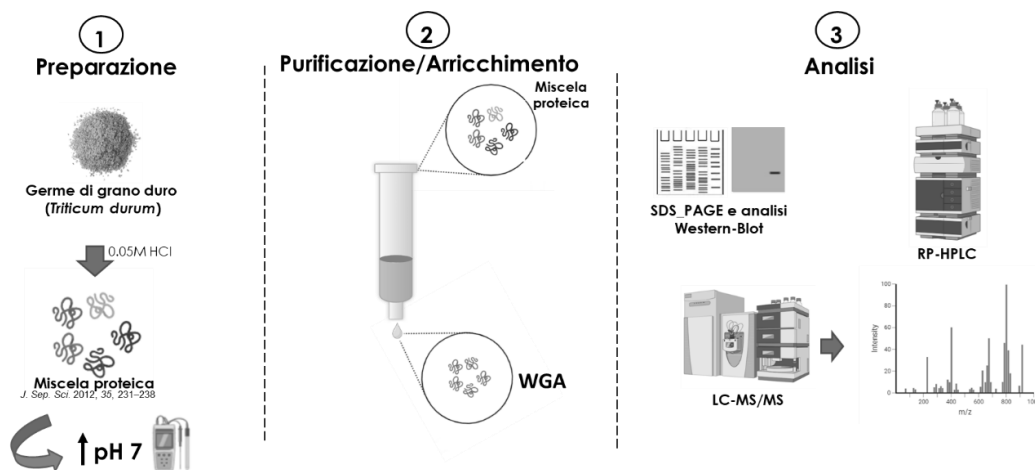


Figura 1. Rappresentazione grafica dell'approccio sperimentale adottato nello studio per l'analisi della WGA dal germe di grano duro.

Risultati e discussione

La prima fase del lavoro ha previsto l'applicazione di tecniche elettroforetiche ed immunochimiche per il rilevamento della WGA all'interno della miscela proteica estratta dal germe di grano duro. Il profilo della miscela proteica ha mostrato la presenza di diverse proteine con peso molecolare molto simile (Figura 2, Panel A, linea 2). Tra queste, le chitinasi erano le principali proteine enzimatiche identificate nel germe di grano a circa 25 kDa e, in modo meno marcato, a circa 18 kDa, insieme alle LMW-glutenine. Le bande a 13 kDa e 10 kDa sono state identificate come LTP e altre proteine enzimatiche quali istoni, EM ed inibitori dell'alfa-amilasi/tripsina. (Figura 2 Panel A, linea 2). In particolare, non sono stati identificati peptidi appartenenti alla WGA e questo risultato potrebbe essere attribuito non solo alla bassa concentrazione di questa lectina nella miscela proteica del germe di grano, ma anche alla sua struttura chimica, che rende difficile il rilevamento nell'analisi elettroforetica.

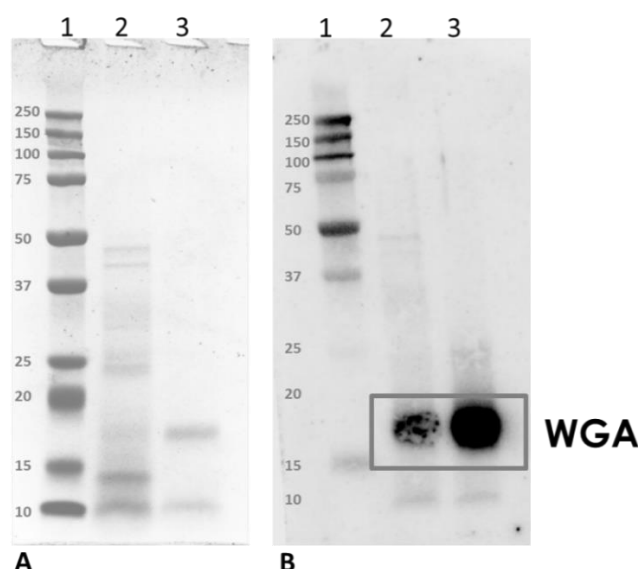


Figura 2. SDS-PAGE e Western-Blot dell'estratto di germe di grano prima e dopo arricchimento su resina di glicoproteine. Panel A SDS-PAGE: linea 1, marker molecolare; linea 2, estratto proteico del germe prima dell'arricchimento; linea 3, WGA dopo arricchimento. Panel B immunoblotting con anticorpo anti-lectina: linea 1, marker molecolare; linea 2, estratto proteico del germe prima dell'arricchimento; linea 3, WGA dopo arricchimento.

Questo risultato ha mostrato la necessità di un ulteriore step di purificazione della WGA sfruttando le sue proprietà di legare gli zuccheri. A tal fine è stata utilizzata la cromatografia di affinità su resina di glicoproteine da albume d'uovo. L'uso della cromatografia di affinità, essendo una tecnica semplice, rapida, riproducibile e altamente performante, rappresenta un valido strumento per purificare le lectine vegetali da diverse matrici. Questo approccio si è reso necessario poiché l'estratto delle proteine del germe di grano in condizioni acide include non solo la WGA, ma anche altre proteine con proprietà biologiche simili quali ad esempio le chitinasi (Figura 2 Panel A e B, linea 2). Come previsto dopo la cromatografia di affinità, l'analisi elettroforetica ha mostrato una banda a circa 18 kDa identificata come WGA, mediante Western-blot e analisi di spettrometria di massa (Figura 2, Panel A e B, linea 3). In linea con i risultati elettroforetici, l'analisi RP-HPLC della WGA dopo purificazione su colonnina per affinità, ha mostrato chiaramente la presenza di due isoforme (WGA1 e WGA3) (Figura 3) dalle quali, grazie all'analisi di spettrometria di massa alta risoluzione, è stato possibile determinare il peso molecolare. Successivamente le frazioni cromatografiche sono state raccolte, digerite con tripsina e analizzate mediante LC-MS/MS. Tale approccio ha permesso di identificare i peptidi marker (proteotipici) delle WGA1 e WGA3. Questo risultato costituisce una base fondamentale per lo sviluppo di metodi proteomici per l'analisi quantitativa della WGA in diverse specie di frumento o nei prodotti alimentari a base di cereali come i prodotti whole-grain.

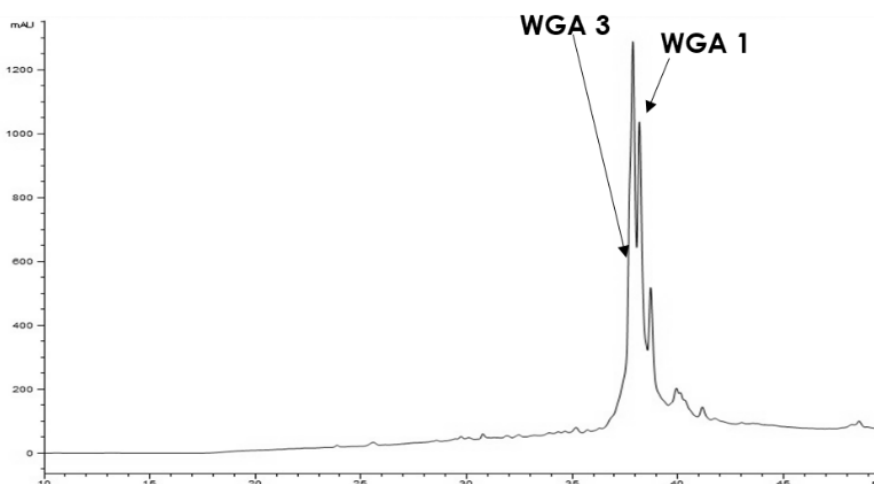


Figura 3. RP-HPLC della WGA. L'identificazione delle due isoforme WGA1 e WGA3 è stata effettuata mediante spettrometria di massa.

In conclusione, questo studio ha presentato un'analisi dettagliata della WGA di germe di grano e delle sue isoforme mediante un approccio proteomico e immunochimico. La fase iniziale di arricchimento/purificazione della WGA su resina di glicoproteine è stato un passo fondamentale per l'analisi proteomica basata sulla spettrometria di massa ad alta risoluzione, che ha fornito informazioni sulla sequenza peptidica proteotipica (peptidi marker) di questo bio-marcatore del germe di grano. Questo approccio quindi non solo ha reso possibile la caratterizzazione della WGA, ma ha posto le basi per una sua quantificazione accurata nei prodotti whole-grain.

Questo studio è finanziato da On Foods-Research and innovation network on food and nutrition Sustainability, Safety and Security-Working ON Foods"-National Recovery and Resilience Plan (NRRP), Mission 4 Component 2 Investment 1.3-Call for proposals No. 341 of 15 March

2022 of Italian Ministry of University and Research funded by the European Union-NextGenerationEU; Award Number: Project code PE00000003, Concession Decree No. 1550 of 11 October 2022 adopted by the Italian Ministry of University and Research; Project PRR.AP022.022 Spoke 4 “FOOD QUALITY AND NUTRITION-PE10-ON Foods.

Bibliografia

Balčiūnaitė-Murzienė G., Dzikaras M. 2021. Wheat germ agglutinin-From toxicity to biomedical applications. *Applied sciences*, 11(2): 884.

Barron C., Surget A., Rouau X. 2007. Relative amounts of tissues in mature wheat (*Triticum aestivum* L.) grain and their carbohydrate and phenolic acid composition. *Journal of Cereal Science*, 45: 88-96.

Di Stasio L., Messia M. C., De Caro S., Marulo S., Reale A., Mamone G., Marconi E. 2024. Functional proteomics analysis of *Triticum durum* germ. *Journal of Food Composition and Analysis*, 125: 105781.

Marengo M., Carpen A., Mamone G., Ferranti P., Iametti S. 2022. Quantification of Protein “Biomarkers” in Wheat-Based Food Systems: Dealing with Process-Related Issues. *Molecules*, 27(9): 2637.

Zoccatelli G., Dalla Pellegrina C., Vincenzi S., Rizzi C., Chignola R., Peruffo A. D. 2003. Egg-matrix for large-scale single-step affinity purification of plant lectins with different carbohydrate specificities. *Protein expression and purification*, 27(1): 182-185.

I contaminanti inorganici nel riso italiano: stato dell'arte e prospettive

M. Martin^{1}, D. Tenni², L. Celi¹, G. M. Beone³, M. C. Fontanella³, M. Romani²*

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO).

²Ente Nazionale Risi – Centro di Ricerca sul Riso – Strada per Ceretto 4, 27030 (PV).

³Dipartimento di Scienze e Tecnologie alimentari per una Filiera Agroalimentare Sostenibile, Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza Via E. Parmense 84, 29122 Piacenza (PC).

*E-mail: maria.martin@unito.it

Abstract

The traditional rice cultivation under submerged conditions and the oscillating soil redox environment deeply affects the mobility and availability of inorganic contaminants. The concentrations of arsenic (As) and cadmium (Cd) in rice are generally higher than those found in other cereal crops and the increasing attention to consumers' health justifies the stricter thresholds introduced for these elements, with upcoming limits also for nickel (Ni) in 2026. Moreover, rice cropping practices have to cope with the changing climate and the decreased water availability, with unforeseen impacts also on the concentration of inorganic contaminants in rice grain, particularly concerning the specific conditions characterizing Italian rice production. Here we present a brief overview of the studies carried out by the working group joining the Rice Research Center of Ente Nazionale Risi, the University of Turin and the Catholic University of Piacenza. While the mechanisms underpinning As and Cd mobility and plant uptake have been partly understood and management guidelines have been supplied to rice farmers, Ni uptake and accumulation by rice is still to be cleared.

Riassunto

La tradizionale coltivazione del riso in suoli sommersi modifica sostanzialmente il ciclo biogeochimico e la disponibilità dei contaminanti inorganici. Le concentrazioni di arsenico (As) e cadmio (Cd) nel riso sono generalmente superiori rispetto a quelle rilevate in altri cereali, e la crescente attenzione alla salute dei consumatori ha indotto non solo l'adozione di limiti più restrittivi per questi elementi, ma anche l'introduzione di un limite per il nichel (Ni), che entrerà in vigore nel 2026. La risicoltura deve inoltre adattarsi al clima che cambia e alla ridotta disponibilità idrica, con conseguenze difficili da prevedere anche per quanto riguarda i contaminanti inorganici nella granella, soprattutto nelle condizioni specifiche delle aree risicole italiane. Viene qui presentata una breve rassegna degli studi condotti dal gruppo di lavoro composto dal Centro Ricerche sul Riso dell'Ente Nazionale Risi, dall'Università di Torino e dall'Università Cattolica del Sacro Cuore di Piacenza. Mentre i meccanismi che regolano la mobilità e l'uptake di As e Cd da parte del riso sono meglio conosciuti ed è stato possibile fornire ai risicoltori alcuni utili suggerimenti, quelli che regolano la mobilità e l'assorbimento di Ni da parte del riso necessitano ancora di ulteriori studi.

Parole chiave: Suolo, arsenico, cadmio, nichel

Introduzione

Il riso è tradizionalmente coltivato in condizioni di suolo sommerso a cui questo cereale è particolarmente ben adattato. Questo causa però profonde differenze nelle dinamiche biogeochimiche degli elementi, sia nutritivi, sia contaminanti, nei suoli di risaia e, dunque, della loro disponibilità per il riso. In particolare, l'arsenico e il cadmio possono raggiungere concentrazioni elevate nella granella, talvolta anche oltre i limiti posti dalla Commissione Europea (2023/915), che fissano a 0.15 mg kg^{-1} la soglia massima di Cd e di As inorganico (somma di ione arseniato $[\text{As}^{\text{V}}]$ e arsenito $[\text{As}^{\text{III}}]$) nel riso bianco.

L'incremento di mobilità e disponibilità dell'As nei suoli sommersi è legato alla riduzione del Fe (da Fe^{III} a Fe^{II}) con la conseguente dissoluzione degli ossidi e ossi-idrossidi, che rappresentano il principale sito per l'immobilizzazione dell'As nel suolo, e alla riduzione dell' As^{V} ad As^{III} , più mobile e tossico. La mobilità del Cd, invece, diminuisce in condizioni anossiche per l'aumento del pH e la formazione di composti insolubili quali solfuri e idrossidi, che si sciolgono rapidamente, liberando il Cd in soluzione, al ritorno di condizioni aerobiche e al diminuire del pH. L'*uptake* dei contaminanti da parte della pianta dipende inoltre dalle fasi fenologiche e dalle caratteristiche della rizosfera. La vulnerabilità del riso all'*uptake* di contaminanti inorganici dipende quindi dalle caratteristiche del suolo, ma anche da quelle della varietà di riso coltivata e, soprattutto, dalle pratiche agronomiche utilizzate, a partire dalla gestione dell'acqua irrigua. L'attuale urgenza è quella di sperimentare strategie sempre più efficienti per ridurre contemporaneamente l'accumulo As e Cd, modulati in modo opposto dalla maggior parte delle variabili, perché i risicoltori possano venire incontro alla crescente tutela della salute dei consumatori. Rimane invece difficile, al momento, stabilire la relazione tra la mobilità del Ni nel suolo e il suo *uptake* da parte del riso. La dissoluzione di questo elemento è infatti favorita in condizioni di suolo anossico (Rinklebe e Shaheen, 2017), poiché il pool di Ni più labile è probabilmente quello associato agli ossidi di Fe, ma studi preliminari suggeriscono un maggior accumulo nel riso cresciuto in condizioni ossidanti. Questa apparente incongruenza deve essere chiarita al più presto, in modo da poter suggerire valide strategie per il contenimento della sua presenza nella granella di riso.

Materiali e metodi

Gli studi sono stati svolti a scala diversa, partendo da *survey* sistematiche svolte nel corso degli anni su tutto il territorio risicolo nazionale da parte di Ente Nazionale Risi, per conoscere le caratteristiche fisicochimiche dei suoli delle principali aree produttive in relazione a quelle del riso che vi è coltivato. Per la comprensione dei meccanismi che regolano la mobilità degli elementi nel suolo e il trasporto nella pianta ci si è avvalsi di sperimentazioni in laboratorio e in condizioni semicontrollate in mesocosmi (contenitori con volume di circa 1 m^3), in cui valutare l'interazione tra suolo e pianta potendo regolare le variabili in studio per renderne più marcati gli effetti. Alcuni dei risultati sono stati poi messi alla prova in parcelle sperimentali in campo, fino ad arrivare alla sperimentazione in azienda.

Risultati e discussione

Le concentrazioni medie di arsenico inorganico ($0.10 \pm 0.26 \text{ mg kg}^{-1}$) (Tenni *et al.*, 2017) e di cadmio $0.062 \pm 0.035 \text{ mg kg}^{-1}$ (Pastorelli *et al.*, 2018) nel riso bianco coltivato in Italia indicano un prodotto generalmente di buona qualità. I dati riguardanti i contenuti di Ni sono attualmente ancora in corso di raccolta ed elaborazione da parte dell'Ente Nazionale Risi, ma le medie sembrano decisamente inferiori al limite di 1.5 mg kg^{-1} che entrerà in vigore nel 2026.

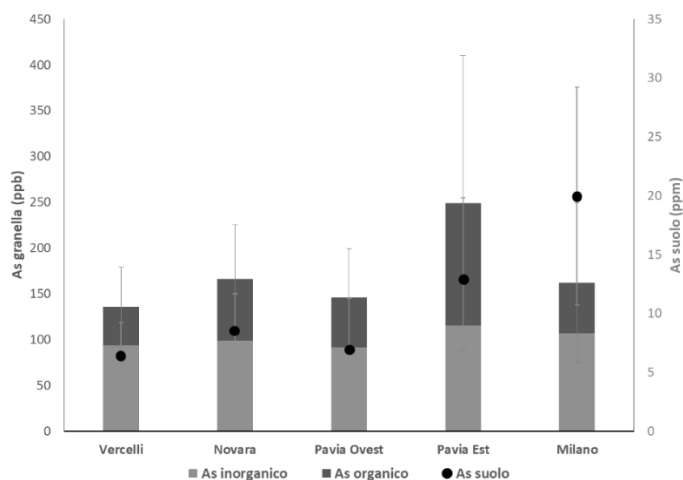


Figura 1. Concentrazioni di As inorganico e organico nella granella di riso (asse Y principale) e As totale nel suolo (asse Y secondario) nelle principali aree risicole della Pianura Padana.

La concentrazione di As nel riso è correlata, seppur debolmente, all'As totale presente nel suolo (Fig. 1), suggerendo particolari attenzioni per la gestione delle risaie con suoli più ricchi in As; tuttavia, dato che la disponibilità delle diverse forme di As nel suolo può essere molto diversa, il contenuto totale di As del suolo non è di per sé un indicatore sufficiente per prevedere il trasferimento alla granella. Tra i fattori predisponenti vi sono suoli pesanti e poco drenanti, con elevate quantità di sostanza organica labile. La disponibilità del silicio del suolo sembra in grado di contrastare, entro certi limiti, l'ingresso dell'As^{III} nell'apparato radicale del riso (Bogdan e Shenk, 2009; Tenni *et al.*, 2017); tuttavia, uno studio condotto in parcelle sperimentali presso il Centro Ricerche sul Riso dove sono stati confrontati diversi potenziali ammendanti o fertilizzanti a base di silicio non ha evidenziato particolari benefici, nemmeno a dosi molto elevate. Dalla Figura 1 si evince inoltre come al crescere della concentrazione dell'As totale aumenti più che proporzionalmente la frazione dell'As in forma organica (Tenni *et al.* 2017), non soggetta a normativa e per lo più costituita da acido dimetilarsinico. Per suoli non contaminati, come sono generalmente quelli delle risaie italiane, non si osservano correlazioni tra il contenuto di Cd del suolo (media, 0.2 mg kg⁻¹, in linea con quella dei suoli europei) e quello del riso. Non sono ancora disponibili informazioni in merito al Ni, ma si dovrà verificare se la sua maggiore presenza nei suoli derivanti da substrati litologici serpentinitici si riflette sulla concentrazione nella granella.

La variabile più importante nel regolare l'*uptake* di As da parte del riso si è confermata essere la gestione dell'acqua irrigua in risaia. Si è dimostrato che il riso assorbe la maggior parte dell'As durante la fase di levata (Fig. 2) e che periodi di asciutta programmati, anche brevi, purché in grado di riportare il suolo in condizioni ossidanti, sono efficaci nel ridurre significativamente la concentrazione di As nella pianta (Fig.2) e nella granella rispetto al controllo mantenuto in sommersione continua (Zecchin *et al.*, 2017).

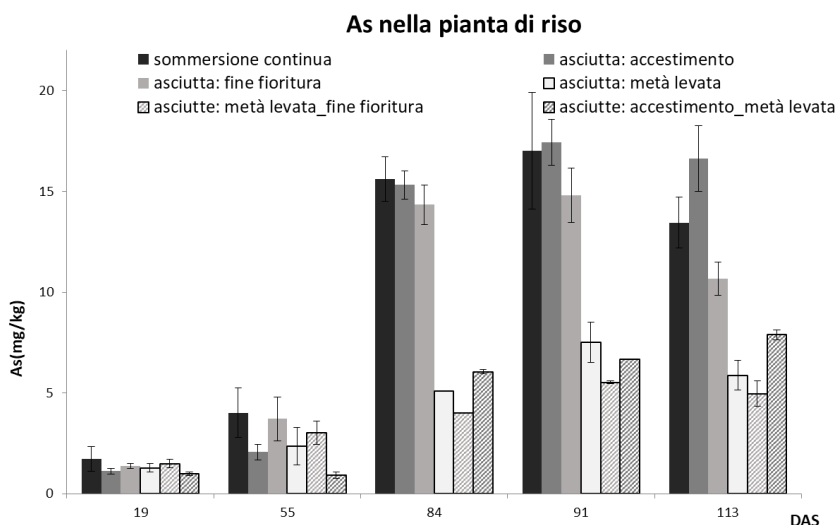


Figura 2. Effetto di asciutte effettuate in corrispondenza di differenti fasi fenologiche sulla concentrazione di As nei tessuti del riso durante il ciclo colturale.

Il Cd sembra invece essere assorbito soprattutto nelle fasi finali del ciclo colturale, a partire dalla fioritura (Fig. 3a). Poiché esso diviene più mobile in condizioni aerobiche, è importante mantenere in sommersione il suolo quanto più a lungo possibile dopo la fioritura, possibilmente fino a maturazione cerosa avanzata, in modo da evitare un significativo aumento dell'elemento nel riso. Grazie al fatto che As e Cd vengono assorbiti per lo più durante fasi fenologiche diverse, è possibile mitigare l'*uptake* di entrambi con un'attenta programmazione della gestione dell'acqua e condizioni pedologiche favorevoli. Benché la concentrazione di Ni nella soluzione del suolo tenda ad aumentare con l'anaerobiosi, come per l'As, la concentrazione nella granella appare invece favorita da condizioni maggiormente ossidanti (Fig. 3b) al pari del Cd.

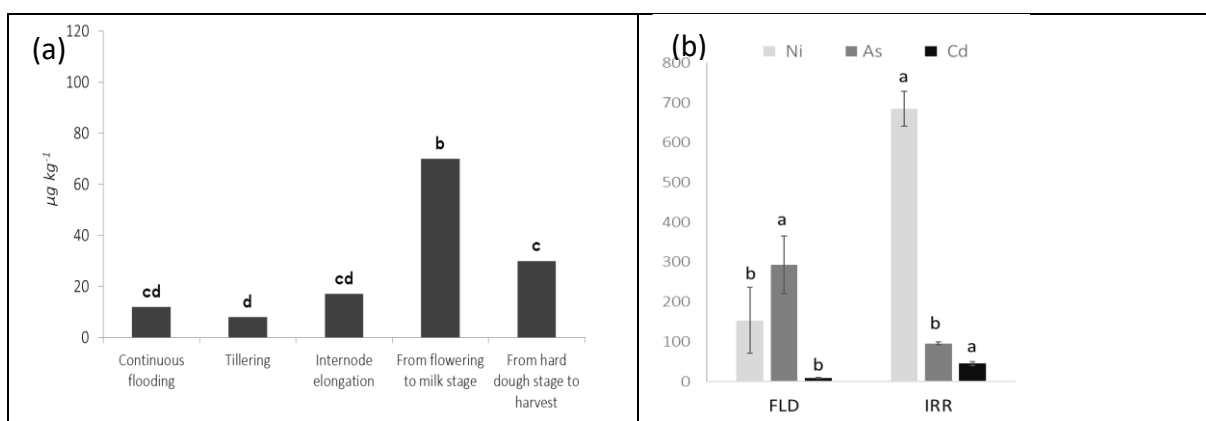


Figura 3. (a) Effetti di asciutte effettuate in corrispondenza di differenti fasi fenologiche sulla concentrazione di As nella granella del riso; (b) Confronto della sommersione continua (FLD) e dell'irrigazione turnata (IRR) sulle concentrazioni di Ni, As e Cd in granella.

Oltre a un'opportuna gestione dell'acqua, la calcitazione è un utile strumento per limitare l'*uptake* di Cd, soprattutto nel caso in cui il suolo venga gestito in condizioni aerobiche (Fig 4).

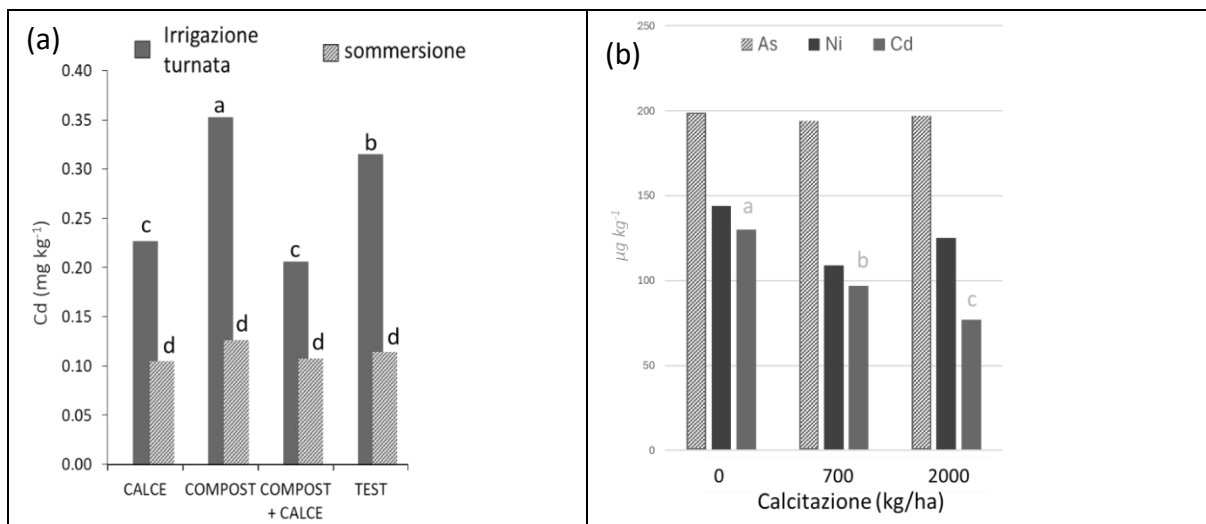


Figura 4. (a) Effetti della calcitazione e dell'aggiunta di compost sulla concentrazione di Cd nella granella di riso in condizioni di irrigazione turnata o sommersione continua (b) effetti della calcitazione sulla concentrazione di As, Ni e Cd.

L'aggiunta di materiale organico, invece, per quanto talvolta suggerita in letteratura, non si è dimostrata efficace (Fig. 4a). La calcitazione, a fronte di una chiara diminuzione del Cd, non modifica sensibilmente la concentrazione di As, mentre gli effetti sull'*uptake* di Ni sono meno chiari (Fig. 4b). Sono attualmente in corso ricerche per chiarire le dinamiche, ancora poco conosciute, del Ni in risaia in funzione delle diverse caratteristiche fisicochimiche del suolo e delle tecniche agronomiche adottate, e i meccanismi di assorbimento e traslocazione da parte della pianta di riso, in modo da individuare le possibili strategie per ridurre la concentrazione.

Bibliografia

- Bogdan K., Schenk M. K. 2009. Evaluation of soil characteristics potentially affecting arsenic concentration in paddy rice (*Oryza sativa* L.). *Environ. Pollut.*, 157(10): 2617-2621.
- Commission Regulation (EU) 2023/915 of 25 April 2023 on maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006.
- Pastorelli A.A., Angeletti R., Binato G., Boccacci Mariani M., Cibin V., Morelli S., Ciardullo S., Stacchini P. 2018. Exposure to cadmium through Italian rice (*Oryza sativa* L.): Consumption and implications for human health. *J. Food Comp. Anal.*, 69: 115-121.
- Rinklebe J., Shaheen S.M. 2017. Redox chemistry of nickel in soils and sediments: A review. *Chemosphere*, 179: 265-278.
- Tenni D., Martin, M., Barberis E., Beone G.M., Miniotti E., Sodano M., Zanzo E., Fontanella M.C., Romani M. 2017. Total As and As Speciation in Italian Rice as Related to Producing Areas and Paddy Soils Properties. *J. Agric. Food Chem.*, 65: 3443-3452.
- Zecchin S., Corsini A. Martin M., Romani M., Beone G.M., Zanchi R., Zanzo E. Fontanella M.C., Cavalca L. 2017. Rhizospheric iron and arsenic bacteria affected by water regime: Implications for metalloid uptake by rice. *Soil Biol. Biochem.* 106: 129-137.

Selezione di endofiti di riso da utilizzare in strategie di lotta biologica contro *Fusarium fujikuroi*

S. Bosco, M. Mezzalama, D. Spadaro*

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA) e Agroinnova - Centro Interdipartimentale per l'Innovazione in campo Agro-ambientale, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO).

*Email: davide.spadaro@unito.it

Abstract

Italy is the leading producer of rice in Europe. The main seed-borne disease of this crop is bakanae, caused by *F. fujikuroi*. The only synthetic fungicide approved for preventive seed treatment, fludioxonil, is a candidate for substitution. An alternative to chemical control is the use of endophytes as microbial biocontrol agents (BCAs), which, due to their close relationship with the host, can provide more effective disease prevention. The aim of the work was to isolate, select based on *in vivo* efficacy in disease reduction, and characterize rice endophytes *in vitro* to select candidate BCAs against rice bakanae disease. Among 135 isolates of rice endophytes, 18 significantly reduced the severity of bakanae disease *in vivo*. Following molecular identification and growth at 37°C to exclude off-target agricultural crop pathogens and possible human opportunistic pathogens, 5 potential BCAs were selected, which, however, displayed low efficacy in *F. fujikuroi* growth inhibition *in vitro*. Further *in vivo* biocontrol trials confirmed the efficacy of all selected strains, suggesting the importance of developing screening methods that involve the host plant to avoid discarding potential BCAs with low efficacy *in vitro*.

Riassunto

L'Italia è il principale produttore di riso in Europa. La principale malattia trasmessa per seme di questa coltura è la fusariosi, causata da *F. fujikuroi*. L'unico fungicida di sintesi approvato per la concia preventiva delle sementi, fludioxonil, è un candidato alla sostituzione. Un'alternativa alla lotta chimica è rappresentata dall'uso di endofiti come antagonisti microbici, i quali, grazie al loro stretto rapporto con l'ospite, possono garantire una maggiore efficacia di contenimento delle malattie. Lo scopo del lavoro è stato di isolare, selezionare sulla base dell'efficacia dell'attività antagonista *in vivo* e caratterizzare *in vitro* endofiti di riso per individuare microrganismi da utilizzare nella lotta contro la fusariosi. Tra 135 isolati di endofiti di riso, 18 hanno ridotto significativamente la gravità della fusariosi *in vivo*. In seguito a identificazione molecolare e crescita a 37°C per escludere, rispettivamente, patogeni di colture agrarie *off-target* e possibili patogeni opportunisti umani, sono stati selezionati 5 potenziali antagonisti, i quali tuttavia hanno determinato una ridotta riduzione della crescita di *F. fujikuroi* *in vitro*. Un'ulteriore prova di difesa biologica *in vivo* ha confermato l'efficacia di tutti i ceppi selezionati, suggerendo l'importanza della messa a punto di metodi di selezione sulla pianta ospite per evitare di scartare potenziali antagonisti aventi ridotta efficacia *in vitro*.

Introduzione

Il riso è tra le più importanti colture agrarie nel mondo e l'Italia rappresenta il maggiore produttore in Europa (Kraehmer *et al.*, 2017). La fusariosi, causata dal fungo emibiotrofo *F. fujikuroi* Nirenberg [teleomorfo *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Ito in Ito & K. Kimura], rappresenta la principale malattia trasmessa per seme di questa coltura. I sintomi principali comprendono clorosi fogliare e allungamento degli internodi causato dalla sovrapproduzione di acido gibberellico, di origine sia vegetale che fungina, durante la fase biotrofica (Siciliano *et al.*, 2015). In stadi successivi, il patogeno può portare a necrosi del colletto e sterilità delle

pannocchie. Questa malattia ha guadagnato l'attenzione delle aziende sementiere in quanto l'unico fungicida di sintesi approvato per la concia delle sementi, fludioxonil, è un candidato alla sostituzione. Una soluzione promettente in alternativa alla lotta chimica è rappresentata dagli antagonisti microbici, che possono contenere le malattie delle piante adottando diversi meccanismi d'azione, quali antibiosi, competizione per spazio e/o nutrienti, iperparassitismo e produzione di enzimi litici, induzione di resistenza nell'ospite e manipolazione del microbiota residente. Il principale collo di bottiglia dell'utilizzo di microrganismi vivi nella lotta biologica, tuttavia, è rappresentato dalla loro spesso scarsa efficacia in condizioni di campo. Gli endofiti, grazie al loro stile di vita basato sulla colonizzazione dei tessuti interni dell'ospite, possono potenzialmente garantire una maggiore efficacia di contenimento della malattia possedendo, oltre che conferendo all'ospite, una più ampia tolleranza agli stress abiotici (Collinge *et al.*, 2019). Lo scopo del lavoro è stato di isolare endofiti di riso e selezionarli sulla base dell'efficacia dell'attività antagonista *in vivo* per individuare potenziali agenti di lotta biologica nei confronti di *F. fujikuroi*. Gli isolati selezionati sono stati identificati molecolarmente e caratterizzati *in vitro* per escludere potenziali patogeni vegetali o umani ed esplorarne il potenziale inibitorio nei confronti di *F. fujikuroi* in assenza dell'ospite vegetale. L'efficacia di antagonismo *in vivo* dei ceppi più promettenti è stata confermata valutando variabili aggiuntive, quali l'incidenza della malattia e la biomassa fresca totale.

Materiali e metodi

Cariossidi di 24 linee italiane di riso sono stati utilizzati per l'isolamento di endofiti. Tra queste, 5 genotipi sono stati coltivati in serra per 4 settimane allo scopo di campionare e isolare dall'apparato epigeo del riso (pool di culmi e foglie). L'isolamento è stato condotto su 1 g di tessuto (cariossidi o apparato epigeo) sottoposto a sterilizzazione superficiale utilizzando, in sequenza, etanolo 70%, ipoclorito di sodio all'1-2%, etanolo e 5 lavaggi con acqua deionizzata sterile, utilizzando ipoclorito di sodio all'1% per l'apparato epigeo e al 2% per le cariossidi. L'assenza di epifiti è stata verificata mettendo in coltura su substrato agarizzato l'ultima acqua di lavaggio. L'isolamento di funghi endofiti è consistito nel mettere in coltura su substrato agarizzato i tessuti sterilizzati superficialmente. Per i batteri endofiti i tessuti sono stati omogeneizzati con mortaio e pestello, diluiti serialmente e messi in coltura su substrato agarizzato. Morfotipi unici sono stati coltivati in purezza e conservati a -80°C in glicerolo. La selezione dei microrganismi si è basata sull'efficacia antagonista nei confronti di *F. fujikuroi in vivo* in condizioni controllate. Sono stati usati un ceppo virulento del patogeno (A5) e la cultivar Galileo, suscettibile alla malattia (Amatulli *et al.* 2010) per valutare l'eventuale riduzione dei sintomi operata dagli endofiti. Le prove hanno incluso un testimone sano (non trattato con endofiti né inoculato con il patogeno), un testimone inoculato (non trattato con endofiti e inoculato con il patogeno) e un testimone chimico (inoculato con il patogeno e successivamente trattato con fludioxonil). Le sospensioni microbiche degli endofiti da saggiare alla concentrazione di 10^7 CFU ml⁻¹ sono state preparate in soluzione di Ringer addizionata dell'adesivante sodio-carbossimetilcellulosa allo 0,5% e le cariossidi sono state trattate per immersione. L'inoculazione artificiale con *F. fujikuroi* alla concentrazione di 10^5 CFU ml⁻¹ è avvenuta mediante immersione in presenza di un agente adesivante. La semina è avvenuta in vaschette contenenti un substrato a base di torba (60%) e di sabbia (40%) in serra ad una temperatura di $27 \pm 5^\circ\text{C}$ di giorno e $22 \pm 5^\circ\text{C}$ di notte. Sono stati svolti rilievi a 7, 14, 21 e 28 giorni post germinazione per valutare la gravità della malattia, utilizzando una scala da 0 a 4 e poi convertendo i dati in percentuale utilizzando la formula di McKinney.

Gli isolati che hanno mostrato miglior efficacia nel contenimento della fusariosi *in vivo* sono stati identificati molecolarmente utilizzando i geni marcatori ITS per i funghi filamentosi e 16S per i batteri per escludere potenziali patogeni vegetali su colture economicamente rilevanti.

Un'ulteriore selezione è stata operata in base al tasso di crescita a 37° per escludere potenziali patogeni umani opportunisti. I ceppi selezionati sono stati saggiati *in vitro* utilizzando la coltura duale e il metodo sandwich per verificare la capacità inibitoria nei confronti di *F. fujikuroi*, calcolata come percentuale di riduzione della crescita del patogeno in presenza degli endofiti rispetto a capsule di controllo contenenti solo il patogeno. È stata svolta un'ulteriore prova di lotta biologica *in vivo* per confermare l'efficacia dei ceppi selezionati, valutando, oltre alla gravità della malattia, l'incidenza della fusariosi e la biomassa fresca totale a fine prova.

Risultati e discussione

Sono stati isolati 135 microrganismi endofiti da cariossidi di 24 cultivar italiane di riso e dall'apparato epigeo di 5 cultivar tolleranti alla fusariosi. Sono stati saggiati 45 isolati per volta in 3 prove indipendenti allo scopo di individuare endofiti in grado di ridurre significativamente la gravità della fusariosi. Sono stati selezionati 18 isolati, di cui 7 funghi e 11 batteri, che hanno ridotto del 35-40% la gravità della malattia rispetto al testimone inoculato.

Gli endofiti selezionati sono stati sottoposti a identificazione molecolare e crescita a 37°C per escludere, rispettivamente, patogeni di colture agrarie *off-target* e possibili patogeni opportunisti umani. Questa ulteriore fase di selezione ha portato ad ottenere cinque potenziali antagonisti appartenenti ai generi *Epicoccum*, *Microbacterium* e *Methylobacterium*. La percentuale di riduzione della crescita di *F. fujikuroi in vitro*, verificata mediante coltura duale e metodo sandwich, è risultata limitata in tutti i ceppi (1-10%), tranne nel caso di *Epicoccum catenisorum* ceppo RS-GAL41 nella coltura duale (25%, Figura 1).

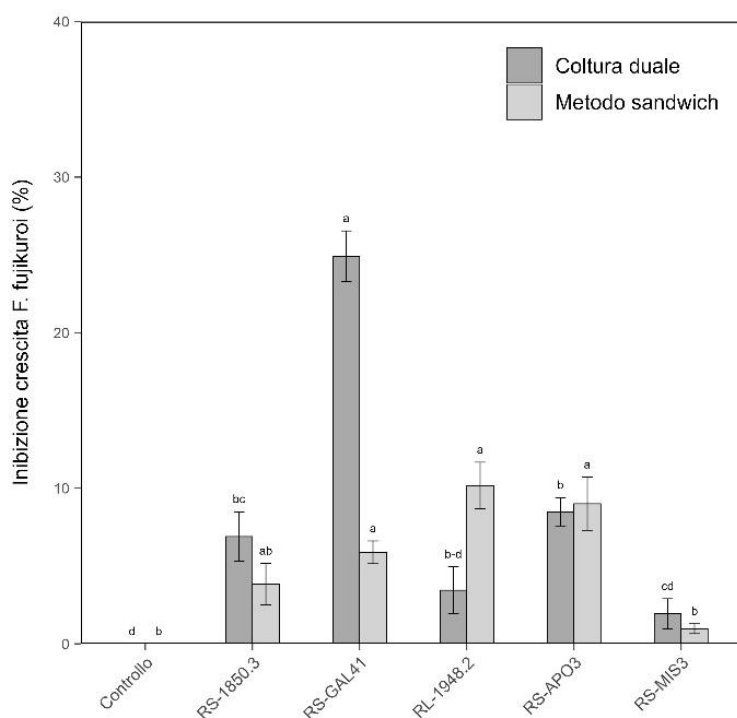


Figura 1. Saggi di inibizione della crescita di *F. fujikuroi in vitro* operata dai potenziali antagonisti selezionati valutata mediante coltura duale (grigio scuro) e metodo sandwich (grigio chiaro). Lettere diverse su diverse barre indicano differenze statisticamente significative ($P \leq 0,05$) sulla base del test di Games-Howell.

Un'ulteriore prova di difesa biologica *in vivo* ha confermato l'efficacia di tutti i ceppi selezionati nel contenimento della malattia, determinando una riduzione della gravità rispetto al testimone inoculato tra il 25 e il 35% (Figura 2). *Epicoccum layuense* ceppo RS-1850.3 e *Methylobacterium oryzae* ceppo RS-MIS3, non hanno avuto un effetto significativo nella riduzione dell'incidenza della malattia (15%), ma, insieme a *E. catenisporum* ceppo RS-GAL41, hanno portato ad un incremento significativo della biomassa fresca totale rispetto al testimone inoculato e statisticamente simile al testimone sano. I trattamenti con i ceppi RL-1948.2 e RS-APO3 appartenenti alla specie *Microbacterium testaceum* hanno determinato una riduzione significativa sia della gravità che dell'incidenza della fusariosi, mentre la biomassa fresca totale non è incrementata rispetto al testimone inoculato.

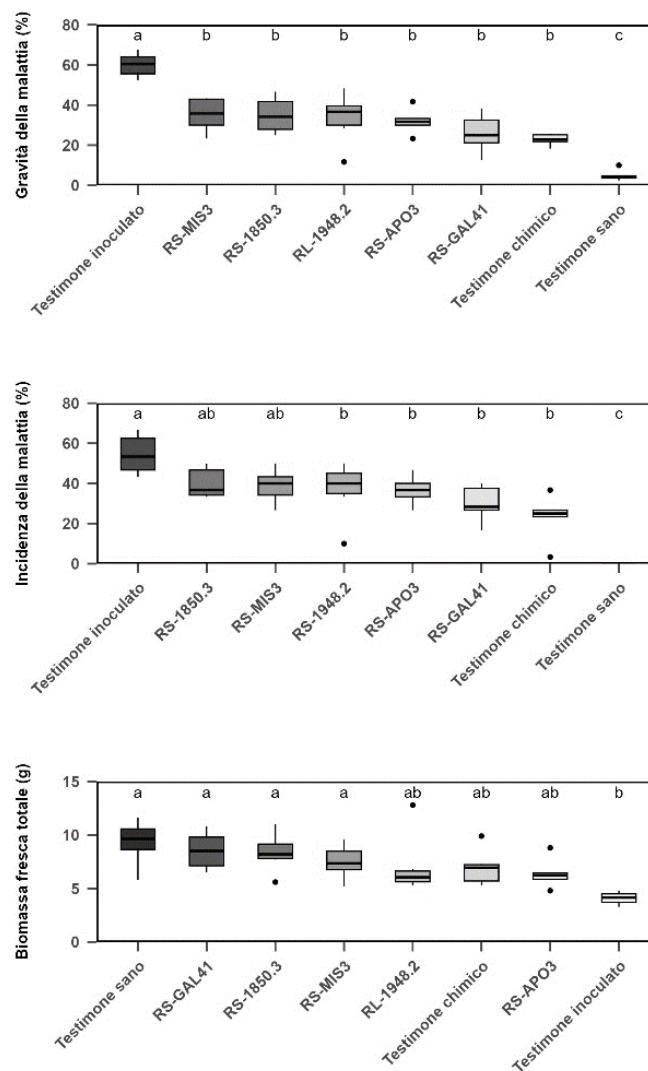


Figura 2. Prova di lotta biologica per confermare l'efficacia *in vivo* dei ceppi selezionati valutando la riduzione di incidenza e gravità e l'aumento della biomassa rispetto al testimone inoculato. Lettere diverse indicano differenze significative ($P \leq 0,05$) sulla base del test di Tukey.

La diversa efficacia di contenimento di *F. fujikuroi* *in vitro* e *in vivo* operata dagli endofiti selezionati nel presente studio potrebbe essere dovuta a meccanismi d'azione di antagonismo legati alla presenza dell'ospite, quali l'induzione della resistenza e la manipolazione del microbiota residente a svantaggio del patogeno, che verranno elucidati mediante studi di espressione genica e analisi del microbioma a diversi stadi fenologici del riso. Questi risultati suggeriscono, inoltre, l'importanza della messa a punto metodi di selezione sulla pianta ospite per evitare di scartare potenziali antagonisti non efficaci *in vitro*, in quanto spesso non sono correlati all'efficacia *in vivo* né consentono di considerare la tolleranza agli stress abiotici in condizioni, dalla serra al campo, sempre più avverse. In un'ottica di applicazione su larga scala, infine, i ceppi più promettenti saranno scelti anche in base a caratteristiche tecniche quali la capacità di sopravvivenza a processi di stabilizzazione, quali la liofilizzazione, e diverse formulazioni per garantire un'efficacia stabile anche in condizioni di campo.

Bibliografia

- Amatulli M.T., Spadaro D., Gullino M.L., Garibaldi A. 2010. Molecular identification of *Fusarium* spp. associated with bakanae disease of rice in Italy and assessment of their pathogenicity. *Plant Pathology*, 59(5): 839-844.
- Collinge D. B., Jørgensen H. J., Latz M. A., Manzotti A., Ntana F., Rojas E. C., Jensen B. 2019. Searching for novel fungal biological control agents for plant disease control among endophytes. In: *Endophytes for a growing world*. Hodkinson T., Doohan F., Saunders M. and Murphy B. Eds. Cambridge University Press.
- Kraehmer H., Thomas C., Vidotto F. 2017. Rice production in Europe. In: *Rice Production Worldwide*. Chauhan B., Jabran K. and Mahajan G. Eds. Springer, Cham.
- Siciliano I., Amaral C.A., Spadaro D., Garibaldi A., Gullino M.L. 2015. Jasmonic acid, abscisic acid and salicylic acid are involved in the phytoalexin responses of rice to *Fusarium fujikuroi*, a high gibberellin producer pathogen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63: 8134-8142.

Ottimizzazione di gnocchi *gluten-free* a base di sfarinato di ceci

V. Imeneo*, C. Cappa, C. Alamprese

Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente (DeFENS), Università degli Studi di Milano, Via Celoria 2, 20133 Milano (MI).

*E-mail: valeria.imeneo@unimi.it

Abstract

The aim of this study was the design of gluten-free gnocchi made with chickpea flour raw or heat-treated by extrusion-cooking or turbo-cooking. The extruded chickpea flour presented distinctive technological properties and the corresponding optimized gnocchi showed characteristics comparable with a fresh pasta of good quality, such as solids loss during cooking less than 3%. Consistency of the optimized gnocchi was higher than that of traditional and gluten-free gnocchi based on potato flakes and starch, probably due to the lower moisture (48.3% vs. 58.1-57.9%) and weight gain after cooking (2.4% vs. 6.7-10.9%).

Riassunto

Lo scopo del lavoro è stato quello di sviluppare e ottimizzare gnocchi *gluten-free* a base di sfarinato di ceci tal quale o sottoposto a due tipologie di trattamento termico (estrusione-cottura e turbo-cottura). Lo sfarinato sottoposto a trattamento termico per estrusione-cottura ha mostrato interessanti proprietà tecnologiche e gli gnocchi ottenuti hanno mostrato caratteristiche paragonabili ad una pasta fresca di qualità, come una perdita di solidi in cottura contenuta (inferiore al 3%). La consistenza degli gnocchi ottimizzati a base di sfarinato di ceci è risultata superiore rispetto a quella di gnocchi tradizionali e *gluten-free* a base di fiocchi e fecola di patate, aspetto riconducibile al minore valore di umidità (48.3% vs. 58.1-57.9%) e al minor incremento peso post-cottura (2.4% vs. 6.7-10.9%).

Introduzione

Il crescente consumo di alimenti *gluten-free* ha comportato un maggiore interesse verso sfarinati senza glutine innovativi. In questo contesto, gli sfarinati di legumi sono considerati dei validi ingredienti poiché sono naturalmente *gluten-free* e possiedono un interessante profilo nutrizionale, compensando la scarsità di alcuni nutrienti comunemente evidenziata in prodotti senza glutine (Foschia *et al.*, 2017). In particolare, nella pasta senza glutine è noto che l'amido gelatinizzato e l'organizzazione delle proteine alternative al glutine ricoprono un ruolo rilevante ai fini della realizzazione di un prodotto dalla struttura adeguata (Mariotti *et al.*, 2011). L'applicazione di trattamenti termici opportunamente disegnati può modificare le proprietà tecno-funzionali delle farine di legumi, evitando o riducendo l'utilizzo di additivi nella formulazione del prodotto finale (Pasqualone *et al.*, 2021).

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di sviluppare e ottimizzare una formulazione di gnocchi a base di sfarinato di ceci, studiando l'effetto della quantità di acqua aggiunta e del trattamento termico della farina. L'idea di focalizzare l'attenzione sulla formulazione di pasta fresca nasce dal fatto che si tratta di uno degli alimenti maggiormente diffusi e apprezzati in tutto il mondo. Inoltre, lo studio ha permesso di sviluppare un prodotto ideale per soddisfare la crescente richiesta da parte dei consumatori di alimenti *gluten-free* con buone proprietà nutrizionali.

Materiali e metodi

Inizialmente, sono stati caratterizzati tre differenti tipologie di sfarinati di ceci: tal quale (C_TQ) e sottoposto a estrusione-cottura (C_EC) o turbo-cottura (C_TC). La caratterizzazione degli sfarinati ha previsto la valutazione della granulometria (D_{90} , indice espressione del 90% delle particelle dello sfarinato con dimensioni inferiori al valore rilevato; Mastersizer 3000, Malvern Panalytical, Cambridge, UK), della quantità di amido danneggiato (kit specifico, Megazyme International Ireland Ltd., Bray, Wicklow, Irlanda), del grado di solubilità in acqua fredda (Singh & Singh, 2003), della capacità di ritenzione dell'acqua (WRC, water retention capacity; Cappa *et al.*, 2018), della capacità di assorbimento dell'olio (OAC, oil absorption capacity; Turan *et al.*, 2015) e delle proprietà viscoamilografiche (Tuna *et al.*, 2023).

Successivamente, per ottimizzare la formulazione degli gnocchi si è impostato un disegno sperimentale considerando come fattori la tecnologia di trattamento dello sfarinato di ceci e la quantità di acqua impiegata per produrre l'impasto (range 70-140% sul peso dello sfarinato). I 12 campioni di impasto risultanti dal disegno sperimentale sono stati caratterizzati in termini di consistenza e lavorabilità mediante test dinamometrici. I risultati ottenuti hanno poi permesso di calcolare una formulazione ottimizzata per gli gnocchi a base di 100% sfarinato di ceci. Il campione ottimizzato (GN_OPT) è stato prodotto su scala artigianale e le sue caratteristiche qualitative sono state confrontate con quelle di gnocchi prodotti a partire da preparati commerciali per gnocchi tradizionali (GN_STD) a base di fiocchi e fecola di patate e farina di frumento tenero, e gnocchi *gluten-free* (GN_GF) a base di amido di mais, fiocchi e fecola di patate e farina di riso. Gli gnocchi di riferimento sono stati preparati utilizzando la quantità d'acqua consigliata in etichetta, pari a 131.7% e 120% sul peso del preparato, rispettivamente per GN_STD e GN_GF. La caratterizzazione qualitativa degli gnocchi ha previsto la determinazione del grado di umidità degli gnocchi crudi, del colore degli gnocchi cotti in scala CIE $L^*a^*b^*$, il comportamento in cottura, espresso come incremento di peso e residuo solido rilasciato nell'acqua di cottura, e la consistenza degli gnocchi cotti, determinata mediante test di compressione, taglio ed estrusione (cella di Kramer) in accordo con Cappa *et al.* (2021). La cottura è stata condotta in condizioni standard per tutti i campioni, cuocendo gli gnocchi con un rapporto in peso campione: acqua minerale di 1:10 (residuo fisso acqua a 180°C pari a 88.3 mg/L), senza aggiunta di sale. La cottura è stata protratta per 1 min, poi la pasta è stata scolata e lasciata raffreddare per 20 minuti all'interno di un contenitore chiuso ermeticamente prima di essere sottoposta ad analisi.

I dati analitici ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica (analisi della varianza a una via, seguita dal test della differenza minima significativa, $p < 0.05$) al fine di evidenziare le differenze significative tra le differenti tipologie di sfarinati di ceci e tra gli gnocchi di ceci e i riferimenti.

Risultati e discussione

Gli sfarinati di ceci termotrattati hanno mostrato una granulometria maggiore rispetto allo sfarinato tal quale (Tab. 1), riconducibile alle diverse procedure di macinazione adottate. Tale aspetto, insieme alla parziale gelatinizzazione dei granuli di amido provocata dall'applicazione del trattamento termico, ha influenzato anche il quantitativo di amido danneggiato (Fig. 1). Infatti, C_EC ha mostrato un livello maggiore di amido danneggiato, suggerendo che la procedura di macinazione impiegata e il trattamento di estrusione-cottura possano aver avuto effetti più marcati sulle proprietà tecnologiche dello sfarinato. Infatti, il campione C_EC ha mostrato un minore grado di solubilità in acqua, aspetto attribuibile alla maggiore granulometria riscontrata per questo sfarinato, oltre che a possibili cambiamenti a livello della struttura delle proteine dello sfarinato in seguito all'applicazione del trattamento termico.

Tabella 1. Principali caratteristiche tecnologiche degli sfarinati di ceci tal quale (C_TQ), estruso (C_EC) e sottoposto a turbo-cottura (C_TC).

^{a-c}, a lettere diverse nella stessa colonna corrispondono valori medi significativamente differenti.

	Granulometria (μm) D ₉₀	WRC (%)	OAC (mL/g)
C_TQ	387 ± 2 ^a	86 ± 5 ^a	1.01 ± 0.03 ^a
C_EC	526 ± 17 ^c	143 ± 2 ^c	1.00 ± 0.03 ^a
C_TC	483 ± 5 ^b	117 ± 1 ^b	1.14 ± 0.04 ^b

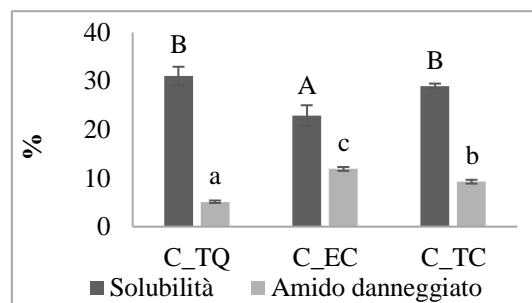


Figura 1. Principali caratteristiche tecnologiche degli sfarinati di ceci tal quale (C_TQ), estruso (C_EC) e sottoposto a turbo-cottura (C_TC).

^{a-c}; ^{A-B} a lettere diverse corrispondono valori medi significativamente differenti.

Gli sfarinati termotrattati hanno mostrato, inoltre, un significativo miglioramento in termini di capacità di ritenzione dell'acqua, aspetto legato alla gelatinizzazione dei granuli d'amido e ad una possibile riorganizzazione della struttura proteica (Tab. 1). I maggiori valori di WRC sono, infatti, stati riscontrati nel campione C_EC caratterizzato dal livello più elevato di amido danneggiato. Significative variazioni in seguito al trattamento termico sono state riscontrate anche in merito alla capacità di assorbimento dell'olio da parte dello sfarinato sottoposto a turbo-cottura (C_TC), caratteristica importante nelle formulazioni alimentari, poiché ingredienti con elevati valori di OAC favoriscono un maggiore apprezzamento degli attributi sensoriali dell'alimento (Turan *et al.*, 2015).

Un ulteriore fattore rilevante nella caratterizzazione di uno sfarinato sono le proprietà viscoamilografiche, influenzate dal grado di gelatinizzazione dell'amido. Come riportato in Figura 2, durante il test viscoamilografico, all'aumentare della temperatura si è assistito ad un progressivo aumento della viscosità della sospensione sfarinato: acqua, fenomeno dovuto al rigonfiamento dei granuli d'amido fino alla loro rottura e alla conseguente fuoriuscita dell'amilosio. Ciò è avvenuto in maniera più contenuta per i campioni termotrattati per i quali non è stato possibile evidenziare un picco di gelatinizzazione ben definito; tale comportamento è risultato ancora più evidente nel campione C_EC ad ulteriore conferma dell'avvenuta destrutturazione dei granuli di amido già durante il trattamento di estrusione-cottura.

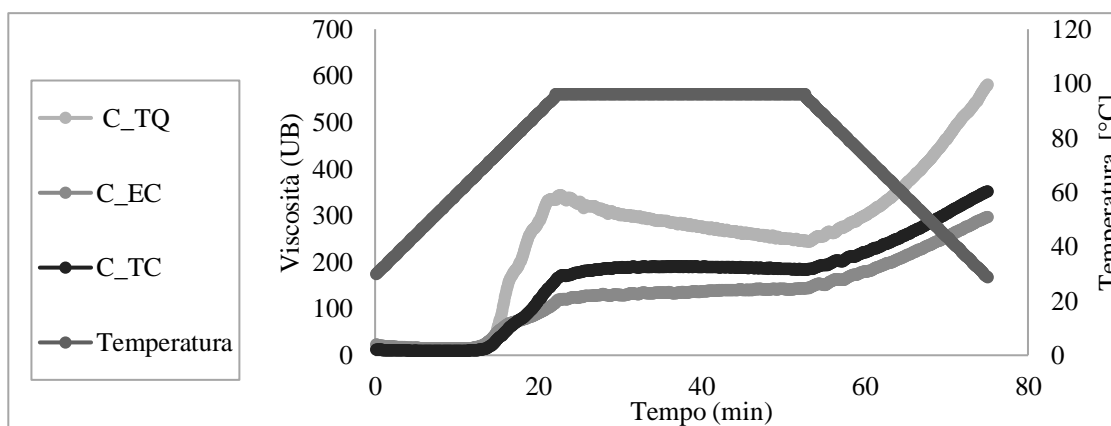


Figura 2. Curve viscoamilografiche degli sfarinati di ceci tal quale (C_TQ), estruso (C_EC) e sottoposto a turbo-cottura (C_TC). UB, Unità Brabender.

Durante la successiva fase di raffreddamento, si è osservato un aumento di viscosità dovuto alla riorganizzazione di amilosio e amilopectina all'interno del granulo di amido e alla formazione di una struttura reticolare che coinvolge anche le componenti proteiche e le fibre presenti nella matrice. Gli sfarinati di ceci termotrattati hanno mostrato valori di viscosità finali più contenuti del campione tal quale, in quanto i granuli di amido erano già stati gelatinizzati e retrogradati in seguito al trattamento termico.

L'ottimizzazione della formulazione degli gnocchi a base di sfarinato di ceci è stata realizzata applicando un disegno sperimentale *I-Optimal* a due fattori: quantità di acqua aggiunta (*range* 70-140%, rispetto al peso dello sfarinato) e tipologia di trattamento termico applicato allo sfarinato (estrusione-cottura; turbo-cottura). I 12 impasti ottenuti (comprese le repliche di tre punti sperimentali) sono stati caratterizzati in termini di consistenza e lavorabilità, mediante test di estrusione e adesività. Per l'ottimizzazione numerica, basata sulla funzione di desiderabilità, è stato considerato come obiettivo un intervallo di estrudibilità di 4100-6200 mJ, calcolato in base ai valori ottenuti dall'analisi degli impasti prodotti con la miscela commerciale tradizionale (STD) o *gluten-free* (GF), a base di fiocchi e fecola di patate. Il valore di desiderabilità più alto (1.00) è stato ottenuto con lo sfarinato trattato per estrusione-cottura e l'84% di acqua aggiunta, con un valore di estrudibilità pari a 5413 ± 142 mJ. Come mostrato in Figura 3, gli gnocchi ottimizzati (GN_OPT) sono risultati ben formati e caratterizzati dalla tipica rigatura superficiale, come gli gnocchi di riferimento contenenti glutine (GN_STD) e *gluten-free* (GN_GF), a conferma che la formulazione e le condizioni di processo impiegate (es. nella fase di impastamento e formatura) sono idonee per l'ottenimento del prodotto desiderato. Anche dopo la cottura, tutti i campioni di gnocchi hanno mantenuto la forma e la rigatura caratteristica di questa tipologia di pasta fresca senza presentare eccessivi disfacimenti del prodotto.

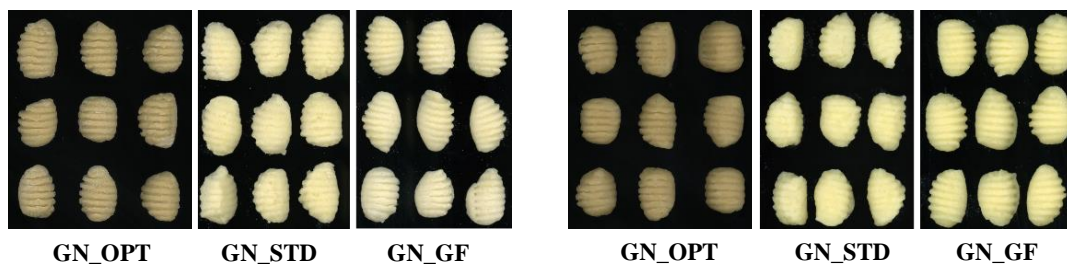


Figura 3. Immagine dei campioni di gnocchi crudi (a sinistra) e cotti (a destra) realizzati con sfarinato di ceci sottoposto a estrusione-cottura (GN_OPT), con preparato commerciale a base di fiocchi e fecola di patate e farina di frumento tenero (GN_STD) e con preparato commerciale a base di fiocchi e fecola di patate e ingredienti *gluten-free* (GN_GF).

In Tabella 2 sono riportati i risultati relativi alla caratterizzazione dei campioni di gnocchi cotti. Dall'analisi del colore si è evidenziata, come atteso, una significativa differenza tra gli gnocchi a base di sfarinato di ceci estruso e gli gnocchi impiegati come riferimenti, data dalle differenti tipologie di sfarinati impiegati. Differenze significative tra i diversi campioni di gnocchi sono state riscontrate anche in termini di incremento di peso a seguito della cottura: gli gnocchi di ceci, infatti, hanno mostrato un valore minore rispetto agli gnocchi di riferimento (2.4% vs. 6.7-10.9%), ad indicare un inferiore assorbimento di acqua a parità di tempo di cottura. GN_OPT ha mostrato un valore di perdita di solidi in cottura paragonabile a GN_STD e leggermente superiori a GN_GF (2.5% vs. 1.3-2.6%), indice di una pasta fresca *gluten-free* di buona qualità (Cappa *et al.*, 2021). In linea generale, la pasta fresca *gluten-free* mostra maggiori perdite di solidi in cottura rispetto alla pasta di frumento, proprio a causa dell'assenza della maglia glutinica. Nel caso degli gnocchi di riferimento *gluten-free* (GN_GF), la minore perdita di solidi in cottura potrebbe essere dovuta al fatto che nella formulazione del preparato impiegato erano presenti addensanti.

Aspetto fondamentale per la buona accettabilità da parte dei consumatori è la consistenza degli gnocchi dopo la cottura. Gli gnocchi di ceci ottenuti nelle condizioni ottimizzate hanno mostrato una consistenza maggiore (363 ± 15 N) a quella degli gnocchi di riferimento (130-216 N); tale aspetto è riconducibile al contenuto di umidità del prodotto crudo pari a $48.3 \pm 0.1\%$, significativamente inferiore rispetto a GN_STD ($58.1 \pm 0.4\%$) e GN_GF ($57.9 \pm 0.8\%$) e al minore assorbimento di acqua in cottura che determina un minor incremento di peso in cottura.

Tabella 2. Principali caratteristiche qualitative degli gnocchi cotti contenuti 100% sfarinato di ceci sottoposto a estrusione-cottura (GN_OPT), con preparato commerciale con fiocchi e fecola di patate e farina di frumento tenero (GN_STD) e con preparato commerciale con fiocchi e fecola di patate e ingredienti *gluten-free* (GN_GF).

	Colore			Incremento peso in cottura (%)	Perdita solidi in cottura (%)	Consistenza (N)
	L*	a*	b*			
GN_OPT	69.9 ± 1.6^a	-3.9 ± 0.2^b	28.9 ± 1.2^b	2.4 ± 0.5^a	2.5 ± 0.2^b	365 ± 15^c
GN_STD	75.9 ± 0.7^b	-7.8 ± 0.5^a	20.7 ± 1.6^a	10.9 ± 1.2^c	2.6 ± 0.2^b	130 ± 7^a
GN_GF	75.7 ± 1.7^b	-7.9 ± 0.4^a	20.3 ± 1.5^a	6.7 ± 0.9^b	1.3 ± 0.2^a	216 ± 19^b

In conclusione, dai risultati ottenuti è possibile affermare che lo sfarinato di ceci trattato per estrusione-cottura può essere utilizzato per la produzione di gnocchi *gluten-free*, fornendo al consumatore un prodotto alternativo a quelli attualmente presenti sul mercato e caratterizzato da buone proprietà nutrizionali e qualitative, soprattutto dopo cottura.

Ringraziamenti

Studio finanziato dal progetto LOCALNUTLEG, nell'ambito dell'iniziativa PRIMA dell'Unione Europea.

Bibliografia

- Cappa C., Kelly J. D., Ng P. K. W. 2018. Seed characteristics and physicochemical properties of powders of 25 edible dry bean varieties. *Food Chemistry*, 253: 305-313.
- Cappa C., Laureati M., Casiraghi M.C., Erba D., Vezzani M., Lucisano M., Alamprese C. 2021. Effects of red rice or buckwheat addition on nutritional, technological, and sensory quality of potato-based pasta. *Foods*, 10: 91.
- Foschia M., Horstmann S. W., Arendt E. K., Zannini E. 2017. Legumes as functional ingredients in gluten-free bakery and pasta products. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8: 75-96.
- Mariotti M., Iametti S., Cappa C., Rasmussen P., Lucisano M. 2011. Characterisation of gluten-free pasta through conventional and innovative methods: Evaluation of the uncooked products. *Journal of Cereal Science*, 53(3): 319-327.
- Pasqualone A., Costantini M., Labarbuta R., Summo C. 2021. Production of extruded-cooked lentil flours at industrial level: Effect of processing conditions on starch gelatinization, dough rheological properties and techno-functional parameters. *LWT-Food Science and Technology*, 147: 111580.
- Singh J., Singh N. 2003. Studies on the morphological and rheological properties of granular cold water soluble corn and potato starches. *Food Hydrocolloids*, 17: 63-72.
- Tuna A., Cappa C., Tokatli F., Alamprese C. 2023. White bean and hazelnuts flours: Application in gluten-free bread. *LWT-Food Science and Technology*, 114995.
- Turan D., Capanoglu E., Altay F. 2015. Investigating the effect of roasting on functional properties of defatted hazelnut flour by response surface methodology (RSM). *LWT-Food Science and Technology*, 63(1): 758-765.

Effetto di alcuni ingredienti (semi essiccati e olive nere) sulla formazione di acrilammide in biscotti salati

M. A. Schouten^{1}, A. Santanatoglia^{2,3}, S. Angeloni², M. Ricciutelli², L. Acquaticci², G. Caprioli², S. Vittori^{2,3}, S. Romani^{1,4}*

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL), Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Piazza G. Goidanich 60, 47521 Cesena (FC).

²ChIP-Chemistry Interdisciplinary Project, Scuola di Scienze del Farmaco e dei Prodotti della Salute, Università di Camerino, Via M. delle Carceri 9/B, 62032 Camerino (MC).

³Coffee Hub di ricerca e innovazione (RICH), Via E. Betti 1, 62020 Belforte del Chienti (MC).

⁴Centro Interdipartimentale per la Ricerca Industriale Agroalimentare (CIRI), Università di Bologna Alma Mater Studiorum, Via Q. Bucci 336, 47521 Cesena (FC).

*E-mail: maria.schouten2@unibo.it

Abstract

Dried seeds and table olives are often thermally and chemically treated to improve their quality and preservation. However, these processes can produce acrylamide (AA), a substance classified as potentially carcinogenic to humans. In this study, the effect of adding sesame seeds, sunflower seeds and black olives (with and without brine) on the formation of AA in savoury biscuits was investigated. The biscuits, enriched with 10% of these ingredients, were tested for AA and the most important quality characteristics (weight loss, moisture, water activity, pH value, colour and texture) before and after baking. AA was also measured in each enrichment ingredient. The results show an average increase in AA of 163% compared to the control biscuits (198.9 µg/kg), with particularly high concentrations in the biscuits with sunflower seeds. Black olives, although containing more AA among the enrichment ingredients, resulted in biscuits with lower AA levels than those with sesame and sunflower seeds. To summarise, it is difficult to predict the AA content in bakery products based on the levels of this compound in the ingredients used, but other factors must also be taken into account.

Riassunto

I semi essiccati e le olive da tavola sono spesso sottoposti a trattamenti termici e chimici per migliorarne la qualità e la conservazione. Tuttavia, questi processi possono dar luogo alla formazione di acrilammide (AA), sostanza classificata come potenzialmente cancerogena per l'uomo. Questo studio ha valutato l'effetto dell'aggiunta di semi di sesamo, semi di girasole e olive nere (con e senza salamoia) sulla formazione di AA in biscotti salati. I biscotti, arricchiti con il 10% di questi ingredienti, sono stati analizzati prima e dopo la cottura per AA e i principali parametri di qualità (calo peso, umidità, attività dell'acqua, pH, colore e texture). L'AA è stata misurata anche nei singoli ingredienti di arricchimento. I risultati mostrano un aumento medio di AA del 163% nei biscotti arricchiti rispetto a quelli di controllo (198,9 µg/kg), con concentrazioni particolarmente elevate nel prodotto con semi di girasole. Le olive nere, anche se contenevano più AA rispetto a tutti gli altri ingredienti, hanno portato a biscotti con livelli di AA inferiori rispetto a quelli con semi di sesamo e di girasole. In conclusione, è emerso che risulta difficile predire il contenuto di AA nei prodotti da forno arricchiti sulla base dei livelli di tale composto negli ingredienti utilizzati, ma è necessario considerare anche altri fattori.

Introduzione

L'acrilammide (AA) è una sostanza presente in diversi alimenti, che si forma a seguito di processi di lavorazione e trattamenti termici, ritenuta potenzialmente cancerogena per l'uomo

secondo l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC, 1994). La sua formazione negli alimenti è principalmente legata alla reazione tra zuccheri riducenti, come glucosio e fruttosio, e amminoacidi liberi, come l'asparagina, attraverso le reazioni di Maillard (Schouten *et al.*, 2022). Dopo la scoperta della presenza di AA negli alimenti, la Commissione europea, gli Stati membri, i ricercatori e l'industria alimentare hanno compiuto sforzi congiunti per monitorarne i livelli e sviluppare efficaci strategie di controllo. Nel 2017, la Commissione europea ha stabilito misure di mitigazione e valori di riferimento per ridurre la presenza di AA in diverse categorie di prodotti a rischio attraverso il Regolamento (UE) 2017/2158. Un gruppo di alimenti a rischio citato nel regolamento è quello dei prodotti da forno, tra cui biscotti e cracker. Nel corso degli anni, sono state sviluppate numerose strategie per ridurre i livelli di AA nei prodotti da forno, intervenendo in tutte le fasi del processo produttivo, dall'impiego dell'enzima asparaginasi nelle formulazioni, all'ottimizzazione delle condizioni di cottura (Schouten *et al.*, 2022). Tuttavia, è emerso che i dati sulla presenza di AA in alcuni alimenti non elencati nel Reg. (UE) 2017/2158 sono ancora insufficienti. Per questo, nel 2019 la Commissione europea ha adottato la Raccomandazione 2019/1888/CE, che si concentra sul monitoraggio dell'AA in altri alimenti appartenenti alle diverse categorie già considerate e in altri prodotti come semi essiccati e olive da tavola.

Numerosi studi hanno dimostrato che semi e olive vengono sottoposti a trattamenti termici per migliorarne la conservazione e la qualità organolettica; tuttavia, questi processi possono anche favorire la formazione di AA (Nematollahi *et al.*, 2020; Duedahl-Olesen *et al.*, 2022). Ad esempio, concentrazioni di AA comprese tra 33,4 e 171,8 µg/kg sono state trovate in semi di girasole (Nematollahi *et al.*, 2020), mentre concentrazioni tra 135 e 633 µg/kg sono state riscontrate in semi di sesamo (Berk *et al.*, 2020). I risultati dell'analisi dell'AA in 31 varietà di olive da tavola hanno mostrato quantità variabili fino a 1100 µg/kg (Duedahl-Olesen *et al.*, 2022). Le variazioni nella concentrazione di AA possono essere attribuite all'effetto di diverse procedure di lavorazione e conservazione (es. temperatura, sterilizzazione, conservazione in salamoia) in combinazione con l'origine geografica della materia prima.

Tutti i prodotti citati sono comunemente consumati come snack salutari, antipasti o contorni, ma sono anche sempre più utilizzati come ingredienti per arricchire le formulazioni di vari prodotti. Pertanto, potrebbero contribuire a un'elevata assunzione di AA in diverse categorie di alimenti.

Lo scopo di questo studio è stato analizzare gli effetti dell'aggiunta di semi di sesamo, semi di girasole e olive nere, sia in salamoia che senza, come ingredienti per l'arricchimento di biscotti salati, sulla concentrazione di AA. Sebbene questi ingredienti selezionati contengano notoriamente AA e i suoi precursori, il loro contributo all'ulteriore formazione di AA quando vengono aggiunti a matrici complesse, come i prodotti da forno, è stato studiato per la prima volta (Schouten *et al.*, 2024).

Materiali e metodi

Preparazione dei biscotti

Gli impasti dei biscotti salati sono stati preparati seguendo una formulazione base arricchita con semi di girasole (GI), semi di sesamo (SE), olive nere senza (ONS) e con salamoia (OS). La ricetta base includeva farina di frumento 00 (250 g), acqua (100 g), olio extra vergine d'oliva (25 g), sale (5 g) e agente lievitante (5 g). Per preparare l'impasto, gli ingredienti di base sono stati mescolati per 1 min e 45 s utilizzando un robot da cucina (Bimby Robot TM31, Vorwerk). Successivamente, ogni ingrediente aggiunto è stato incorporato nell'impasto in quantità pari al 10% del totale e mescolato per 1 min. Il campione di controllo (C) è stato preparato utilizzando esclusivamente la ricetta base. Dopo la miscelazione, gli impasti sono stati lavorati a mano per 1 min e lasciati riposare a 4 °C per 20 min prima della formatura. Al termine del riposo, l'impasto è stato steso con una laminatrice semi-industriale (S-420 INOX, Gam International)

impostata a uno spessore di 3 mm, e i biscotti sono stati formati utilizzando uno stampo rotondo del diametro di 8 cm.

Per ogni formulazione, 6 biscotti (circa 120 g di impasto crudo) sono stati cotti in modalità statica in un forno elettrico preriscaldato a 175 °C (Apollo PS1 Steamer, AEG-Elettrolux). I tempi di cottura ottimali sono stati selezionati in base a test preliminari e pari a 20 min (C, GI e SE) e 23 min (ONS e OS). Sono state effettuate due repliche di impasto e due di cottura per ogni campione (12 biscotti per ricetta, 60 biscotti in totale).

Umidità, attività dell'acqua e pH

Gli ingredienti di arricchimento utilizzati in formulazione e i biscotti crudi e cotti sono stati analizzati per: umidità, attività dell'acqua (a_w) e pH.

L'umidità (%) è stata valutata a 105 °C mediante metodo gravimetrico (UF110, Memmert). L' a_w è stata determinata a 25 °C con un igrometro a punto di rugiada (Aqualab, Metre 4 TE). Il pH è stato misurato utilizzando un pH-metro mescolando 4 g di campione in 6 g di acqua distillata (Mettler Toledo, FiveEasy F20-Std kit).

Estrazione e quantificazione dell'acrilammide

L'estrazione e la quantificazione dell'AA negli ingredienti di arricchimento e nei biscotti cotti sono state effettuate seguendo il metodo descritto da Schouten *et al.* (2022), con alcune modifiche. In dettaglio, i campioni sono stati liofilizzati e successivamente concentrati prima di essere sottoposti ad analisi. La quantificazione dell'AA è avvenuta in UHPLC-MS/MS utilizzando un sistema Agilent 1290 Infinity Series e un Triple Quadrupole 6420 (Agilent Technology); il sistema MS era composto da una sorgente *electrospray ionisation* (ESI) operante in polarità positiva. La fase mobile era costituita da acqua (A) e acetonitrile (B), entrambi contenenti acido formico (0,1%). La separazione è stata ottenuta a un flusso di 0,8 mL/min utilizzando una modalità di eluizione a gradiente.

Risultati e discussione

Principali caratteristiche qualitative dei biscotti e degli ingredienti

È noto che l'aggiunta di alcuni ingredienti nella formulazione di alcuni prodotti, tra cui quelli da forno, possono influenzare le reazioni chimiche alla base della formazione di AA e, di conseguenza, influire sulla concentrazione finale di questo composto tossico.

Sono state analizzate diverse caratteristiche qualitative dei campioni di biscotti e degli ingredienti aggiunti alla formulazione di base, al fine di comprendere i principali cambiamenti indotti dall'utilizzo di tali ingredienti nella matrice del prodotto.

Il contenuto di umidità degli impasti crudi, variabile tra il 30,6% (GI) e il 37,8% (OS), e quello dei biscotti cotti, compreso tra l'11,3% e il 18,8% (**Figura 1a**), è risultato proporzionale all'umidità degli ingredienti aggiunti alle diverse formulazioni. Nello specifico, l'umidità degli ingredienti aggiunti era pari al $4,0 \pm 0,1\%$ per i semi di girasole, $4,7 \pm 0,0\%$ per i semi di sesamo, $75,6 \pm 1,4\%$ per le olive senza salamoia e $77,2 \pm 1,3\%$ per le olive con salamoia.

L' a_w era simile in tutti gli impasti, con una media di $0,96 \pm 0,01$. Analogamente all'umidità, dopo la cottura si è osservata una riduzione dell' a_w nei campioni, pari rispettivamente al 13,4, 23,0, 27,9, 13,7 e 14,5% per C, GI, SE, ONS e OS. Il campione C presentava un valore di a_w significativamente più alto rispetto ai campioni GI ed SE, mentre i campioni ONS e OS presentavano valori di a_w simili a C.

Per quanto riguarda il pH, sono state riscontrate differenze significative tra il valore dei semi di girasole e sesamo (media di $6,1 \pm 0,1$) e quello delle olive (media di $7,5 \pm 0,2$). Tuttavia, tali differenze non hanno influenzato significativamente il pH degli impasti, che avevano tutti un valore medio pari a $7,4 \pm 0,1$. I biscotti cotti hanno raggiunto valori di pH simili compresi tra 7,3 (C) e 7,5 (ONS).

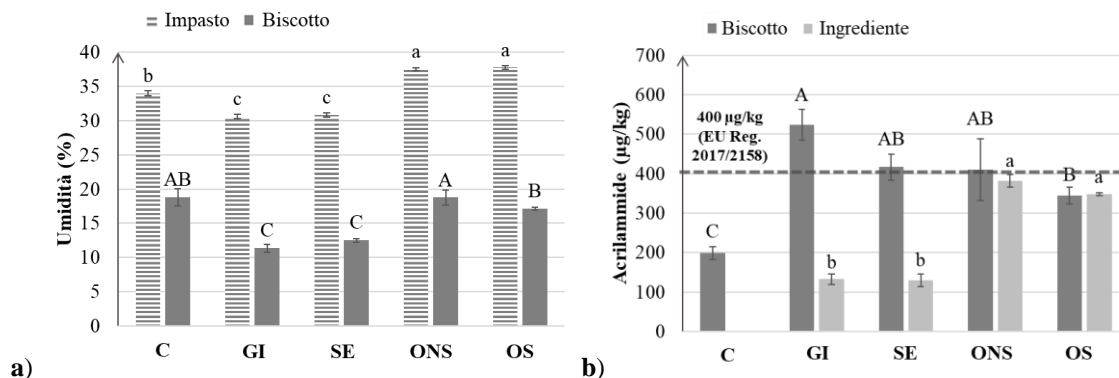


Figura 1. Umidità (%) degli impasti e dei biscotti dopo cottura (a). Concentrazione di acrilammide ($\mu\text{g}/\text{kg}$) nei biscotti e nei rispettivi ingredienti aggiuntivi (b). Controllo (C); con semi di girasole (GI); con semi di sesamo (SE); con olive nere senza (ONS) e con salamoia (OS).

Lettere diverse indicano differenze significative tra i campioni (test di Tukey, $p < 0,05$).

Contenuto di acrilammide

Le concentrazioni di AA nei biscotti salati dopo cottura e negli ingredienti aggiunti sono riportate nella **Figura 1b**. Nel campione C l'AA era pari a $198,9 \mu\text{g}/\text{kg}$, mentre tutti gli altri biscotti arricchiti contenevano quantità di AA significativamente superiori: $523,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ (+160%) per GI, $416,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ (+110%) per SE, $410,4 \mu\text{g}/\text{kg}$ (+110%) per ONS e $344,9 \mu\text{g}/\text{kg}$ (+70%) per OS. La maggiore concentrazione di AA nei campioni arricchiti può essere in parte attribuita alla quantità di tale composto presente negli ingredienti aggiunti ai biscotti.

Nello specifico, i semi di girasole e sesamo avevano concentrazioni di AA rispettivamente pari a $132,4$ e $129,2 \mu\text{g}/\text{kg}$, valori analoghi a quelli trovati da Berk *et al.* (2020) e Nematollahi *et al.* (2020). La presenza di AA nei semi essiccati è dovuta alla presenza di precursori e ai trattamenti termici cui vengono sottoposti, sebbene le concentrazioni possano variare in relazione alla tipologia, origine e alle condizioni di lavorazione. Nello studio di Berk *et al.* (2020), non sono stati rilevati zuccheri riducenti nei semi, suggerendo che alcuni composti carbonilici si possono formare durante i trattamenti termici a seguito della decomposizione del saccarosio. Inoltre, l'idrossimetilfurfurale (HMF), che si può originare durante l'essiccazione dei semi, potrebbe essere un intermedio chiave nella formazione di AA reagendo con l'asparagina libera (Berk *et al.*, 2020).

Le olive nere da tavola utilizzate in formulazione avevano elevate concentrazioni di AA, con valori di $381,1 \mu\text{g}/\text{kg}$ per quelle senza salamoia e di $357,7 \mu\text{g}/\text{kg}$ per quelle con salamoia. L'alto contenuto di AA nelle olive utilizzate è attribuito al processo "California-style", un metodo utilizzato per la colorazione e conservazione del prodotto (Duedahl-Olesen *et al.*, 2022). Questa lavorazione prevede processi che possono favorire la formazione di AA, quali trattamenti con liscivia, ossidazione con aria, neutralizzazione con alcali, uso di gluconato ferroso per ottenere un colore nero stabile e la sterilizzazione delle olive. Inoltre, Duedahl-Olesen *et al.* (2022) hanno dimostrato che il riscaldamento in forno delle olive nere può aumentare drasticamente la concentrazione finale di AA, passando da valori massimi di $1100 \mu\text{g}/\text{kg}$ fino a valori di $18300 \mu\text{g}/\text{kg}$. Quindi sia la concentrazione di AA rilevata nelle olive sia il processo di cottura potrebbero spiegare il maggiore contenuto di AA nei campioni di biscotti ONS e OS rispetto ai campioni C. Diversi studi hanno dimostrato che la produzione delle olive in salamoia, rispetto a quella senza salamoia, porta a una riduzione dei valori di AA durante la conservazione, poiché il composto tossico si diffonde dal frutto al liquido di governo (Martín-Vertedor *et al.*, 2021). Tuttavia, nel presente studio, le olive commerciali in salamoia presentavano una concentrazione di AA non significativamente diversa rispetto a quella delle olive senza salamoia. Confrontando le concentrazioni di AA negli ingredienti semi e olive con quelle trovate nei rispettivi biscotti, si osserva che, nonostante le olive avessero un contenuto di AA più elevato, hanno contribuito

a un aumento minore di AA nei biscotti con esse arricchiti (+7% in media) rispetto ai semi (+260% in media). Questo risultato può essere spiegato dal fatto che i biscotti arricchiti con olive presentavano un contenuto di umidità significativamente più alto rispetto a quelli arricchiti con semi (**Figura 1a**), come confermato dalla correlazione negativa e significativa tra le concentrazioni di AA e il contenuto di umidità nei biscotti cotti ($r = -0,71$; $p < 0,05$). Al contrario, non è stata riscontrata alcuna correlazione significativa tra i valori di pH e le concentrazioni di AA nei biscotti, poiché i valori di pH risultavano simili tra i vari campioni. In conclusione, i biscotti arricchiti GI, SE e ONS hanno leggermente superato il valore di riferimento di AA per i "crackers non a base di patate" pari a 400 µg/kg (Reg. UE 2017/2158). I biscotti OS presentavano un valore di AA inferiore a 400 µg/kg, tuttavia sempre superiore al campione di controllo. Il contenuto di AA nei biscotti arricchiti può essere attribuito all'inclusione degli ingredienti aggiunti, che sono fonte sia dei precursori dell'AA (asparagina e zuccheri) che dello stesso composto prodotto durante le fasi di lavorazione come disidratazione, ossidazione, tostatura, sterilizzazione, ecc. Questi ingredienti hanno anche influenzato i valori di umidità e a_w dei biscotti, contribuendo a una diversa formazione di AA durante la cottura. Lo studio evidenzia quindi che non è possibile prevedere il contenuto di AA nei prodotti da forno basandosi solo sulla concentrazione di tale composto negli ingredienti utilizzati, poiché anche altre proprietà della complessa matrice contribuiscono ad influenzare il risultato finale. Ciò sottolinea la necessità di monitorare non solo la presenza di AA negli ingredienti di arricchimento, ma anche come questi reagiscono con gli altri componenti del prodotto durante le diverse fasi di lavorazione.

Bibliografia

- Berk E., Hamzalıoğlu A., Gökmen V. 2020. Multiresponse kinetic modelling of 5-hydroxymethylfurfural and acrylamide formation in sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds during roasting. *European Food Research and Technology*, 246(12): 2399-2410.
- Duedahl-Olesen L., Wilde A. S., Dagnæs-Hansen M. P., Mikkelsen A., Olesen p.T., Granby K. 2022. Acrylamide in commercial table olives and the effect of domestic cooking. *Food Control*, 132(108515): 1-7.
- IARC. 1994. Agenzia internazionale per la ricerca sul cancro. Acrylamide. *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: some industrial chemicals*, 60: 389-433.
- Martín-Vertedor D., Fernández A., Mesías M., Martínez M., Martín-Tornero E. 2021. Identification of mitigation strategies to reduce acrylamide levels during the production of black olives. *Journal of Food Composition and Analysis*, 102(104009): 1-9.
- Nematollahi A., Kamankesh M., Hosseini H., Hadian Z., Ghasemi J., Mohammadi A. 2020. Investigation and determination of acrylamide in 24 types of roasted nuts and seeds using microextraction method coupled with gas chromatography–mass spectrometry: Central composite design. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(3): 1249-1260.
- Schouten M. A., Tappi S., Glicerina V., Rocculi P., Angeloni S., Cortese M., Caprioli G., Vittori S., Romani S. 2022. Formation of acrylamide in biscuits during baking under different heat transfer conditions. *LWT - Food Science and Technology*, 153(112541): 1-8.
- Schouten M. A., Santanatoglia A., Angeloni S., Ricciutelli M., Acquaticci L., Caprioli G., Vittori S., Romani S. 2024. Effects of Nuts, Dried Fruits, Dried Seeds and Black Olives as Enrichment Ingredients on Acrylamide Concentrations in Sweet and Savoury Biscuits. *Food and Bioprocess Technology*, 17(6): 1525-1538.

Impatto dei fattori climatici sulla qualità e le caratteristiche aromatiche di varietà di frumento tradizionali e moderne

*R. De Flaviis, V. Santarelli, G. Sacchetti**

Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Via R. Balzarini 1, 64100 Teramo (TE).

*E-mail: gsacchetti@unite.it

Abstract

Climate changes associated with global warming are increasingly affecting the quality of crops, including wheat. The aim of this study is to evaluate the impact of climate indices, calculated using temperature, precipitation and solar radiation data, on the commercial quality and volatile organic compound (VOC) profile of wheat. Six varieties of soft and durum wheat, including two heritage and four moderns, were grown for three consecutive years in four experimental fields at three different altitudes. Climate data were monitored by meteorological stations and were used to calculate climate indices associated with global warming. Finally, the commercial quality parameters and VOC profiles of the harvested grains are analysed. The VOC profile was analysed by SPME-GC-MS. The datasets were processed using a regression by Projection on Latent Structures (PLS). The effect of climate indices on the VOC profile was different between traditional and modern varieties. For durum wheat, the heritage variety showed a different response to thermal stresses, described by the temperature excursion (ΔT) and degree days indices, and to accumulated solar radiation (RAD). For soft wheat, however, the heritage variety showed a different response to temperature excursion (ΔT).

Riassunto

I cambiamenti climatici associati al riscaldamento globale stanno influenzando sempre più la qualità delle coltivazioni, tra cui il frumento. Obiettivo di questo studio è la valutazione dell'impatto degli indici climatici, calcolati utilizzando i dati di temperatura, precipitazioni e radiazione solare, sulla qualità commerciale ed il profilo dei composti organici volatili (VOC) del frumento. A questo scopo, sei varietà, di frumento tenero e duro, tra cui due tradizionali e quattro moderne, sono state coltivate per tre anni consecutivi in quattro campi sperimentali situati a tre altitudini diverse. I dati climatici sono stati monitorati tramite stazioni meteorologiche e sono stati utilizzati per calcolare indici climatici associati con il riscaldamento globale. Infine, i parametri di qualità commerciale ed i profili dei VOC dei grani raccolti sono stati analizzati. In particolare, il profilo dei VOC è stato analizzato tramite SPME-GC-MS. L'effetto degli indici climatici sul profilo dei VOC è risultato differente tra varietà tradizionali e varietà moderne. In particolare, per i frumenti duri, la varietà tradizionale (Senatore Cappelli) ha mostrato una differente risposta agli stress termici, descritti dagli indici escursione termica (ΔT) e gradi giorno, e alla radiazione solare accumulata (RAD). Per i frumenti teneri, invece, la varietà antica (Solina) ha mostrato una differente risposta all'escursione termica (ΔT).

Introduzione

I cambiamenti climatici associati al riscaldamento globale stanno influenzando sempre più la qualità delle coltivazioni, tra cui il frumento (White et al., 2006). Infatti, è stato riportato come diverse produzioni agricole si stanno spostando a latitudini e altitudini maggiori. L'esempio più eclatante di questo fenomeno è il cambiamento della mappa delle coltivazioni dei vigneti europei (Jones et al., 2022). In Cina, diversi studi hanno dimostrato benefici nello spostamento delle aree di coltivazione del grano a latitudini maggiori (Zhang et al., 2022). In Italia invece si potrebbero sfruttare i terreni marginali in altitudine, spesso caratterizzati da suoli più poveri e

condizioni meteorologiche più rigide. In questo contesto i grani tradizionali possono rivelarsi un'ottima soluzione.

Materiali e metodi

Sei varietà di frumento tenero e duro, tra cui due tradizionali e quattro moderne, sono state coltivate per tre anni consecutivi in quattro campi sperimentali situati a tre altitudini diverse. La coltivazione in altitudine è infatti una strategia per contrastare il riscaldamento globale indotto dai cambiamenti climatici. I dati climatici sono stati monitorati tramite stazioni meteorologiche e sono stati utilizzati per calcolare indici climatici associati con il riscaldamento globale come riportato da De Flaviis et al. (2023). Infine, i parametri di qualità commerciale ed i profili dei VOC dei grani raccolti sono stati analizzati. In particolare, il profilo dei VOC è stato analizzato tramite SPME-GC-MS utilizzando un metodo ottimizzato per il frumento (De Flaviis et al., 2021).

I set di dati ottenuti dalle analisi condotte su frumento tenero e duro sono stati elaborati utilizzando una regressione mediante Proiezione su Strutture Latenti (PLS), utilizzando gli indici climatici come variabili da predire.

Risultati e discussione

In figura 1 sono mostrati tutti gli indici climatici calcolati e le loro importanze relative (esprese come VIP) per grani teneri e duri, rispettivamente. Il grafico mostra che i giorni estivi (SU25) e le fluttuazioni diurne della temperatura (ΔT) sono gli indici climatici principalmente responsabili dei cambiamenti del profilo dei VOC sia nel frumento tenero che in quello duro, mentre i gradi giorno (GDD), i giorni aridi consecutivi (CDD) e la radiazione solare accumulata (ASR) hanno indotto risposte specie-specifiche (Fig. 1).

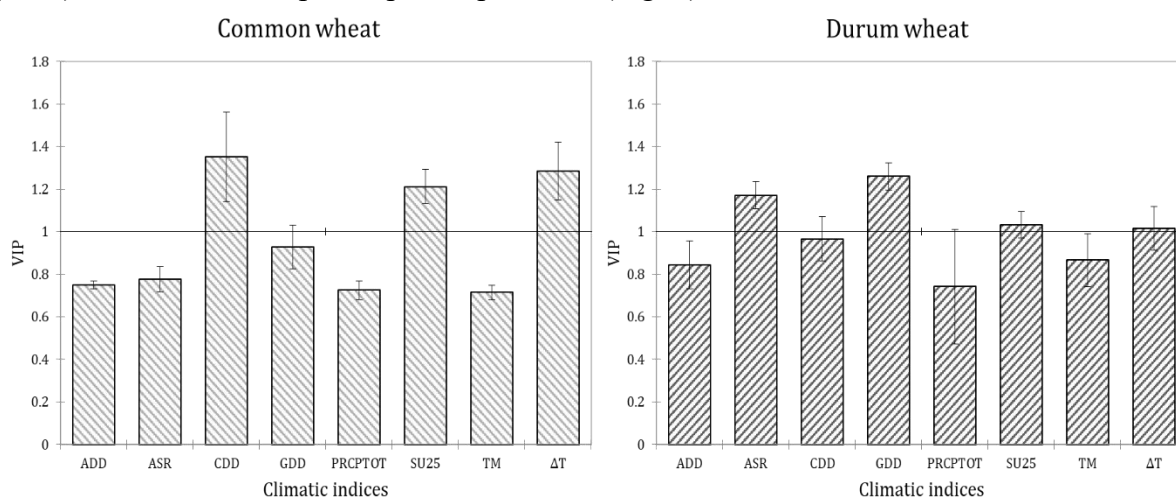


Figura 1. Importanza dei fattori (indici climatici) calcolati da PLS2 separatamente per grano tenero e duro. La linea continua identifica le variabili influenti (VIP > 1). ADD: Giorni aridi accumulati; ASR: Radiazione solare accumulata; CDD: Giorni secchi consecutivi; GDD: Gradi giorno accumulati; PRCPTOT: Precipitazioni giornaliere totali; SU25: Giorni estivi; TM: Temperatura media dell'aria diurna; ΔT : Fluttuazioni di temperatura dell'aria diurna.

In base all'analisi dei residui delle regressioni PLS condotte in un precedente studio (De Flaviis et al., 2023), l'effetto degli indici climatici sul profilo dei VOC è risultato differente tra varietà tradizionali e varietà moderne. In particolare, per i frumenti duri, la varietà tradizionale (Senatore Cappelli) ha mostrato una differente risposta agli stress termici, descritti dagli indici escursione termica (ΔT) e gradi giorno (GDD), e alla radiazione solare accumulata (RAD). Per i frumenti teneri, invece, la varietà antica (Solina) ha mostrato una differente risposta all'escursione termica (ΔT). Per questo motivo sono state effettuate una serie di ulteriori

regressioni PLS separando i grani tradizionali da quelli moderni per studiare la risposta varietà-specifica agli indici climatici.

Nelle tabelle 1,2,3,4 sono riportati i β -coefficienti dei VOC selezionati dalla PLS-R per predire i parametri climatici più importanti. La resa agraria è influenzata negativamente dell'escursione termica giornaliera (ΔT) ma solo per i grani moderni. Invece solo per il grano tradizionale Solina, l'aumento delle giornate estive (SU25) corrisponde ad una riduzione del peso dei 1000 semi. I terpeni rappresentano la classe chimica di VOC più influenzati dagli stress ambientali, e sono anche quelli che discriminano maggiormente le risposte delle varietà dei grani teneri tradizionali e moderni agli stress.

Nei grani duri, aldeidi, chetoni e alcoli rappresentano la classe chimica di COV più influenzati dagli stress ambientali, e sono anche quelli che discriminano maggiormente le risposte delle varietà tradizionali e moderne agli stress. Inoltre, i giorni estivi (SU25) influenzano maggiormente il profilo volatile del grano Cappelli rispetto a quello dei grani duri moderni.

Tabella 1. β -coefficienti calcolati dalla PLS-R per predire l'escursione termica media (ΔT) considerando solo i grani teneri

SOLINA (TRADIZIONALI)		GRANI MODERNI	
VARIABILE	COEFFICIENTE	VARIABILE	COEFFICIENTE
Dodecanale	-0.097	cis- β -Farnesene	-0.031
Valencene	0.109	Resa agraria (t/ha)	-0.152
Tridecano	0.082	Pentadecano	0.055
p-Cymene	0.014	(E)-2-Ottenale	-0.034
2-Metilottano	0.022	3-Otten-2-one	-0.026
α -Thujene	-0.015	Acido pentanoico	0.003
Dodecano	0.077	β -Selinenolo	0.046
Diisobutil ftalato	-0.008	trans-Calamenene	0.080
2,3-Ottanedione	-0.073	Metil esanoato	-0.041
3-Etilbenzaldeide	-0.073	(E,E) 2,4-Nonadienale	-0.060
β -Cariofillene	-0.051		

Tabella 2. β -coefficienti calcolati dalla PLS-R per predire i giorni estivi (SU25) considerando solo i grani teneri

SOLINA (TRADIZIONALI)		GRANI MODERNI	
VARIABILE	COEFFICIENTE	VARIABILE	COEFFICIENTE
6,10-Dimetil-5,9-undecadien-2-one	-0.033	Diisobutilftalato	-0.123
Peso 1000 semi	-0.088	β -Cariofillene	0.012
α -Fellandrene	0.074	Dietilftalato	-0.081
4-Oxononale	-0.018	α -Copaene	0.035
p-Cymene	0.051	1-Dodecene	-0.046
Pentadecano	-0.061	1,4-Diacetilbenzene	0.014
cis- β -Farnesene	-0.064		
Pentanale	-0.070		
2-Decanone	0.034		
6-Metil-5-epten-2-olo	-0.082		

Tabella 3. β -coefficienti calcolati dalla PLS-R per predire l'escursione termica media (ΔT) considerando solo i grani duri

CAPPELLI (TRADIZIONALI)		GRANI MODERNI	
VARIABILE	COEFFICIENTE	VARIABILE	COEFFICIENTE
2-(2-butossietossi)-etanolo	0.027	Valencene	-0.065
Ascaridole	-0.046	γ -Cadinene	-0.051
1-Esadecene	0.017	3,5-Nonadien-2-one	0.046
2-Eptadecanolo	0.021	Etil tetradecanoato	0.032
3-Etilbenzaldeide	0.019	Alcool feniletilico	-0.026
(Z)-2-Decenale	-0.037	Pentadecano	-0.070
1,4-Diacetilbenzene	0.029		
Acido 2-etil esanoico	0.020		

Tabella 4. β -coefficienti calcolati dalla PLS-R per predire i giorni estivi (SU25) considerando solo i grani duri

CAPPELLI (TRADIZIONALI)		GRANI MODERNI	
VARIABILE	COEFFICIENTE	VARIABILE	COEFFICIENTE
1-Pentanololo	-0.046	Pentadecano	0.079
Alcool benzilico	0.045	γ -Caprolactone	-0.068
Acetofenone	0.044	Fenolo	-0.024
Valencene	-0.037	(E)-2-Esenale	0.037
2-Sec-Builcicloesanone	0.038		
1-Esanolo	-0.040		
Benzotiazole	0.038		
6,10,14-Trimetil-2-pentadecanone	0.035		
1-Tridecanolo	0.042		
Coumarin	-0.041		
2-Eaadecanolo	0.037		
Decanale	0.026		
(E)-2-Nonenale	0.037		
Benzaldeide	0.031		
2-Etil-1-esanolo	0.023		
2-Tridecanolo	0.034		

Bibliografia

- De Flaviis R., Sacchetti G., Mastrocola, D. 2021. Wheat classification according to its origin by an implemented volatile organic compounds analysis. *Food chemistry*, 341: 128217.
- De Flaviis R., Santarelli V., Sacchetti G., Mastrocola D. 2023. An insight into the impact of climate factors associated with altitude on wheat volatiles' fingerprints at harvest using multivariate statistical analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(13): 6664-6679.

Jones G. V., Edwards E. J., Bonada M., Sadras V. O., Krstic M. P., Herderich, M. J. 2022. Climate change and its consequences for viticulture. In *Managing wine quality* (pp. 727-778). Woodhead Publishing.

White M. A., Diffenbaugh N. S., Jones G. V., Pal J. S., Giorgi, F. 2006. Extreme heat reduces and shifts United States premium wine production in the 21st century. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(30): 11217-11222.

Zhang T., van der Wiel K., Wei T., Screen J., Yue X., Zheng B., Selten F., Bintanja R., Anderson W., Blackport R., Glomsrød S., Liu Y., Cui X., Yang X. 2022. Increased wheat price spikes and larger economic inequality with 2° C global warming. *One Earth*, 5(8): 907-916.

La caratterizzazione fenotipica di alcune linee di miglio per l'inserimento in filiere alimentare di nuova generazione

N. Trotta^{1*}, M. Mele¹, D. Zito¹, P.P. Adinolfi¹, M. Giannatiempo¹, E. L. Frusciante¹, G. M. Cioffi², E. De Falco²

¹Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Difesa e Certificazione, località Corno D'Oro S.S. 18, n. 242, 84091 Battipaglia (SA).

²Dipartimento di Farmacia (DIFARMA), Università degli Studi di Salerno, Via Giovanni Paolo II n.132, 84084 Fisciano (SA).

*E-mail: nikita.trotta@crea.gov.it

Abstract

Millet (*Panicum miliaceum* L.) is an annual herbaceous plant belonging to the family of the *Gramineae* Tribe *Paniceae*. A plant resource that can be validly included in regenerative cereal supply chains, due to its adaptability to unfavourable pedoclimatic conditions. It is particularly rich in nutrients, so it can be considered an excellent product not only for animal feed, but also for human, especially for those suffering from celiac disease being gluten-free. No official varieties are known, with precise morpho-physiological traits and nutritional composition, therefore, with the present work the aim was to recover some millet lines at an international level, to characterize them morpho-physiologically and to identify those worthies of further processes of valorisation, to provide homogeneous, stable and easily identifiable genetic material in specific regenerative supply chains.

In this study, 19 lines from the *U.S. National Plant Germplasm System (GRIN Global Project)* were tested. During the first year of testing, 12 lines were definitively homogeneous and distinguishable, to be subjected to verification in 2024, and to verify the stability requirement.

Riassunto

Il miglio (*Panicum miliaceum* L.) è una pianta erbacea annuale appartenente alla famiglia delle *Graminaceae* Tribù *Paniceae*. Una risorsa vegetale che può essere inserita validamente nelle filiere cerealicole rigenerative, per la sua adattabilità a situazioni pedoclimatiche sfavorevoli. Inoltre, ricca di elementi nutritivi, può essere considerata un ottimo prodotto non solo per l'alimentazione zootecnica, ma anche umana, soprattutto per chi soffre di celiachia essendo priva di glutine. Non si conoscono varietà ufficiali, con precise peculiarità morfo-fisiologiche e di composizione nutrizionali, pertanto, con il presente lavoro si è posto l'obiettivo di recuperare a livello internazionale alcune linee di miglio, caratterizzarle morfo-fisiologicamente e individuare quelle meritevoli di ulteriori processi di valorizzazione. Nello studio sono state poste in prova 19 linee provenienti da *U. S. National Plant Germplasm System (GRIN Global Project)*. Durante il primo anno di prova sono state definitive omogenee e distinguibili 12 linee, da sottoporre a verifica nel 2024, per appurare anche il requisito di stabilità.

Introduzione

Il miglio (*Panicum miliaceum* L.) è una pianta erbacea annuale appartenente alla famiglia delle *Graminaceae* Tribù *Paniceae*, con corredo cromosomico $2n=36$. La specie *P. miliaceum* presenta di norma delle sub-specie in funzione del colore del seme: *album* o miglio bianco, più comune in Italia ed Europa e le *luteum*, *nigrum* e *bicolor* coltivate maggiormente nei climi caldo-aridi, Baldoni e Giardini (1986). Il miglio è una risorsa vegetale che può essere inserita validamente nelle filiere cerealicole rigenerative, in quanto agronomicamente interessante per

la notevole brevità del suo ciclo di vita, per la ridotta esigenza in termini di risorse idriche e nutrizionali, molto versatile alle differenti condizioni pedo-climatiche, adatta nei climi del Sud-Italia, nonché migliorativa del suolo, De Falco *et al* (2007). L'aspetto sfavorevole è la particolare sensibilità agli attacchi di *Fusarium spp.*, *Ustilago spp.* e *Sporisorium spp.*, Tonapi *et al.* (2016). Tali patogeni potrebbe essere tenuti però sotto controllo attraverso pretrattamenti della semente, nonché epurazione delle piante infette e/o controlli fitosanitari in campo ed in laboratorio. Dal punto di vista nutrizionale, sebbene utilizzata spesso nell'alimentazione zootecnica, gioca un ruolo molto importante nelle diete per celiaci essendo priva di glutine, Bergamo *et al.* (2011) e Marletta e Camilli (2019). L'inserimento della specie in una filiera di nuova generazione richiede la conoscenza di una vasta gamma di varietà, per poter individuare la o le più idonee a determinate zone pedo-climatiche di coltivazione, nonché quelle più adatte ad una specifica utilizzazione finale. A tutt'oggi non esiste un registro nazionale di varietà di miglio, né un catalogo comunitario di tale specie, ma solo alcune varietà presenti nella lista di varietà ammesse alla certificazione delle sementi dell'Organizzazione per la cooperazione e lo sviluppo economico - OCSE (2024), per cui, nel presente lavoro si è posto l'obiettivo di recuperare a livello internazionale alcune linee di miglio, caratterizzarle morfo-fisiologicamente e individuare quelle meritevoli di ulteriori processi di valorizzazione. Il lavoro mira a fornire materiale genetico omogeneo, stabile e ben identificabile in specifiche filiere rigenerative.

Materiali e metodi

Il materiale vegetale oggetto di studio è rappresentato da diciannove linee di miglio fornite dall'Università degli Studi di Salerno e provenienti da *U. S. National Plant Germplasm System (GRIN Global Project)*.

La loro caratterizzazione morfologica e fenologica è stata eseguita secondo il protocollo tecnico TG/248/1 dell'*International Union for the Protection of New Varieties of Plants "UPOV"* ed in particolare i caratteri riportati in Tabella 1. I rilievi effettuati hanno fornito un *set* di dati organizzati successivamente in una maschera di informazioni relative a 319 unità statistiche e 23 variabili, di cui nove di natura quantitativa e quattordici di natura qualitativa. Il *software* "Past 4.03 - *Paleontological software package for education and data analysis*" di Hammer, Harper, D.A.T., Ryan, P.D. (2001) e l'applicazione *Excel* di *Office 365* sono stati utilizzati per l'elaborazione dei dati.

La prova è stata eseguita presso l'azienda sperimentale della Sede di Battipaglia del Centro di ricerca Crea DC in località Baldascine, latitudine 40°34'24.049"N longitudine 14°58'9.534"E e altitudine 46 m s.l.m. Le diciannove linee di miglio sono state seminate il 10 luglio 2023 in *plot* biodegradabili in vivaio per seguire l'intero sviluppo dei germogli, *stadio di germinazione*, e dall'uscita della prima foglia attraverso il coleoptile alla emissione di nove o più foglie aperte, *stadio della crescita della plantula*. Dopo diciassette giorni, le piantine sono state trapiantate in pieno campo in parcelle a file singole lunghe 4,0 m, con distanza fra le piante di 10,0 cm e 1,0 m fra le file, rivestendo una superficie complessiva di 80 m². Le piante sono state rilevate nelle diverse fasi di sviluppo fino allo stadio di *paglia morta e collassata*. Per poter appurare i requisiti di identità (D) ed omogeneità (O) varietale tutti i rilievi morfo-fisiologici sono stati effettuati su 20 piante o parti di esse e, per i caratteri morfo-fisiologici di gruppo, sono state osservate tutte le piante della parcella ignorando eventuali fuori tipo.

L'accertamento dei requisiti di "D e O" è stato effettuato in condizioni che potesse garantire una crescita soddisfacente delle piante e quindi la manifestazione perfetta delle espressioni delle caratteristiche da rilevare. Per tale motivo sono state eseguite cure idriche, nutritive e fitosanitarie dell'intero campo al fine di soddisfare le esigenze di tutte le piante. Per ciascuna linea è stato registrato il numero di giorni necessario per completare un'intera fase di sviluppo

o crescita per passare poi alla successiva. Questa informazione ha consentito l'elaborazione di un fenogramma per singola linea. Il confronto di tutti i fenogrammi ha facilitato la distinzione delle linee per precocità di ciclo produttivo.

Tabella 1. I caratteri morfo-fisiologici rilevati dal protocollo UPOV TG/248/1

UPOV	Carattere	UPOV	Carattere
1	Foglia a bandiera: portamento della lamina	17	Panicolo: numero di cuscinetti
7	Stelo: lunghezza dell'internodo superiore	18	Panicolo: lunghezza delle ramificazioni primarie
8	Stelo: spessore dell'internodo	19	Spighetta: forma
9	Epoca di emergenza del panicolo	23	Cariosside: grandezza
10	Pianta: altezza naturale della pianta	24	Cariosside: forma
11	Panicolo: angolo delle ramificazioni	25	Cariosside: colore
12	Panicolo: portamento	28	Seme: peso dei 1000 semi
13	Panicolo: lunghezza escluso il peduncolo	30	Seme: intensità del colore marrone dell'ilo
14	Panicolo: larghezza	31	Seme: tipo di endosperma
15	Panicolo: densità	32	Resistenza a <i>Sporisorium destruens</i> : Yank- Razza 1
16	Panicolo: grado di curvatura delle ramificazioni laterali	-	Resistenza a <i>Fusarium spp.</i> (carattere aggiuntivo)

Per valutare l'identità e l'omogeneità fra e dentro le linee è stata eseguita, invece, un'Analisi delle Coordinate Principali (PCO) con algoritmo di Davis (1986) ed indice di similarità di Gower. Gli *scatter plot* elaborati hanno consentito di identificare le unità statistiche (piante) nel sistema delle coordinate (X=coord.1; Y=coord.2 e X=coord.3 e Y=coord.). Le piante di ogni linea sono state identificate attribuendo ad esse uno specifico simbolo e un colore differente. Questo ha consentito di individuare facilmente le piante fuori tipo e le risorse vegetali con maggiore omogeneità interna. È stata utilizzata la "scala autovalori", in maniera tale da utilizzare su ogni asse la radice quadrata dell'autovalore ottenuto dall'analisi. Negli *Scatter plot* si è evidenziata anche lo *Spanning Tree minimo* basato sull'indice di somiglianza di Gower, ulteriore strumento per osservare la distanza fra le piante e quindi i *cluster* omogenei ed eterogenei.

Risultati e discussione

Le linee di miglio sono state poste in allevamento in pieno campo il 27 luglio 2023 e l'intera prova si è conclusa dopo tre mesi. In questo periodo, poco più di 90 giorni, si sono registrati circa 62 mm di acqua, una temperatura media massima di 30°C e una temperatura minima media di 18°C (Regione Campania). L'irrigazione è stata limitata alla prima settimana dopo il trapianto con 26,22 m³ di acqua, una sola concimazione con N 3%; P₂O₅ 37%; K₂O 37%, 0,02% boro, nella forma di acido, idrosolubile; 0,005% rame chelato con EDTA, idrosolubile; 0,07% ferro chelato con EDTA, idrosolubile; 0,03% manganese chelato con EDTA, idrosolubile; 0,01% zinco, e dato il buon stato sanitario delle piante, non è stato ritenuto opportuno eseguire trattamenti fitosanitari.

Le risorse genetiche, ad eccezione della n.9, che per bassissima germinabilità non è stata posta in prova, hanno mostrato un ciclo vitale di differente lunghezza, tale da poterle suddividere in cinque classi: molto precoci a precoci (60-70gg), ciclo medio (71-80gg), tardive (81-90gg) e

molto tardive (oltre i 90gg), Figura 1.

Due linee, la n. 11 e la n. 17 non hanno mostrato un periodo ben definito di crescita a causa dell'estrema eterogeneità dei rispettivi campioni in prova e quindi non sono state attribuite ad una specifica classe.

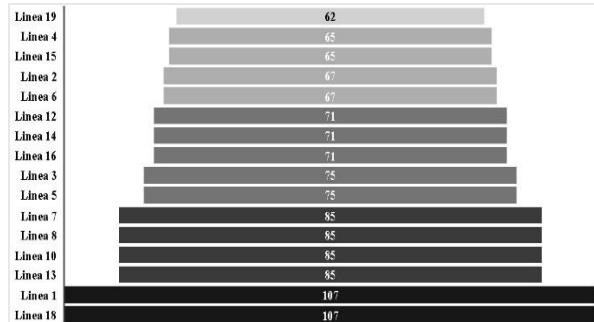


Figura 1. Raggruppamenti delle linee di miglio per lunghezza del ciclo produttivo (num.gg)

L'Analisi delle Coordinate Principali, eseguita sulle linee a seme bianco, spiega circa il 60% della variabilità dell'intero fenomeno (prime 4 coordinate) Figure 2. e 3.

Dall'analisi si valutano perfettamente distinguibili sette linee 2, 6, 8, 10, 13, 14 e 18, di cui la n.10 è eterogenea a differenza delle altre che mostrano una soddisfacente omogeneità interna (indice di *Gower* da 0,017 a 0,070), l'indice di *Gower* si aggira, a seconda della linea da un minimo di 0,35 ad un massimo di 0,58. Le linee 1, 7, 16 e 19, omogenee internamente indice di *Gower* da 0,03 a 0,16, e meno distinguibile dalle altre risorse in prova. Le linee 5 e 12 si sovrappongono decisamente fra loro, denotando la presenza di identici tratti morfo-fisiologici, mentre la 3 non mostra una vera e propria identità, per alcuni caratteri si avvicina decisamente alle linee 11 e 17 e per altri alla 5 e alla 12 le quali oltretutto molto eterogenee internamente.

Le linee a semi scuri, 4 e 15, hanno presentato una soddisfacente diversità fra loro, 8 caratteri su 22, indice di *Gower* 0,70, ed in particolare la linea 4 ha semi rosso marrone ed un'intensità *media* del colore marrone dell'ilo ed è alta 41,95 cm \pm 6,3 cm, mentre la 15 ha semi di colore marrone, un'intensità *lieve* del colore marrone dell'ilo ed è alta 59,45cm \pm 11,6 cm.

Da quanto emerso nel 2023, le linee che si sono manifestate omogenee internamente e distinguibili sono state la 1, 2, 4, 6, 7, 8, 13, 14, 15, 16, 18 e 19. Nella Tabella 2 sono riportati alcuni elementi identificativi delle linee da sottoporre al secondo ciclo di prova nel 2024, per verificare anche il requisito della stabilità.

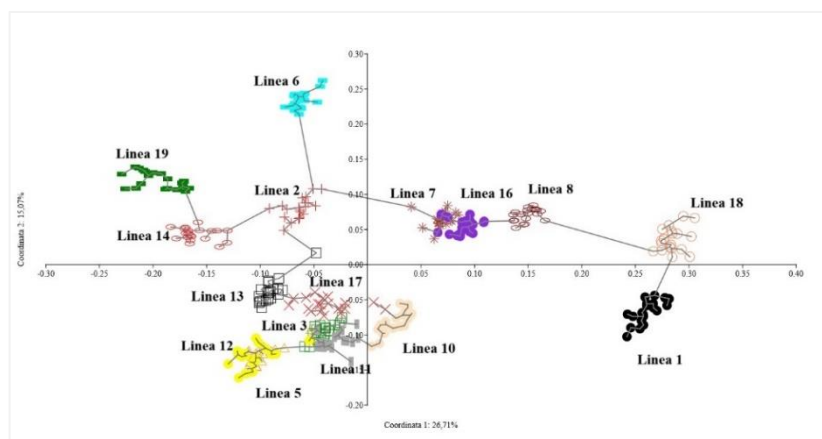


Figura 2. Scatter plot coordinata 1 su coordinata 2 dell'analisi PCO (41,78%)

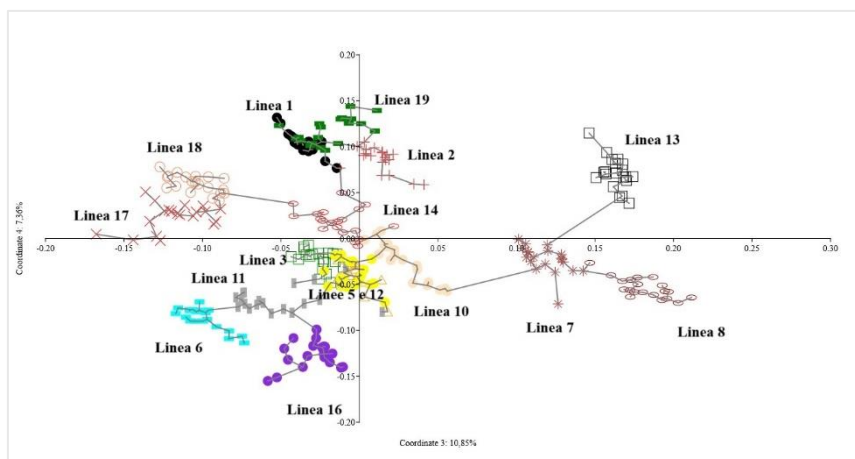


Figura 3. Scatter plot coordinata 3 su coordinata 4 dell'analisi PCO (18,21%)

Tabella 2. Alcuni caratteri morfo-fisiologici rilevati nelle linee da sottoporre al secondo ciclo di prova nel 2024

Linea	Emergenza panicolo	Pianta altezza cm	Portamento panicolo	Lunghezza panicolo cm	Peso 1000 semi
1	m. tardiva 62d	alta 89,1+1,2	semireretto	media 22,95+30,9	m. basso 3,4g
18	m. tardiva 60d	alta 93,1+16,0	lievemente pendulo	media 21,10+ 4,5	basso 4,5g
8	tardiva 52d	media 72,2+5,2	pendulo	lunga 28,9+5,5	basso 4,8g
7	tardiva 52d	media 70,2+6,5	lievemente pendulo	lunga 28,4+5,1	m. basso 4,1g
16	precoce 38d	alta 83,7+8,4	lievemente pendulo	lunga 25,7+3,0	basso 4,9g
6	precoce 35d	media 77,8+9,3	eretto	lunga 26,0+3,5	alto 6,1g
2	precoce 39d	media 60,7+9,7	eretto	media 24,8+3,6	basso 4,9g
19	precoce 33d	media 61,7+9,2	semireretto	corta 19,85+1,4	medio 5,4g
14	precoce 36d	media 58,8+8,7	eretto	media 22,7+2,9	alto 5,7g
13	tardiva 52d	media 58,5+5,3	semireretto	media 21,05+2,5	basso 4,6g

Ringraziamenti

Antonio Citro, Davide Salzano, Gerardo Petruzzo, Liliana Barra.

Bibliografia

- Baldoni R., Giardini L. 1986. *Coltivazioni erbacee*. Cap.9, R. Sarno. Pàtron Editori.
- Bergamo P., Maurano F., Mazzarella G., Iaquinto G., Vocca I., Rivelli A.R., De Falco E., Gianfrani C., Rossi M. 2011. *Immunological evaluation of the alcohol-soluble protein fraction from gluten-free grains in relation to celiac disease*. Italy: Mo.Nutr.Food Res. doi:10.1002/mnfr.201100132, 55. pp.1266-1270.
- De Falco E., Lupo F., Roscigno G., Rossi M., Veneziano A., Zaccardelli M. 2009. *Valutazione quanti-qualitativa di cultivars di miglio (*Panicum miliaceum* L.) di differente origine coltivate in un'area pianeggiante del sud Italia*. Atti IV Convegno Nazionale Piante Mediterranee Matera, pp. 265-269
- Hammer, Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001. *Reference manual Past 4.03 - Paleontological software package for education and data analysis*. University of Oslo, pp.98, 128.
- Marletta L., Camilli E. 2019. *Tabelle di composizione degli alimenti*. CREA Centro AN.
- Tonapi V.A., Nagarja A., Das IK. 2016. *Diseases of Millets*. ICAR-Indian Institute of Millets Research.
- UPOV 2007. *Guidelines for the Conduct of Tests for Distinctness, Uniformity and Stability *Panicum miliaceum* L.*

Il fonio: prospettive e criticità di un cereale antichissimo e sostenibile

*S. Errico**, *P. Sangiorgio*, *R. Lamanna*, *G. Baviello*, *R. Balducchi*

Centro Ricerche ENEA - Trisaia - Dipartimento Sostenibilità; Divisione Biotecnologie e Agroindustria; Laboratorio Bioprodotti e Bioprocessi (SSPT-BIOAG-PROBIO), SS Jonica 106, Km 419+500, 75026 Rotondella (MT).

*E-mail: simona.errico@enea.it

Abstract

White fonio (*Digitaria exilis*) is a so-called 'minor cereal', closely related agronomically to millet, of African origin and naturally gluten-free. Its tiny seeds were the focus of WP6 into the PROTEAGRI project, financed by the Basilicata Region, in which ENEA-Trisaia is a partner. A preliminary panel test on fonio seeds was carried out using a trained panel of judges. Additionally, a practical training course in sensory analysis was conducted to expand the panel. The results were encouraging, but the most critical issue was the choice of the optimal reference to compare the product under examination. Therefore, future studies will focus on Sensory Analysis for baked products made with fonio flour.

Riassunto

Il fonio bianco (*Digitaria exilis*) è un cosiddetto “cereale minore”, strettamente imparentato con il miglio, di origine africana e naturalmente privo di glutine. Nell’ambito del progetto PROTEAGRI, finanziato dalla Regione Basilicata, di cui l’ENEA-Trisaia è partner, è stato condotto un panel test preliminare sui semi di fonio utilizzando un panel di giudici addestrati. Inoltre, è stato condotto un corso di formazione pratica in analisi sensoriale per ampliare il panel. I risultati sono stati incoraggianti, ma la questione più critica è stata la scelta del riferimento ottimale per confrontare il prodotto in esame. Pertanto, gli studi futuri si concentreranno sull'analisi sensoriale per prodotti da forno realizzati con farina di fonio.

Introduzione

Il fonio bianco (*Digitaria exilis*) è una pianta erbacea originaria dell’Africa, probabilmente della savana guineana, ma è stato domesticato in Senegal e Ciad. È un cereale antichissimo coltivato da più di 5000 anni (Cruz et al., 2016). In Africa occidentale viene coltivato anche a livello del mare e temperature di 25-30 °C, ma più spesso a 600-1500 metri s.l.m. e temperature intorno a 20 °C. Ha un ciclo colturale molto breve (2-5 mesi). Per le popolazioni locali costituisce una fonte di sostentamento essenziale nei cosiddetti “periodi di fame”, cioè prima che le altre colture siano pronte per il raccolto, apporta calorie e nutrienti tipici dei cereali, ma con un maggior contenuto di aminoacidi essenziali, in particolare metionina. Il fonio ha anche altre caratteristiche nutrizionali e proprietà interessanti, principalmente assenza di glutine, basso indice glicemico e una buona attività antiossidante, grazie alla presenza di composti fenolici (Fan Zhu, 2020).

Questa coltura è interessante non solo per le sue caratteristiche nutrizionali; infatti, grazie alla sua grande biodiversità è una specie rustica, tollerante agli stress ambientali di natura biotica ed abiotica, quindi idonea alla coltivazione in regime di agricoltura biologica. Per il suo valore nutrizionale e per la sua sostenibilità, WWF e Knorr nel 2019 hanno inserito il fonio nella lista dei 50 alimenti del futuro (Future 50 Foods report). In Europa, dove è ancora poco conosciuto, con il Regolamento Europeo L 323/1 nel 2018 è stata autorizzata la commercializzazione dei chicchi decorticati come alimento tradizionale proveniente da un paese terzo.

Nei paesi di origine tutte le fasi di coltivazione e trasformazione sono molto impegnative perché eseguite ancora tutte manualmente. Il lavoro più gravoso e lungo, a causa delle piccolissime dimensioni della cariosside (circa 0.5 mm), è quello della decorticatura e della pulizia mediante ripetuti lavaggi del seme dalle impurità. Le sfide più grandi per questa coltura, anche per una eventuale introduzione in Italia, sono proprio la ricerca e lo sviluppo nel campo della meccanizzazione e del miglioramento genetico.

In questo ambito, nel progetto PROTEAGRI “Tecnologie per la riduzione del gap PROTEico in sistemi AGRICOLI destinati alla alimentazione umana ed animale” finanziato dalla regione Basilicata, sono stati studiati alcuni aspetti di questa nuova pianta con l’obiettivo di valutare la possibilità di introduzione del fonio nei nostri ambienti e le caratteristiche sensoriali.

La valutazione delle caratteristiche sensoriali (attributi) di un “nuovo” alimento è preliminare all’accettazione da parte del consumatore ed alla sua propensione all’acquisto. Grazie alla valutazione degli attributi, è possibile ottenere un profilo sensoriale che fornisce informazioni tecniche utilizzabili, per esempio, per l’abbinamento con altri ingredienti.

In particolare, in questa prima fase, i Panel Leader (PL) del gruppo Analisi Sensoriale, presente in ENEA-Trisaia dal 2007, con una collaudata esperienza su diverse matrici alimentari, hanno tenuto un corso di addestramento per nuovi giudici che, insieme al gruppo già costituito, ha eseguito un Panel Test per valutare alcuni attributi sensoriali del seme di fonio.

Materiali e Metodi

Corso

Il corso di addestramento è stato svolto secondo la norma ISO 13300-2:2006, è stato rivolto a 4 nuovi giudici ed ha visto anche la partecipazione dei giudici già formati per un ulteriore addestramento.

Essendo un corso di base, le prove miravano essenzialmente all’identificazione dei 5 gusti fondamentali – dolce, salato, acido, amaro, umami – in soluzione acquosa, singolarmente o in miscela a seconda delle prove.

In particolare, i partecipanti sono stati sottoposti alle seguenti prove:

- Prova I - Identificazione dei gusti fondamentali. Ai partecipanti è stato chiesto di individuare il gusto presente in ciascuno dei 9 bicchieri posti di fronte a sé. Per la valutazione è stato attribuito punteggio 0 per le risposte errate; 0,5 se il gusto indicato poteva essere facilmente confuso con quello reale (salato con umami e dolce con acqua); 1 per le risposte esatte. La prova è stata ripetuta in 3 repliche e il punteggio massimo ottenibile era di 27 punti.
- Prova II - Identificazione della soglia di gusto. I partecipanti avevano di fronte a sé cinque terne di bicchieri: in ciascuna terna due bicchieri contenevano acqua e una la soluzione acquosa del gusto fondamentale da individuare, quest’ultimo a concentrazione crescente da una terna all’altra. È stato chiesto di identificare il gusto fondamentale e il bicchiere in cui era presente. È stato attribuito punteggio 0 per le risposte errate; 0,5 se il gusto era stato identificato correttamente, ma il bicchiere indicato era errato; 1 per le risposte esatte (gusto e/o bicchiere diverso). La prova è stata ripetuta due volte: nella prima il gusto corretto era il salato, nella seconda l’amaro. Il punteggio massimo ottenibile era di 20 punti.
- Prova III - Ranking test. I partecipanti dovevano valutare una terna di bicchieri, in ciascun bicchiere erano presenti due gusti, uno a concentrazione fissa nella terna, l’altro a concentrazione variabile. La prova consisteva nell’identificare il gusto fondamentale fisso e quello variabile e indicare quest’ultimo in ordine crescente. Per

la valutazione è stato attribuito punteggio 0 per le risposte errate; 0,5 se l'ordine di concentrazione crescente era corretto almeno per 2/3; 1 per le risposte esatte (sequenza esatta, gusto fisso esatto, gusto variabile esatto). Il gusto fisso era il dolce, quello variabile l'acido. Il punteggio massimo ottenibile era di 3 punti.

Panel Test (PT)

Il PT è un'analisi oggettiva svolta da giudici addestrati che prevede la valutazione di una matrice secondo una serie di attributi descrittivi individuati come esaustivi a caratterizzare l'alimento. A questo scopo, i PL organizzano sedute preliminari *ad hoc* in cui presentare i campioni in esame ai giudici, per concordare un vocabolario comune e individuare gli attributi da valutare nella seduta di PT effettivo. L'analisi oggettiva viene fatta confrontando i vari attributi sensoriali delle matrici in esame rispetto ad una matrice scelta come riferimento. Il confronto avviene presentando le matrici in esame e il riferimento simultaneamente, in *blind* (cioè, rendendo anonimi i diversi campioni) e almeno in tre repliche, presentando i campioni secondo un disegno randomizzato e bilanciato.

Tra le diverse alternative esaminate nelle sedute preliminari (semolino di frumento, semolino di riso, cous cous di grano duro, bulgur, miglio, ecc.), la scelta del riferimento è caduta sul miglio precotto, sia perché in forma e granulometria più simile ai semi di fonio, sia per rimanere nell'ambito degli alimenti gluten-free.

Le due matrici (fonio e miglio) sono state cotte tipo "cous cous" secondo il seguente protocollo (in etichetta): 200 g di fonio o miglio in 250mL di acqua salata (2 g di NaCl in 1L di acqua) per 4 min, poi lasciati riposare coperti per 10 min e cotti per altri 5 minuti. Il panel test è stato effettuato senza aggiunta di olio o altro condimento per non alterare il sapore di entrambe le matrici che sono state valutate a temperatura ambiente il giorno successivo alla cottura.

Il panel ha individuato i seguenti parametri:

- Ammassamento visivo;
- Intensità dell'odore;
- Intensità del sapore complessivo;
- Facilità di masticazione;
- Presenza di grani.

Tutti gli attributi sono stati valutati mediante l'utilizzo di una scala ancorata agli estremi (da "scarso" ad "accentuato") non graduata. I giudici, nelle 3 repliche, dovevano necessariamente indicare la matrice in cui un attributo era "scarso" (punteggio 0) e l'altra in cui l'attributo era "accentuato" (punteggio 10).

Risultati e Discussione

Corso

Seguendo la metodologia di valutazione dei partecipanti al corso, illustrata in "Materiali e Metodi", a ciascun partecipante è stato attribuito un punteggio per ciascuna delle prove (gusti fondamentali, soglie, ranking), corrispondente alla media ottenuta da ciascun giudice nelle repliche della stessa prova. Il corso svolto ha dato risultati molto positivi.

Rispetto al punteggio totale attribuibile per ciascuna prova, tutti i partecipanti hanno ottenuto un punteggio complessivo maggiore del 50% (vedi Tabella 1).

In particolare, la media percentuale dei punteggi ottenuti dai giudici è stata:

- nella I prova, il 74% dei 27 punti totali, dimostrando una buona capacità di riconoscimento dei gusti fondamentali;
- nella II prova, il 64% dei 20 punti totali, dimostrando di percepire e saper identificare discretamente i gusti in esame anche a soglie molto ridotte;

- nella III prova, il 90% dei 3 punti totali, dimostrando un'eccellente capacità di identificare i gusti anche in maniera combinata.

Tabella 1. Punteggio complessivo dei giudici nelle tre prove.

Giudice N.	Totale	%
A	43,0	86
B	40,5	81
C	39,5	79
D	37,0	74
E	35,5	71
F	35,0	70
G	34,0	68
H	33,5	67
I	32,0	64
L	30,0	60
M	27,5	55

Il corso, avendo coinvolto anche giudici già addestrati, rientra nell'addestramento continuo a cui questi devono essere sottoposti periodicamente e comunque sempre prima di approcciarsi ad una nuova matrice. A valle del corso, infatti, sia i giudici neo-addestrati che quelli più esperti sono stati coinvolti in diverse sedute di familiarizzazione con il nuovo prodotto (fonio), in vista del successivo PT.

Panel Test (PT)

I risultati del PT sono stati più controversi a causa, prima di tutto, della difficile scelta del riferimento più opportuno. Tra le diverse alternative esaminate come possibile riferimento a cui confrontare i semi di fonio in forma di cous cous, il panel ha scartato il bulgur e il cous cous di grano duro per rispettare le condizioni di assenza di glutine, tipiche del fonio. Altre opzioni sono state scartate perché le matrici, quali il semolino di riso, presentavano troppe differenze soprattutto per la consistenza, non consentendo quindi la realizzazione di un PT. Si è scelto pertanto il miglio, ma tale scelta non è stata comunque esente da criticità. Infatti, dei 14 attributi caratterizzanti il fonio ne sono stati scelti soltanto 5 per poterli mettere a confronto con il miglio. Nella Tabella 2 sono riportati gli attributi esclusi e le differenze marcate tra le due matrici, motivo dell'esclusione.

Tabella 2. Attributi non rientrati nella valutazione dei giudici durante il PT

Attributo	Fonio	Miglio
Colore a crudo	marroncino	giallo
Grandezza dei semi	piccolissimi	piccoli
Colore cotto	bianco-grigio	giallino
“Acquosità” (*)	elevata	scarsa
Grandezza dei grani	piccolissimi	piccoli
Odore e sapore di “Frutta secca” (**)	percepibili	nulli
Odore e sapore di mais	nulli	percepibili
Sabbiosità	elevata	scarsa
Amaro	nullo	percepibile

(*) Intesa come capacità di assorbire l'acqua di cottura. In effetti, dopo la cottura il fonio aumenta il proprio peso di 4-5 volte, il miglio di 3 volte.

(**) Alcuni giudici hanno avvertito il sapore di noce, altri di noci pecan, altri ancora di nocciola, tutti però tendenti al rancido, che in tal caso non è un difetto, ma un odore/sapore caratteristico.

Per ovviare all'evidente differenza di colore e di aspetto generale tra fonio e miglio, si è deciso di realizzare le prove ponendo i campioni in contenitori colorati e in condizioni di scarsa illuminazione per mascherare le differenze.

La valutazione da parte dei giudici dei 5 attributi rimanenti è riportata nella Tabella 3.

Tabella 3. Media dei punteggi attribuiti (calcolata sulle tre repliche di tutti i giudici)

Attributo	Fonio	Miglio
Ammassamento visivo	20±5	90±8
Intensità dell'odore	50±10	60±11
Intensità del sapore complessivo	30±4	80±9
Facilità di masticazione	70±9	40±10
Presenza di grani	70±11	40±8

Dalla Tabella 3 si evince che il fonio si ammassa meno, ha un sapore meno intenso, è più facile da masticare e i grani persistono di più in bocca rispetto al miglio. L'intensità dell'odore, invece, non è significativamente diversa tra le due matrici analizzate, sebbene nel miglio sia leggermente più intenso. L'attributo più interessante tra quelli analizzati è il sapore, che nel fonio è risultato molto delicato (molto meno intenso del miglio) e questo lo rende sicuramente molto versatile da utilizzare per i consumatori.

Dal punto di vista strettamente analitico, tuttavia, l'indicazione che fornisce questo PT è che, nel caso si voglia continuare a testare i semi di fonio precotto, bisogna individuare un riferimento più idoneo.

Considerate le peculiarità del seme di fonio, in particolare la grandezza irrisoria, il panel di giudici ha valutato opportuno per il futuro lavorare su prodotti da forno, o comunque "finiti" (es: pasta, pane, biscotti, grissini) da confrontare con gli stessi prodotti ottenuti sia con farina di frumento che con una farina gluten-free. In questo modo, è possibile fornire dati più significativi, ma anche impiegare la farina di fonio in una gamma di prodotti più vasta, non limitando la scelta ad una sola tipologia alimentare che potrebbe non incontrare l'interesse dei consumatori italiani, restringendone così il consumo e quindi l'immissione sul mercato.

Bibliografia

Cruz J. F., Béavogui F., Dramé D., Diallo T.A. 2016. *Fonio, an African cereal*. Ed. Cirad, Irag, Montpellier, France.

Fan Zhu, 2020. Fonio grains: Physicochemical properties, nutritional potential, and food applications. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 19: 3365-3389.

ISO 13300-2:2006, 2006. *Sensory analysis - General guidance for the staff of a sensory evaluation laboratory Part 2: Recruitment and training of panel leaders*. 1st edition. Link: <https://www.iso.org/standard/36388.html>

ISO 8589:2007, 2007. *Sensory analysis - General guidance for the design of test rooms*. 2nd edition. Link: <https://www.iso.org/standard/36385.html>

ISO 6658:2017, 2017. *Sensory analysis - Methodology - General guidance*. 3rd edition. Link: <https://www.iso.org/standard/65519.html>

ISO 8586:2023, 2023. *Sensory analysis - Selection and training of sensory assessors*. 2nd edition. Link: <https://www.iso.org/standard/76667.html>

Valorizzazione del sorgo tramite processi fermentativi: selezione di *starter* autoctoni, caratterizzazione metabolomica dei fermentati e impiego in panificazione

M. Verni*, A. Torreggiani, E. Brasili, C.G. Rizzello

Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Biologia Ambientale, Piazza Aldo Moro, 5, 00185 Roma (RM), Italia

*E-mail: michela.verni@uniroma1.it

Abstract

This study aimed at investigating the impact of sourdough fermentation on sorghum nutritional quality. Lactic acid bacteria dominating sorghum flour and sourdough were identified by culture-dependent analysis revealing *Lactiplantibacillus plantarum* as the predominant species found in the mature sourdough, whereas *Weissella cibaria* and *Weissella paramesenteroides* were the species isolated the most from sorghum flour and after the first refreshment. An integrated approach, combining chromatographic and NMR spectroscopic techniques, was used to evaluate lactic acid bacteria pro-technological and functional performances as starters in sorghum type-II sourdoughs.

Fermented sorghum, enriched in exopolysaccharides, markedly improved bread rheological characteristics and the staling rate was lower compared to control breads. Moreover, the high amount of sorghum determined a high fiber content, often limiting factor in gluten free products. Overall, these results set the basis for future industrial development but, most of all, they represent an effective strategy to valorize a cereal crop whose cultivation offers numerous agronomical and environmental benefits.

Riassunto

Questo studio aveva l'obiettivo di valutare l'impatto della fermentazione sulla qualità nutrizionale del sorgo. I batteri lattici caratterizzanti la farina e il lievito naturale di sorgo sono stati analizzati tramite analisi cultura-dipendente, rivelando *Lactiplantibacillus plantarum*, come la specie che dominava il lievito maturo, mentre *Weissella cibaria* e *Weissella paramesenteroides*, sono stati isolati maggiormente dalla farina e nei primi giorni di rinfreschi. I batteri lattici sono stati utilizzati come *starter* per la fermentazione del sorgo e le loro caratteristiche pro-tecnologiche e funzionali sono state valutate mediante un approccio integrato comprendente l'impiego di tecniche cromatografiche e di spettroscopia NMR.

L'impiego del sorgo in miscela con il mais ha aumentato il contenuto di fibre del pane, mentre gli esopolisaccaridi sintetizzati *in situ* durante la fermentazione, hanno migliorato notevolmente le caratteristiche reologiche del pane rallentandone il raffermaimento. Inoltre, l'aggiunta di sorgo ha determinato un aumento di fibre, spesso fattore limitante dei pani senza glutine. I risultati ottenuti dimostrano come processi fermentativi guidati rappresentino la strategia più appropriata per valorizzare il potenziale di cereali minori quali il sorgo, contribuendo indirettamente alla sostenibilità a lungo termine delle filiere alimentari.

Introduzione

L'impiego globale e quasi esclusivo di poche specie cerealicole, le cui moderne *cultivar* sono frutto di processi selettivi basati su aumento delle rese e specifiche caratteristiche tecnologiche, ha portato al progressivo abbandono di numerosi cereali minori, con severe conseguenze sulla biodiversità. Tuttavia, da alcuni anni, alcuni di questi cereali, tra cui il sorgo (*Sorghum bicolor* L.), sono oggetto di rivalutazione, grazie al potenziale agronomico e nutrizionale. Il sorgo è una

coltura resistente alla siccità che richiede meno acqua rispetto ad altre importanti colture di cereali come il mais o il riso. Grazie alla sua capacità di resistere all'elevata salinità e alla scarsa disponibilità di acqua, il sorgo è particolarmente adatto alle aree marginali dove entrambe le condizioni sono prevalenti (Maiti e Singh, 2019). Oltre al suo potenziale agronomico, il sorgo offre anche notevoli vantaggi nutrizionali in quanto è ricco di fibra, è una buona fonte di vitamine specialmente quelle del gruppo B come tiamina, niacina e riboflavina. Ha un'elevata concentrazione di composti ad attività antiossidante, in particolare tannini e flavonoidi. Tuttavia, la mancanza di glutine e le scarse proprietà tecnologiche o la presenza di fattori anti-nutrizionali, ne ostacolano l'impiego su larga scala, relegandolo all'alimentazione animale (Abah *et al.*, 2020). Pertanto, promuovere il suo impiego nella dieta può diversificare il profilo nutrizionale degli alimenti e fornire una sana fonte di nutrimento. Sulla base di queste premesse, questo studio aveva l'obiettivo di valutare l'impatto di processi fermentativi ispirati alla lievitazione naturale sulla qualità nutrizionale del sorgo. Inoltre, il sorgo fermentato secondo un protocollo ottimizzato per la sintesi *in situ* di esopolisaccaridi (EPS) è stato utilizzato come ingrediente in panificazione.

Materiali e metodi

Preparazione e propagazione del lievito naturale di sorgo

Farina di sorgo bianco integrale italiano è stata utilizzata per la preparazione di lievito naturale di tipo I, propagato attraverso il metodo tradizionale. La farina di sorgo è stata miscelata con acqua di rubinetto, ottenendo un impasto (T0). La prima fermentazione è stata condotta a 30°C per 24 ore (T1), successivamente, per 10 giorni, sono stati effettuati dei rinfreschi giornalieri, mescolando il 25% dell'impasto precedentemente fermentato con farina di sorgo e acqua e incubando a 30 °C per 8 h.

Isolamento e caratterizzazione di lieviti e batteri lattici

I principali batteri lattici e lieviti caratterizzanti il microbiota della farina e del lievito naturale di sorgo sono stati analizzati tramite tecniche coltura-dipendente. Quindi, i batteri lattici isolati sono stati utilizzati come starter per la fermentazione di impasti di sorgo, il cui profilo metabolomico (zuccheri, acidi organici, profilo amminoacidico ecc.) è stato caratterizzato tramite cromatografia liquida ad alte pressioni e spettroscopia NMR (Verni *et al.*, 2024).

Ottimizzazione della sintesi di EPS e impiego in panificazione

Al fine di produrre EPS da farina di sorgo sono stati prodotti degli impasti fermentati utilizzando i batteri lattici isolati dal sorgo. La produzione di EPS è stata ottimizzata effettuando diverse combinazioni di tempo (16-24h) e temperatura (25-30°C) di incubazione, nonché di percentuale di saccarosio aggiunto (5 e 10%). Gli impasti fermentati (25%), sono quindi stati utilizzati come ingrediente in pani *gluten free* a base di mais. I pani sono stati caratterizzati per i principali caratteri biochimici (acidi organici, amminoacidi), nutrizionali (idrolisi dell'amido e indice glicemico predetto), e tecnologici (alzata e *texture profile analysis*) secondo i protocolli riportati in letteratura (Koirala *et al.*, 2021; Longo *et al.*, 2024).

Risultati e discussione

Nei primi giorni di propagazione del lievito naturale è stata osservata una minima riduzione del pH e infatti l'impasto era caratterizzato da maggiori densità di *Enterobacteriaceae* che generalmente contaminano la farina. Tuttavia, dal quarto giorno di rinfresco, quando il pH è sceso al di sotto di 4.4, le *Enterobacteriaceae* sono diminuite facendo spazio a batteri lattici e in parte anche i lieviti, che hanno dominato il lievito naturale. Tra i batteri lattici, *Weissella cibaria* e *Weissella paramesenteroides* erano le specie maggiormente isolate dalla farina, mentre il lievito maturo era caratterizzato prevalentemente da *Lactiplantibacillus plantarum*. Essendo le condizioni del lievito naturale stressanti per il microbiota, permettono la selezione

di specie capaci non solo di crescere, ma anche adattarsi e resistere a queste condizioni, modificando il proprio metabolismo, per esempio metabolizzando i composti fenolici che altrimenti inibirebbero la loro crescita (Verni *et al.*, 2024). Quindi 8 ceppi rappresentativi tra gli isolati sono stati impiegati come *starter* per produrre impasti di sorgo fermentato. L'analisi metabolomica ha evidenziato *pathway* metabolici specie e ceppo-specifici (Fig. 1). Per esempio, le specie di *Weissella* si sono distinte per l'intensa attività proteolitica, tuttavia è interessante notare come sebbene il contenuto degli amminoacidi sia aumentato in tutti i campioni, nel sorgo fermentato con *L. plantarum* l'asparagina sia diminuita.

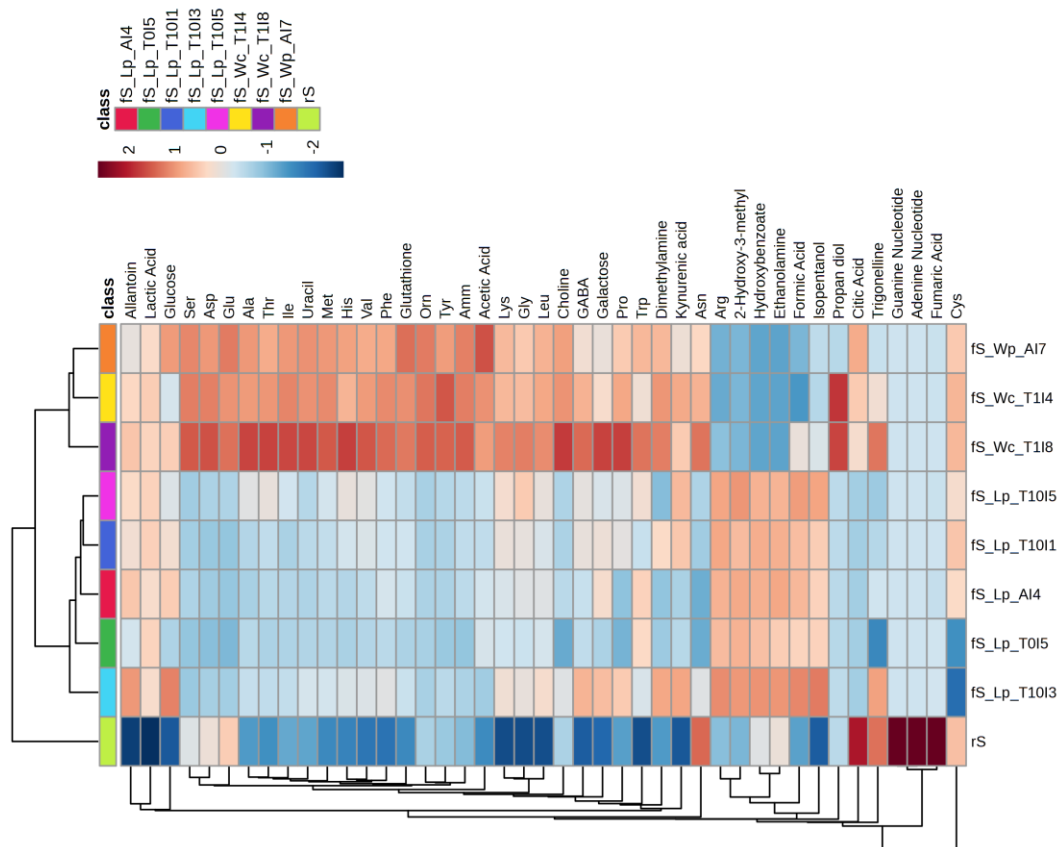


Figura 1. Heatmap della concentrazione di metaboliti nel sorgo prima (rS) e dopo fermentazione con *L. plantarum* T015 (fs_Lp_T015), *L. plantarum* T1011 (fs_Lp_T1011), *L. plantarum* T1013 (fs_Lp_T1013), *L. plantarum* T1015 (fs_Lp_T1015), *L. plantarum* AI4 (fs_Lp_AI4), *W. cibaria* T114 (fs_Wc_T114), *W. cibaria* T118 (fs_Wc_T118), e *W. paramesenteroides* AI7 (fs_Wp_AI7).

Durante la fermentazione è stato osservato anche il rilascio di composti particolarmente importanti da un punto di vista fisiologico, come ad esempio l'acido γ -amminobutirrico, un neurotrasmettitore del sistema nervoso centrale conosciuto per una serie di attività inclusa l'attività antipertensiva o l'acido chinurenico, un derivato del triptofano che ha proprietà neuroprotettive ed è in grado di ridurre stati pro-infiammatori (Fig. 1). Tra i composti la cui concentrazione è aumentata durante la fermentazione c'è anche il glutatione, un tripeptide noto per la sua capacità di proteggere le cellule da danni ossidativi e l'allantonia, composto tipico del regno vegetale che però è anche noto per i suoi effetti antidiabetici dovuti alla capacità di ridurre i livelli di glucosio nel plasma (Verni *et al.*, 2024).

Degli 8 ceppi, solo 3 hanno prodotto lo *slime* tipico degli EPS e sono stati selezionati come *starter* per ottenere, dal sorgo, un ingrediente fermentato adatto alla fortificazione di pani *gluten-free*. Il processo di fermentazione è stato ottimizzato modificando tempo, temperatura di fermentazione e quantità di saccarosio aggiunto e la sintesi di EPS è stata monitorata

indirettamente tramite le variazioni di viscosità (Tab. 1). Sulla base dei risultati ottenuti, è stato selezionato il processo di fermentazione a 25°C per 16 ore con aggiunta del 10% di saccarosio che funge da substrato per la produzione di EPS.

Tabella 1. Viscosità, espressa come mPas*s, di impasti di sorgo fermentati con *Leuc. pseudomesenteroides* DSM20193 (DSM 20193), *W. cibaria* T1-S4 (T1-S4), *W. cibaria* T1-S8 (T1-S8) e *W. paramesenteroides* A-S4 (A-S4) e *W. paramesenteroides* A-S7 (A-S7). Ct, impasto non fermentato.

	24h – 25°C Saccarosio 5%	24h – 30°C Saccarosio 5%	16h – 25°C Saccarosio 5%	16h – 25°C Saccarosio 10%
DSM 20193	2,842 ± 73 ^a	2,276 ± 54 ^a	10,818 ± 401 ^a	10,635 ± 350 ^a
T1S8	1,927 ± 32 ^b	1,812 ± 62 ^b	4,215 ± 145 ^c	8,278 ± 354 ^b
T1S4	913 ± 57 ^c	1,294 ± 24 ^c	5,200 ± 156 ^b	7,122 ± 18 ^c
AI7	1,920 ± 29 ^b	1,887 ± 23 ^b	2,868 ± 202 ^d	1,952 ± 39 ^d
Ct	1,024 ± 21 ^c	1,091 ± 30 ^d	1,512 ± 203 ^c	1,075 ± 14 ^c

La formulazione dei pani è stata ottimizzata modificando la percentuale di sorgo e xantano e misurando l'aumento di volume degli impasti. Mancando la maglia glutinica che trattiene l'anidride carbonica prodotta dai lieviti durante la lievitazione, l'aggiunta di coadiuvanti come lo xantano è indispensabile, perché sebbene gli EPS abbiano proprietà emulsionanti, non sono sufficienti a reggere la struttura di un pane quando è completamente senza glutine. Per cui è stata selezionata la tesi con sorgo al 25% in miscela con mais, che ha permesso un aumento del contenuto di fibre del pane, tale da poter raggiungere il *claim* “fonte di fibre” previsto dal Reg. CE 1924/2006. Gli EPS sintetizzati *in situ* durante la fermentazione, hanno migliorato notevolmente le caratteristiche reologiche dei pani, che rispetto a quelli contenenti solo mais o mais e sorgo non fermentato, erano più elastici e meno duri, di fatto rallentandone il raffermaimento misurato fino a sette giorni di conservazione. Inoltre, il pane contenente sorgo fermentato ha mostrato un indice glicemico *in vitro* più basso rispetto al pane contenente solo farina di mais, dovuto non solo al maggiore quantitativo di fibre apportato dal sorgo, ma anche agli acidi organici prodotti durante la fermentazione, che aumentano il quantitativo di amido resistente e rallentano lo svuotamento gastrico (Tab. 2). Pertanto, tramite la selezione degli *starter* e l'ottimizzazione dei protocolli biotecnologici questo studio ha efficacemente contrastato quei fattori che limitano l'impiego su larga scala del sorgo.

Tabella 2. pH, acidità di titolazione (TTA), amminoacidi liberi (TFAA), idrolisi dell'amido (HI) e indice glicemico predetto (pGI) dei pani. CtB, pane prodotto esclusivamente con farina di mais; SB, pane prodotto con farina di mais e farina di sorgo al 25%; fSB-DSM 20193, fSB-T1S4 e fSB-T1S8, pani prodotti con farina di mais e sorgo (25%) fermentato con *Leuc. pseudomesenteroides* DSM 20193, *Weissella cibaria* T1-S4, T1-S8, rispettivamente.

	pH	TTA (mL)	TFAA (mg/kg)	HI (%)	pGI
CtB	5,66 ± 0,11 ^a	3,28 ± 0,15 ^d	196 ± 9 ^b	98,1 ± 4,8 ^a	93,5 ± 5,4 ^a
SB	5,71 ± 0,03 ^a	6,62 ± 0,09 ^c	243 ± 17 ^a	76,3 ± 3,8 ^b	77,3 ± 3,3 ^b
fSB-T1S4	4,68 ± 0,05 ^b	8,07 ± 0,17 ^b	159 ± 38 ^{bc}	64,2 ± 2,5 ^c	74,8 ± 2,7 ^{bc}
fSB-T1S8	4,68 ± 0,01 ^b	8,65 ± 0,10 ^b	210 ± 4 ^{ab}	65,6 ± 3,6 ^c	75,4 ± 3,0 ^{bc}
fSB-DSM 20193	4,62 ± 0,02 ^b	10,23 ± 0,09 ^a	243 ± 7 ^a	62,1 ± 2,8 ^c	73,7 ± 2,9 ^c

Ringraziamenti

Questo studio è stato condotto nell'ambito del Centro Nazionale di Ricerca Agritech e finanziato da *European Union Next-GenerationEU* (PIANO NAZIONALE DI RIPRESA E RESILIENZA (PNRR) – MISSIONE 4 COMPONENTE 2, INVESTIMENTO 1.4 – D.D. 1032 17/06/2022, CN00000022). Il contributo riflette visione e opinione degli autori, l'Unione Europea né la Commissione Europea possono essere considerati responsabili di essi.

Bibliografia

- Abah C.R., Ishiwu C.N., Obiegbuna J.E., Oladejo A.A. 2020. Sorghum grains: nutritional composition, functional properties and its food applications. *European Journal of Nutrition and Food Safety*, 12(5): 101-111.
- Koirala P., Costantini A., Maina H.N., Rizzello C.G., Verni M., Beni V.D., Coda R. 2022. Fermented brewers' spent grain containing dextran and oligosaccharides as ingredient for composite wheat bread and its impact on gut metabolome in vitro. *Fermentation*, 8(10): 487.
- Longo A., Amendolagine G., Greco Miani M., Rizzello C.G., Verni, M. 2024. Effect of air classification and enzymatic and microbial bioprocessing on defatted durum wheat germ: characterization and use as bread ingredient. *Foods*, 13(12): 1953.
- Maiti R.K., Singh, V.P. 2019. A review on mechanisms of resistance in sorghum to drought, high and low temperature and salinity. *Farming and Management*, 4(1): 19-37.
- Verni M., Torreggiani A., Patriarca A., Brasili E., Sciubba F., Rizzello C.G. 2024. Sourdough fermentation for the valorization of sorghum flour: Microbiota characterization and metabolome profiling. *International Journal of Food Microbiology*, 110805.

Valorizzazione del grano saraceno nei prodotti a base di cereali

A. Sergiacomo, A. Bresciani, M. Miele, A. Marti*

Dipartimento di Scienze per gli Alimenti, la Nutrizione e l'Ambiente (DeFENS), Università degli Studi di Milano, Via G. Celoria 2, 20133 Milano (MI).

*E-mail: alessandra.marti@unimi.it

Abstract

Increasing the use of minor crops like buckwheat can enhance biodiversity. Moreover, buckwheat is rich in starch, proteins, fibers, and antioxidant flavonoids, making it a valuable raw material for food production. However, its wider application is limited by sensory and technological challenges. This study evaluated the impact of sprouted buckwheat on the rheological properties of dough for bread and cracker production. Buckwheat was sprouted for 48 and 72 hours and mixed at 10%, 20%, and 30% with two types of wheat flour: one for bread (flour B) and one for crackers (flour C). Dough mixing and extensibility, as well as the quality of the final products were assessed. While the addition of buckwheat worsened dough rheology (lowering gluten aggregation and dough stability), sprouted buckwheat led to baked goods that were very similar to their controls, and in some cases, showed improved properties, such as an increased specific volume in bread.

Riassunto

Incrementare l'utilizzo di colture minori come il grano saraceno potrebbe migliorare la biodiversità. Inoltre, il grano saraceno è ricco di amido, proteine, fibre e composti con attività antiossidante, rendendolo una materia prima preziosa per l'industria alimentare. Tuttavia, la sua applicazione in prodotti di largo consumo è limitata a causa di problematiche sensoriali e tecnologiche. Questo studio ha valutato l'impatto del grano saraceno germinato sulle proprietà reologiche dell'impasto per la produzione di pane e cracker. Il grano saraceno è stato germinato per 48 e 72 ore ed utilizzato in miscela al 10%, 20% e 30% con due tipi di farina di frumento: una per la produzione di pane (farina B) e una per la produzione di cracker (farina C). Sono state valutate le proprietà di impastamento e di estensibilità degli impasti e la qualità dei prodotti finiti. Sebbene l'aggiunta di grano saraceno abbia peggiorato la reologia dell'impasto (riduzione dell'aggregazione glutinica e della stabilità dell'impasto), i prodotti arricchiti in grano saraceno germinato presentano caratteristiche molto simili ai prodotti di controllo e, in alcuni casi, proprietà migliorate come un aumento del volume specifico del pane.

Introduzione

L'uso di colture minori, inclusi pseudocereali come il grano saraceno, contribuisce ad aumentare la diversità genetica e a supportare ecosistemi agricoli più resilienti. Queste colture migliorano la salute del suolo, diversificano la dieta e riducono la dipendenza da cereali principali come frumento, riso e mais. Sebbene il consumo di cereali e pseudocereali sia raccomandato per il loro apporto di energia, proteine, fibre, vitamine e minerali, è importante variare tra i cereali e pseudocereali consumati per garantire una dieta equilibrata. Tra gli pseudocereali, il grano saraceno (*Fagopyrum esculentum*) è ricco di fibre e presenta un buon profilo amminoacidico, oltre a un elevato contenuto di composti antiossidanti come quercetina e rutina (Sofi *et al.*, 2023). Tuttavia, la presenza di composti antinutrizionali (es. tannini e fitati) ed il sapore astringente ed amaro ne limita l'utilizzo in prodotti alimentari di largo consumo, come i prodotti da forno.

La germinazione è stata proposta come processo biotecnologico per il miglioramento delle caratteristiche nutrizionali e sensoriali del grano saraceno (Borgonovi *et al.*, 2023; Giovanelli *et al.*, 2023). Tuttavia, ad oggi, sono poche le ricerche sugli effetti della germinazione sulle proprietà tecnologiche del grano saraceno. L'obiettivo di questo studio è valutare l'impatto della germinazione sulle proprietà reologiche degli impasti a base di grano saraceno (germinato e non) e sulla possibilità di sviluppare dei prodotti da forno utilizzando pane e cracker come casi studio.

Materiali e metodi

Materiali

Il grano saraceno (*Fagopyrum esculentum*) è stato germinato come descritto da Sergiacomo *et al.* (2024). La farina di grano saraceno tal quale e germinato (48h e 72h) è stata poi miscelata con due farine di frumento adatte rispettivamente alla produzione di cracker (C; W alveografico = 150×10^{-4} J, proteine = 9 g/100 g) e di pane (B; W alveografico = 295×10^{-4} J, proteine = 14 g/100 g). I livelli di arricchimento testati per entrambe le basi di frumento sono stati 10, 20 e 30%.

Proprietà reologiche degli impasti

Le proprietà di impastamento sono state valutate in doppio tramite il Farinografo (Anton Paar Group GmbH, Graz, Austria) con il metodo ICC n. 115/1. Le proprietà di estensibilità uniaassiale sono state valutate in doppio mediante il micro-Estensografo (Anton Paar Group GmbH, Graz, Austria) con il metodo standard AACC 54-10.01.

Sviluppo di cracker e pane

I cracker sono stati prodotti con solo farina di frumento e con un livello di arricchimento del 30% di grano saraceno tal quale e germinato, utilizzando la seguente ricetta: 300 g di sfarinato, 170 g di acqua, 21 g di olio, 4 g di lievito secco, 3,5 g di sale e 3 g di zucchero. L'impasto è stato impastato per 5 minuti, lasciato lievitare per 20 min, laminato e tagliato in forme da 10x5 cm. I cracker sono stati cotti in forno a 180°C per 14 min. Per ogni formulazione sono stati preparati due lotti di prodotto, e da ciascun lotto sono stati ottenuti 15 pezzi. Il pane è stato preparato con solo farina di frumento e con un livello di arricchimento del 10% di grano saraceno tal quale e germinato, utilizzando la seguente ricetta: 350 g di sfarinato, 195 g di acqua, 5,25 g di lievito secco e 3,5 g di sale. L'impasto è stato impastato per 7 min e lasciato lievitare, diviso in 6 porzioni e cotto a 160°C per 45 min. Per ogni formulazione sono stati realizzati due lotti di produzione, ottenendo 6 panini da ciascun lotto.

Caratterizzazione di cracker e pane

Il volume specifico degli snack e del pane è stato calcolato come il rapporto tra il volume (AACC 10-05.01) e il peso. Il volume è stato misurato in doppio su 5 pezzi nel caso dei cracker e in triplo su tre pezzi nel caso del pane. La consistenza dei prodotti è stata valutata utilizzando il Texture Analyzer (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, UK) dotato di una cella di carico da 100 N e seguendo il test di rottura a tre punti per i crackers e di doppia compressione con sonda cilindrica da 36 mm nel caso del pane. L'analisi di texture è stata condotta su 10 pezzi di cracker e su 6 fette per ciascun lotto di produzione.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata eseguita con il software Statgraphics Plus 5.1 (StatPoint Inc., Warrenton, VA, USA), utilizzando l'analisi della varianza ad una via per verificare le differenze significative tra i campioni. Le significatività ($p < 0,05$) sono state individuate tramite il test HSD di Tukey.

Risultati e discussione

Proprietà reologiche degli impasti

Le proprietà di impastamento del frumento dopo l'aggiunta di grano saraceno tal quale e germinato, a diversi livelli di arricchimento, sono riportate nella **Tabella 1**.

Tabella 1. Variazione delle proprietà di impastamento delle miscele preparate sostituendo le farine di frumento B e C con l'aggiunta del 10, 20 e 30% di grano saraceno tal quale (0 ore) e germinato per 48 h e 72 h.

Miscele di frumento per produzione di pane (B) arricchite in grano saraceno									
Tempo di germinazione	0 ore			48 ore			72 ore		
Livello di arricchimento	10%	20%	30%	10%	20%	30%	10%	20%	30%
Assorbimento (Δ %)	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Sviluppo (Δ min)	↓6	↓7	↓7	↓10	↓10	↓10	↓10	↓10	↓10
Stabilità (Δ min)	↓10	↓15	↓16	↓15	↓16	↓17	↓15	↓17	↓17
Miscele di frumento per produzione di crackers (C) arricchite in grano saraceno									
Tempo di germinazione	0 ore			48 ore			72 ore		
Livello di arricchimento	10%	20%	30%	10%	20%	30%	10%	20%	30%
Assorbimento (Δ %)	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Sviluppo (Δ min)	=	=	=	=	=	=	=	=	=
Stabilità (Δ min)	=	=	=	↓1	↓1	↓1	↓1	↓1	↓1

= : nessuna variazione del parametro rispetto alla farina di frumento; ↓: diminuzione del parametro rispetto alla farina di frumento; ↑: aumento del parametro rispetto alla farina di frumento

La farina di frumento B utilizzata in questo lavoro presenta un assorbimento d'acqua del 56%, un tempo di sviluppo di 11 min e una stabilità di 20 min, caratteristiche comuni per una farina adatta alla panificazione. La farina di tipo C, invece, presenta un assorbimento del 55% con un tempo di sviluppo e stabilità di 1,5 e 2,6 min rispettivamente (dati non mostrati). L'assorbimento d'acqua non subisce variazioni all'aumentare del livello di arricchimento o tempo di germinazione per entrambe le basi di frumento testate. Differenze nel tempo di sviluppo dell'impasto sono riscontrate solo nel caso delle miscele con farina B, per le quali l'aggiunta di grano saraceno germinato ha un effetto maggiore sulla diminuzione di questo indice. Infine, l'aggiunta di grano saraceno riduce la stabilità dell'impasto preparato con entrambe le farine, con la farina B che risulta maggiormente influenzata dalla diluizione del glutine e dalla rottura della rete glutinica a causa dell'aggiunta di una fonte di fibre e proteine prive di glutine. Nel complesso, si osserva un peggioramento delle proprietà di impastamento con l'uso di grano saraceno germinato, con le variazioni più pronunciate quando la farina B è utilizzata come base. Al contrario, l'uso della farina C permette di mascherare parzialmente l'effetto dell'aggiunta di grano saraceno germinato.

La valutazione delle proprietà di estensibilità dell'impasto fornisce informazioni sulla capacità dell'impasto di resistere a uno stiramento eseguito da un gancio. La farina B è caratterizzata da una buona estensibilità (204 mm) e una buona resistenza all'estensione (452 UB). Valori più bassi di estensibilità e resistenza all'estensione sono stati riscontrati per la farina di tipo C (149 mm e 345 UB rispettivamente; dati non mostrati). L'aggiunta di grano saraceno provoca una riduzione dell'estensibilità dipendente soprattutto dal livello di integrazione utilizzato e non dalla germinazione o dalla sua durata (**Tab. 2**). Inoltre, la resistenza all'estensione diminuisce maggiormente quando C è utilizzata come base, con un effetto di mitigazione in entrambe le basi di frumento dovuto proprio alla germinazione. La diminuzione dei parametri estensografici potrebbe essere attribuita unicamente all'aggiunta di grano saraceno, quindi al basso contenuto di proteine in grado di conferire viscoelasticità all'impasto.

Tabella 2. Variazione delle proprietà di estensibilità delle miscele preparate sostituendo le farine di frumento B e C con l'aggiunta del 10, 20 e 30% di grano saraceno tal quale (0 ore) e germinato per 48 h e 72 h.

Miscele di frumento per produzione di pane (B) arricchite in grano saraceno									
Tempo di germinazione	0 ore			48 ore			72 ore		
Livello di arricchimento	10%	20%	30%	10%	20%	30%	10%	20%	30%
Estensibilità (Δ mm)	=	↓38	↓59	=	↓67	↓74	=	↓38	↓62
Resistenza all'estensione (Δ UB)	↓75	↓136	↓217	=	↓78	↓54	=	↓51	↓69
Miscele di frumento per produzione di crackers (C) arricchite in grano saraceno									
Tempo di germinazione	0 ore			48 ore			72 ore		
Livello di arricchimento	10%	20%	30%	10%	20%	30%	10%	20%	30%
Estensibilità (Δ mm)	↓18	↓28	↓44	=	↓26	↓54	=	↓27	↓50
Resistenza all'estensione (Δ UB)	↓88	↓167	↓211	↓60	↓100	↓118	↓66	↓104	↓94

= : nessuna variazione del parametro rispetto alla farina di frumento; ↓: diminuzione del parametro rispetto alla farina di frumento; ↑: aumento del parametro rispetto alla farina di frumento

Caratterizzazione di cracker e pane

L'aggiunta di grano saraceno (sia tal quale che germinato) comporta una riduzione del peso e un aumento del volume specifico del cracker (**Tab. 3**). La consistenza diminuisce in presenza di grano saraceno. Tuttavia, né la germinazione né il tempo di germinazione hanno avuto effetto su questo indice. Per quanto riguarda il lavoro necessario per rompere il prodotto, l'aggiunta di grano saraceno non germinato e germinato per 48 ore provoca una diminuzione di questo indice, suggerendo un indebolimento della matrice dovuto alla diluizione del glutine e/o all'inclusione di fibre. D'altro canto, l'aggiunta di grano saraceno germinato per 72 ore determina un del lavoro, raggiungendo lo stesso valore riscontrato nel controllo. Si ipotizza che i cambiamenti molecolari indotti dalla germinazione abbiano favorito la formazione di una matrice coesa, anche tramite interazioni proteina-proteina.

Tabella 3. Parametri di qualità dei cracker preparati con 100% farina di frumento (C) e l'aggiunta del 30% di grano saraceno tal quale (0 ore) e germinato per 48 e 72 ore.

	Volume specifico (mL/g)	Consistenza (N)	Lavoro (N/cm)
C	2,3 ± 0,2 ^a	41,9 ± 6,1 ^c	336,6 ± 41,5 ^b
0 ore	3,0 ± 0,3 ^b	25,7 ± 2,8 ^{ab}	228,2 ± 36,0 ^a
48 ore	2,8 ± 0,2 ^b	31,9 ± 4,4 ^b	265,0 ± 43,7 ^a
72 ore	2,7 ± 0,1 ^b	31,8 ± 4,3 ^{ab}	342,0 ± 57,5 ^b

Lettere diverse nella stessa colonna indicano differenze significative tra i campioni (ANOVA a una via; test Tukey HSD; $p \leq 0,05$).

L'aggiunta di grano saraceno germinato determina un aumento in volume specifico rispetto al pane fatto solo con frumento e con l'aggiunta di grano saraceno non germinato (0 ore) (**Tab. 4**), confermando quanto osservato per il pane arricchito in quinoa germinata (Suárez-Estrella *et al.*, 2020). L'aggiunta di grano saraceno, germinato e non, inoltre migliora la sofficità della mollica. In particolare, la consistenza diminuisce con l'aggiunta di grano saraceno germinato rispetto sia al pane di frumento che a quello fatto con grano saraceno non germinato. L'elevato volume specifico del pane potrebbe spiegare la morbidezza della mollica nel pane arricchito con grano saraceno germinato. L'effetto è osservabile solo al giorno 0. Ciò è probabilmente dovuto alla maggiore perdita di umidità osservata dopo due giorni nel pane con aggiunta di grano saraceno germinato.

Tabella 4. Parametri di qualità del pane preparato con 100% farina di frumento (B) e con l'aggiunta del 10% di grano saraceno tal quale (0 ore) e germinato per 48 e 72h

	Volume specifico (mL/g)	Consistenza (N)		Umidità (%)	
		giorno 0	giorno 2	giorno 0	giorno 2
		B	3,2 ± 0,1 ^a	14,7 ± 1,3 ^{bc}	55,3 ± 3,3 ^a
0 ore	3,3 ± 0,1 ^a	15,2 ± 2,6 ^c	57,4 ± 2,5 ^a	42,4 ± 0,7 ^a	33,0 ± 0,3 ^b
48 ore	3,7 ± 0,2 ^b	12,2 ± 1,2 ^a	52,8 ± 2,5 ^a	42,4 ± 0,5 ^a	29,9 ± 1,8 ^a
72 ore	3,6 ± 0,1 ^b	12,4 ± 0,8 ^a	52,3 ± 4,5 ^a	42,6 ± 0,8 ^a	31,2 ± 0,9 ^{ab}

Lettere diverse nella stessa colonna indicano differenze significative tra i campioni (ANOVA a una via; test Tukey HSD; $p \leq 0,05$).

Conclusioni

I risultati di questo studio evidenziano come il tempo di germinazione e il livello di arricchimento influenzino le proprietà reologiche di impasti arricchiti in grano saraceno, seppur in misura diversa. Nello specifico, il livello di arricchimento influenza principalmente le proprietà di estensibilità, mentre le proprietà di impastamento vengono maggiormente influenzate dal tempo di germinazione. Inoltre, l'impatto dell'arricchimento e del tempo di germinazione appare più marcato nelle miscele per la produzione di pane rispetto a quelle per i cracker. Tuttavia, è possibile produrre prodotti da forno (pane e cracker) a base di grano saraceno germinato con caratteristiche qualitative simili e, in alcuni casi, anche migliori rispetto ai controlli.

Bibliografia

- Borgonovi S. M., Chiarello E., Pasini F., Picone G., Marzocchi S., Capozzi F., Bordoni A., Barbiroli A., Marti A., Iametti S., Di Nunzio M. 2023. Effect of sprouting on biomolecular and antioxidant features of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Foods*, 12(10): 2047-.
- Giovanelli G., Bresciani A., Benedetti S., Chiodaroli G., Ratti S., Buratti S., Marti A. 2023. Reformulating couscous with sprouted buckwheat: physico-chemical properties and sensory characteristics assessed by e-senses. *Foods*, 12(19): 3578-.
- Sergiacomo A., Bresciani A., Gallio F., Varetto P., Marti A. 2024. Sprouted Oats (*Avena sativa* L.) in baked goods: from the rheological properties of dough to the physical properties of biscuits. *Food and Bioprocess Technology*, 17: 4094-4105.
- Sofi S. A., Ahmed N., Farooq A., Rafiq S., Zargar S. M., Kamran F., Dar T. A., Mir S. A., Dar B. N., Mousavi Khaneghah A. 2023. Nutritional and bioactive characteristics of buckwheat, and its potential for developing gluten-free products: An updated overview. *Food Science & Nutrition*, 11(5): 2256-2276.
- Suárez-Estrella D., Cardone G., Buratti S., Pagani M. A., Marti A. 2020. Sprouting as a pre-processing for producing quinoa-enriched bread. *Journal of Cereal Science*, 96: 103111.

POSTERS

Il progetto LIFE Agrestic come esempio di agricoltura rigenerativa

B. Volta, A. Castellucci, M. Ruggeri*

Horta srl, Via Egidio Gorra 55, 29122 Piacenza (PC).

*E-mail: b.volta@horta-srl.com

Abstract

The main regenerative farming practices are being studied in the LIFE Agrestic (Reduction of Agricultural Greenhouse gases Emissions Through Innovative Cropping systems) project, which aims to promote the adoption of innovative cropping systems with high climate mitigation potential and more efficient use of resources. The project has set up two demonstration sites where Efficient Cropping Systems (ECS) and Conventional Cropping Systems (CCS) have been compared. After three years of rotation, the innovative durum wheat cropping system has recorded a significant nitrogen fertilization saving and a reduction of carbon footprint, without negative effects on yield and quality parameters required by milling industry.

In addition, the use of alfalfa in a relay-cropping strategy has aided ECS to achieve a decreasing of soil GHGs emissions. In addition, costs assessment proved as this regenerative practice is simple and cheap, as well as useful in temperate climate to stock up to 2,5 t/ha of Carbon per year in the soil. In innovative management, carbon sequestered in the soil was observed more stable and durable, thanks to a lower bare soil time-span.

Riassunto

Le principali pratiche di agricoltura rigenerativa vengono studiate nel progetto europeo LIFE Agrestic (Reduction of Agricultural Greenhouse gases Emissions Through Innovative Cropping systems), il cui obiettivo è quello di promuovere l'adozione di sistemi colturali cerealicoli innovativi con un alto potenziale di mitigazione del cambiamento climatico e un uso più efficiente delle risorse.

Il progetto ha realizzato due siti dimostrativi in cui sono stati confrontati su scala aziendale sistemi colturali efficienti (ECS) e convenzionali (CCS).

Dopo tre anni di rotazioni è emerso come la gestione innovativa nel frumento duro abbia permesso un risparmio di azoto distribuito e una riduzione dell'impronta carbonica senza effetti negativi sulle performance di produttività e di parametri qualitativi richiesti dall'industria molitoria.

A vantaggio dell'ECS, inoltre, la bulatura dell'erba medica nel frumento duro ha permesso di ottenere minori emissioni dal suolo, a fronte di una gestione agronomica semplice e poco costosa, e di organizzare fino a 2,5 t/ha di carbonio all'anno; è emersa anche la tendenza del carbonio organico nel suolo a essere più stabile e duraturo nella gestione innovativa.

Introduzione

Il terreno agrario è un'entità fondamentale dei sistemi colturali e il suo stato di salute e di fertilità, pur rappresentando una priorità assoluta per l'attività agricola, non versa in condizioni ottimali: nella comunità europea questa condizione interessa il 60-70% dei suoli, a causa dell'attività antropica (European Commission, 2022).

Di conseguenza, da alcuni anni esiste una sensibilità particolare verso questo tema, che sia a livello globale sia a livello continentale ha contribuito alla nascita di diverse iniziative di carattere normativo. All'aumento della protezione a livello normativo, concorrono diverse

azioni delineate nella strategia europea sul suolo, quali lo sviluppo di indicatori sulla salute del terreno, la promozione dell'economia circolare anche a livello agricolo, la riduzione della desertificazione, lo sviluppo di un sistema di monitoraggio sulla salute pedologica e la promozione di pratiche di gestione sostenibile come l'agricoltura rigenerativa e l'agroforestazione attraverso il Carbon Farming. A questo proposito, il suolo rappresenta la matrice con la più grande capacità di stoccaggio del Carbonio nell'intero pianeta; si stima infatti che circa il 75-80% del Carbonio organico presente nella biosfera terrestre, esclusi i combustibili fossili, sia immagazzinato nel suolo, mentre il restante 20-25% sia organizzato nella vegetazione. Pertanto, i suoli a uso agricolo possono contribuire attivamente al raggiungimento degli obiettivi di zero emissioni di gas serra per il 2050, oggetto di interesse di molte realtà produttive.

Materiali e metodi

L'agricoltura rigenerativa si basa sull'integrazione di tre principi base:

- minimo disturbo meccanico al suolo
- realizzazione di una copertura vegetale permanente
- impiego di avvicendamenti colturali diversificati, nelle colture annuali, o associazioni vegetali, nelle colture perenni

a cui si aggiungono in seconda battuta i seguenti:

- integrazione delle attività tra agricoltura e allevamenti;
- riduzione significativa degli input esterni al sistema, favorendo al contempo il riciclo di materiali organici all'interno dell'azienda o del territorio secondo i principi dell'economia circolare;
- creazione di una rete di relazioni tra produttori, cittadini e altri attori locali, in un contesto di filiera corta o cortissima.

Le principali pratiche di agricoltura rigenerativa sono studiate nel progetto europeo Life Agrestic (Reduction of Agricultural Greenhouse gases Emissions Through Innovative Cropping systems), LIFE17 CCM/IT/000062, che si inserisce all'interno del più ampio obiettivo di mitigazione del cambiamento climatico del LIFE Programme for the Environment and Climate Change 2014- 2020. I partner coinvolti sono sette: la capofila Horta Srl, Scuola Superiore Sant'Anna, Università Cattolica del Sacro Cuore, Art-ER, Produttori Sementi Bologna, Università degli Studi di Milano e New Business Media.

La sperimentazione è stata impostata seguendo una rotazione quadriennale in tre siti dimostrativi, rappresentativi di due aree climatiche italiane: Ravenna (Figura 1) per l'areale nord e Foggia. Ognuno dei siti sperimentali comprende quattro appezzamenti gestiti secondo alcune delle pratiche rigenerative sopra menzionate (Efficient Cropping System, ECS) e altrettanti appezzamenti gestiti secondo i consigli di un'azienda tradizionale locale (Conventional Cropping System, CCS), con l'obiettivo di realizzare un confronto tra le due gestioni.



Figura 1. Sito sperimentale Life Agrestic di Ravenna

Nello specifico, la gestione innovativa (ECS) prevedeva la sostituzione del cereale estivo con legumi da granella (pisello proteico, cece, lenticchia) per ridurre l'utilizzo di fertilizzanti azotati; la trasemina di leguminose quali l'erba medica nel frumento duro sia per favorire l'organizzazione di Carbonio e la fissazione di Azoto sia per fungere da coltura di copertura una volta raccolta la coltura principale; l'ottimizzazione delle tecniche colturali attraverso l'utilizzo di DSSs (Decision Support Systems).

In Figura 2 sono schematizzati i periodi occupati dalle varie colture negli appezzamenti di Ravenna e Foggia. È evidente come nella rotazione tradizionale i periodi di suolo nudo siano decisamente superiori rispetto a quella innovativa, la quale beneficia del contributo delle colture di copertura per diversi periodi dell'anno.

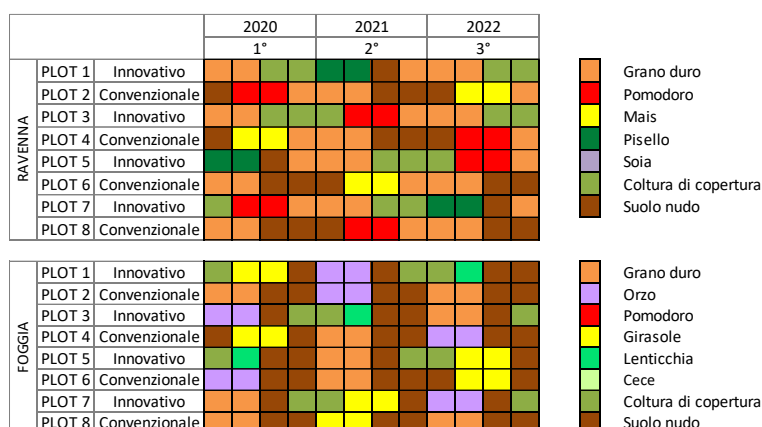


Figura 2. Rotazione culturale applicata ai siti sperimentali Life Agrestic di Ravenna e Foggia.

I rilievi e le analisi periodiche effettuate sulle colture e la misurazione costante di temperatura e umidità nel suolo attraverso sensori presenti in campo consentono di raccogliere dati relativi alle prestazioni delle coltivazioni e delle colture di copertura, alla qualità dei residui colturali incorporati, ai dati meteo e pedologici, agli input esterni utilizzati, all'Azoto presente nel suolo in tutte le sue forme, al Carbonio organico, alla qualità delle lisciviazioni e dei percolati.

La Scuola Superiore Sant'Anna ha sviluppato un prototipo composto da una stazione di elaborazione dati con analizzatori di anidride carbonica (CO₂) e protossido di azoto (N₂O) e da otto camere automatiche, divise tra due plot adiacenti, per la misurazione in continuo e in tempo reale dei flussi di questi gas serra dal suolo (Figura 3): vengono così ottenute otto misurazioni per ora. Parallelamente, attraverso i campionamenti pedologici e colturali, sono note le quantità di nutrienti presenti nelle diverse matrici ed è possibile elaborare l'efficienza con cui le piante li assorbono e li sfruttano.



Figura 3. Prototipo con stazione e camere automatiche

Nel terreno l'anidride carbonica viene emessa principalmente per la respirazione delle colture a livello radicale e dei microrganismi del suolo e per ossidazione della matrice organica dovuta alle lavorazioni; l'emissione di protossido di azoto, invece, avviene prevalentemente a causa della decomposizione dei fertilizzanti azotati. CO_2 e N_2O hanno un ruolo centrale nell'incremento del riscaldamento globale perché sono i primi gas a effetto serra prodotti dalle attività agricole, oltre al metano (CH_4), quest'ultimo tipico delle risaie e degli allevamenti zootecnici.

Tutte le operazioni sopracitate vengono effettuate sia sui CCS sia sugli ECS in modo da poter operare un confronto tra le due gestioni colturali.

Risultati e discussione

Dopo tre anni di rotazioni complete è stato possibile effettuare una analisi dei risultati. La gestione innovativa nel frumento duro, ad esempio, ha portato a un risparmio di azoto distribuito (-22% a Ravenna e -51% a Foggia) e a una riduzione della Carbon Footprint in ton $\text{CO}_2\text{eq./ton}$, che quantifica le emissioni di gas serra prodotte direttamente o indirettamente dalle attività antropiche, del 19% a Ravenna e del 48% a Foggia. A differenza dei gas serra misurati dalle camere che interessano solo le emissioni prodotte dal suolo, la Carbon Footprint riguarda l'intero ciclo di coltivazione (consumi di gasolio, concimi, prodotti fitosanitari, seme, ecc.).

Tra gli indicatori di impatti ambientali legati all'attività agricola, inoltre, viene calcolato lo Human Tox Score, una valutazione del rischio tossicologico sulla salute umana, legato alla presenza di sostanze chimiche di sintesi usate in campo: nella rotazione innovativa questo indicatore è complessivamente inferiore rispetto alla gestione convenzionale sia a Foggia sia a Ravenna. Anche il rischio eco-tossicologico sull'ecosistema acquatico e terrestre, misurato dall'indicatore Ecosystem Tox Score, è stato complessivamente inferiore per le rotazioni innovative in entrambe le località.

Nello specifico, esaminando le emissioni di gas serra misurate dalle camere di accumulo nella stazione di Ravenna (Figura 4), la rotazione innovativa ha permesso di ridurre le emissioni di anidride carbonica dal suolo del 33% e quella del protossido di azoto del 46%. Se consideriamo solamente la stagione a grano duro, le riduzioni ammontano al 31% per la CO_2 e al 70% per l' N_2O .

Nel progetto sono stati poi analizzati sia i costi colturali sia le produzioni lorde vendibili. Tali analisi sono imprescindibili nell'ambito dell'agricoltura rigenerativa perché è importante conciliare la sostenibilità ambientale con quella economica.

A questo proposito è stata funzionale la tecnica di bulatura (Figura 4) dell'erba medica nel frumento duro di Ravenna che ha permesso di realizzare una ottima copertura del suolo durante i mesi estivi e invernali, con conseguenti vantaggi, a fronte di una gestione agronomica semplice e relativamente poco costosa che prevedeva semina a spaglio con spandiconcime, interrimento tramite erpice strigliatore e sfalci meccanici nel periodo estivo-autunnale.



Figura 4. Erba medica bulata nel grano a fine agosto.
Si notano stoppie di grano e piante di erba medica in consociazione

In termini di sequestro di carbonio, invece, è stata organicata annualmente più di 1 t/ha di carbonio, con valori massimi raggiunti nelle annate più umide di oltre 2,5 t/ha/anno. Lo studio periodico dei valori di sostanza organica nel suolo dopo tre anni ha evidenziato nel CCS una riduzione media dello 0,08% (sostanza organica nel 2019: 1,42%; nel 2022: 1,34%) e nell'ECS un aumento dello 0,02% (sostanza organica nel 2019: 1,40%; nel 2022: 1,42%). Si evince quindi che la gestione innovativa ha contribuito a mantenere livelli stabili di questo parametro, a differenza di quella convenzionale in cui si sono registrate delle perdite.

Si tratta di differenze minime e la comunità scientifica è d'accordo nell'affermare che le trasformazioni del suolo richiedono periodi molto lunghi, in particolare perché si notino variazioni significative nello stock di carbonio.

L'attività di sperimentazione condotta nell'ambito del progetto Agrestic ha avuto un ruolo decisivo nella validazione del trend del carbonio organico del suolo e delle prestazioni agronomiche, ambientali ed economiche dei nuovi sistemi colturali basati sull'agricoltura rigenerativa.

Implementare su larga scala i principi di questo tipo di agricoltura, dunque, ci permetterebbe di portare avanti la triplice sfida del cambiamento climatico, della perdita di biodiversità e del degrado del suolo, guadagnando allo stesso tempo in termini di contenuto nutritivo degli alimenti.

Bibliografia

https://www.mase.gov.it/sites/default/files/archivio/allegati/life/progetti_mese/progetto_life_mese_settembre2021_lifeagrestic.pdf

Meriggi P., Castellucci A. (2023). Aspetti agronomici e ambientali dell'agricoltura rigenerativa: il caso pratico del Progetto LIFE Agrestic. *Rivista di Divulgazione di Cultura Agraria*. Accademia Nazionale di Agricoltura, 7, 87-109. <https://www.accademia-agricoltura.it/pubblicazioni/#riviste>

Progetto Co.S.Mo.: trasferimento tecnologico per l'implementazione della filiera del grano monococco in Sicilia

B. Messina^{1}, G. Russo¹, G. Toscano², F. Nocente³, L. Gazza³*

¹Consorzio di Ricerca "Gian Pietro Ballatore", Viale della Libertà 203, 90143 Palermo (PA).

²Università Politecnica delle Marche, Via Brecce Bianche snc, 60131 Ancona (AN).

³Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di Ricerca Ingegneria e Trasformazioni Agroalimentari, Via Manziana 30, 00189 Roma (RM).

*E-mail: dinomessina@ilgranoduro.it

Abstract

To create conditions that enable cereal farmers to expand their crop choices, the "Co.S.Mo." project aims to organize the Einkorn supply chain in Sicily. Seven experimental fields, each approximately 3 hectares in size, were established over two growing cycles (2021 and 2022) to test cultivation techniques in environments with varying pedoclimatic characteristics. The crops were milled using different milling diagrams, and the flours were evaluated for their suitability for pasta-making, baking, and couscous production, as well as analyzed for commercial, technological, and nutritional parameters. Additionally, a micro-malting prototype was employed to malt the Einkorn and assess its suitability for beer production. Finally, the straw was chemically and physically characterized to evaluate its potential for briquette production as a source of energy.

Riassunto

Al fine di creare le condizioni perché i cerealicoltori possano ampliare le scelte colturali, il progetto "Co.S.Mo." si è posto l'obiettivo di organizzare la filiera del grano monococco in Sicilia, dalla produzione primaria alla trasformazione. Sette campi dimostrativi, di circa 3 ettari ciascuno, sono stati realizzati per due cicli colturali (2021 e 2022), presso le aziende agricole partner di progetto, con lo scopo di collaudare la tecnica colturale in ambienti con caratteristiche pedoclimatiche differenti. Le produzioni dei campi sono state molite utilizzando diversi diagrammi di macinazione e gli sfarinati sono stati utilizzati per la valutazione dell'attitudine pastificatoria, panificatoria e per la produzione di cous-cous, e analizzati per parametri merceologici, tecnologici e nutrizionali. Grazie alla messa a punto di un prototipo di micromalteria da laboratorio è stato possibile maltare la granella di monococco e valutarne l'attitudine alla produzione della birra utilizzando un impianto artigianale di un partner di progetto. La paglia, infine, è stata utilizzata, previa caratterizzazione chimico-fisica, per valutare l'attitudine alla produzione di bricchette.

Introduzione

La Sicilia è un'area particolarmente vocata alla coltivazione dei cereali ed in particolare del frumento duro, cereale strategico per l'agricoltura italiana. Nonostante la filiera del frumento duro sia ben rappresentata sull'intero territorio regionale, diverse sono le criticità che interessano i singoli segmenti. Gli agricoltori devono infatti confrontarsi con un mercato in cui il frumento duro fa registrare prezzi contenuti e sostenere costi di produzione così elevati da rendere la coltura non sempre redditizia. Tutto ciò ha determinato una significativa riduzione della superficie, che dai 338 mila ettari del 2008 è passata ai 282 mila ettari del 2023 (*ISTAT*). Negli anni gli impianti di molitura si sono ridotti e per la produzione di pasta secca oggi in Sicilia sono rimasti solamente quattro impianti. In questo contesto, risulta di fondamentale

importanza fornire ai cerealicoltori la possibilità di diversificare la produzione aziendale, introducendo negli ordinamenti colturali nuove specie adattabili alle condizioni pedoclimatiche della regione. Al fine di creare le condizioni per ampliare le scelte colturali in Sicilia, l'Assessorato Regionale all'Agricoltura, nell'ambito della Sottomisura 16.1 del PSR Sicilia 2014-2022, ha finanziato il progetto "Co.S.Mo. – Cooperazione per lo sviluppo in Sicilia della filiera del grano monococco". Il progetto, che ha come capofila il Consorzio di Ricerca "Ballatore" e tra i partner il CREA-IT di Roma e nove aziende della filiera cerealicola regionale, ha previsto le seguenti azioni:

- introduzione del grano monococco negli ordinamenti colturali;
- impiego della paglia del grano monococco per la produzione di bricchette;
- produzione di malto di grano monococco e valutazione dell'attitudine a produrre birra;
- produzione di sfarinati di grano monococco con molini a pietra e a cilindri, valutazione dell'attitudine panificatoria, pastificatoria e degli aspetti merceologici, nutrizionali e salutistici;
- produzione di sfarinato di grano monococco per cous cous.

Materiali e metodi

Al fine di creare le condizioni per l'introduzione del grano monococco negli ordinamenti colturali delle aziende cerealicole siciliane e collaudare la tecnica colturale in ambienti con caratteristiche pedoclimatiche differenti, sono stati realizzati sette campi dimostrativi di circa 3 ettari ciascuno dedicati alla coltivazione delle varietà Hammurabi e Norberto, per due cicli colturali (2021 e 2022) presso i campi dei partner di progetto.

La granella delle due varietà Hammurabi e Norberto è stata caratterizzata per alcuni parametri merceologici e tecnologici (umidità, peso 1000 semi, peso ettolitrico, proteine). Per le proteine e il peso ettolitrico le analisi sono state effettuate con la tecnologia NIT (Infratec 1241 della Foss) sulla granella intera e svestita.

Si è proceduto, inoltre, alla "bricchettatura" di campioni di paglia di grano monococco presso la ditta Costruzioni Nazzareno di Breda di Piave (TV). La materia prima è stata macinata con un mulino a martelli modello Dynamite e successivamente bricchettata con la bricchettatrice Force. In aggiunta, sono stati eseguiti dei test di bricchettatura senza macinazione della materia prima al fine di valutare la possibilità di eliminare questa fase di lavoro dal processo produttivo, rendendolo più semplice ed economico.

I prodotti ottenuti sono stati analizzati presso il Laboratorio Biomasse dell'Università Politecnica delle Marche per valutare la conformità alla normativa e le potenzialità come biocombustibili solidi. I parametri scelti, riferendosi alla norma ISO 17225-7, hanno riguardato sia proprietà meccaniche che chimico-fisiche. In particolare, sulla materia prima è stato misurato il contenuto in ceneri e fusibilità, potere calorifico inferiore e superiore, azoto, cloro e zolfo. Sulle bricchette sono stati misurati la durabilità e la densità.

È stata valutata anche l'attitudine del malto di grano monococco alla produzione di birra con metodi artigianali. La granella (nuda per Hammurabi e vestita per Norberto) destinata alla produzione di malto è stata analizzata per alcuni parametri (calibro dei semi, germinabilità, contenuto proteico, peso 1000 semi, peso ettolitrico, umidità) e sottoposta a diverse prove di maltazione controllate (macerazione, germinazione ed essiccamento) per ottimizzare i parametri di processo e individuare le condizioni operative più idonee per questo cereale, utilizzando il prototipo di micromalteria realizzato per il progetto. Successivamente alla messa a punto del protocollo di maltazione, distinto per Hammurabi e Norberto, si è proceduto alla produzione di malto per la birrificazione, effettuata dal Birrifico Puma.

Per la valutazione dell'attitudine panificatoria e pastificatoria, sono stati prodotte 5 tipologie di sfarinati per ogni varietà; tre con molitura a cilindri: "non integrale", "integrale 1" (senza crusca e cruschetto) e "integrale 2" (senza crusca e tritello), e due con molitura a pietra: "integrale 3" (senza una parte della crusca) e integrale 4 (senza la crusca).

Per la caratterizzazione degli sfarinati sono stati considerati parametri farinografici, alveografici (P/L, W), test di sedimentazione SDS, Falling Number, indice di glutine, contenuto in proteine e in ceneri. La fibra è stata determinata con il metodo AOAC 991.43 (1995), la capacità antiossidante con il metodo di Martini et al. (2014), i FOS con il metodo AACC 32.32.01 (2010).

È stato prodotto, infine, uno sfarinato di grano monococco per cous cous. Per aumentare la durezza della cariosside, necessaria per ottenere uno sfarinato di granulometria idonea alla produzione di cous cous, è stata applicata la parboilizzazione pre-macinazione sulle cariossidi. Le cariossidi parboilizzate sono state macinate con un mulino per grano duro ottenendo uno sfarinato semi-integrale. Lo sfarinato, dopo aggiunta di una soluzione di NaCl 0,5%, è stato sottoposto a un *rolling* manuale per la formazione dei granuli di cous cous. Successivamente, per uniformare le dimensioni dei granuli di cous cous, si è proceduto al setacciamento. Il cous cous è stato sottoposto a pre-cottura a vapore, seguita da essiccamento a 35°C per 20 h. Sul cous cous delle varietà Norberto e Hammurabi sono state effettuate prove di reidratazione e analisi di alcuni composti nutrizionali (amido, proteine, fibre, ceneri, attività antiossidante).

Risultati e discussione

Con riferimento ai campi dimostrativi, l'annata agraria 2020-2021 è stata caratterizzata da due lunghi periodi di siccità che hanno ridotto le produzioni unitarie e compromesso il raccolto di un campo per ciascuna delle due varietà (esclusi dalle medie). Le produzioni medie sono state pari a 13 q/ha per Norberto e 9,80 q/ha per Hammurabi. L'annata agraria 2021-2022 è stata caratterizzata inizialmente da piogge abbondanti che hanno ritardato le operazioni di semina o impedito l'esecuzione della stessa; il notevole ritardo della semina ha pregiudicato la produzione in particolare per la varietà Hammurabi che, essendo tra le due la più precoce, ha subito una consistente riduzione della durata del ciclo colturale, tale da compromettere la produzione di 6 dei 7 dei campi, mentre per la varietà Norberto è stato compromesso il raccolto di un solo campo. Le produzioni medie sono pari a 9,71 q/ha per Norberto e 8,93 q/ha per Hammurabi; le produzioni massime sono state registrate per il raccolto del 2021 e sono risultate pari a 23,07 q/ha per Hammurabi e 18,13 q/ha per Norberto.

Per quanto riguarda la valutazione dei parametri merceologici e tecnologici della granella raccolta nel 2021 (Tab. 1), la varietà Hammurabi ha mostrato in media valori superiore alla varietà Norberto di circa lo 0,5% per il contenuto proteico e di circa 4 g per il peso 1000 semi, mentre il peso ettolitrico è risultato maggiore in Norberto rispetto ad Hammurabi di circa 5,8 kg/hL. Il contenuto proteico più alto tra tutti i campioni si è riscontrato nella cv Hammurabi (19,3%).

Tabella 1. Parametri merceologici granella raccolto 2021

Varietà		Proteine (% s.s.)	Umidità (%)	Peso ettolitrico (kg/hL)	Peso 1000 semi (g)
AMMURABI	Media	16,36	11,07	68,46	23,90
	DS	2,15	0,53	3,45	4,11
NORBERTO	Media	15,90	11,23	74,24	20,25
	DS	1,06	0,51	1,50	1,16

È stata, inoltre, dimostrata l'idoneità da un punto di vista normativo e della fattibilità tecnica della bricchettatura della paglia di grano monococco, sebbene sia necessario macinare la materia prima per garantire una durabilità meccanica e massa volumica idonea. Alcuni limiti composizionali della paglia, quali cloro, azoto e contenuto di ceneri richiederebbero impianti termici con specifiche caratteristiche capaci di gestire eventuali problematiche di corrosione dei sistemi termici e di emissione in atmosfera.

Tabella 2. Parametri chimico-fisici della paglia di grano monococco

Parametro	Paglia macinata	Paglia non macinata
Densità (g/l)	849,0	683,4
Durabilità (%)	92,2	84,2
Ceneri (%ss)	9,1	
Cloro (%ss)	0,4	
Azoto (%ss)	0,8	
Zolfo (%ss)	0,1	
T fusione (°C)	1122	

L'indicazione che emerge dal lavoro è di indirizzare l'uso questa tipologia di biocombustibile solido per l'alimentazione di impianti termici di tipo industriali, producendo bricchette tendenzialmente corte per potersi adattare ai sistemi di alimentazione e combustione presenti in questa categoria impiantistica.

Relativamente all'attitudine del grano monococco alla produzione di malto da birra, le due varietà hanno mostrato una buona capacità germinativa, superiore in Norberto (96%) rispetto ad Hammurabi (92%). Entrambe le varietà hanno inoltre mostrato buoni valori sia di peso ettolitrico (79 kg/hL in Hammurabi e 80 kg/hL in Norberto) sia del peso 1000 semi (33 g in Hammurabi e 24 g in Norberto), parametri importanti per stimare la resa in malto. Valori molto elevati di proteine sono state riscontrati sia nella varietà Norberto (19,9%) sia in Hammurabi (19,3%). Sui malti delle due varietà è stata inoltre determinata l'attività amilasica. Le due varietà di monococco hanno mostrato un'attività della β -amilasi simile a quella dell'orzo da birra (Hammurabi=11,3 B3U/g; Norberto=9,9 B3U/g), mentre l'attività della α -amilasi è risultata significativamente inferiore rispetto all'orzo da birra, in particolare in Hammurabi (9,6 CU/g) rispetto a Norberto (45 CU/g).

La valutazione dell'attitudine panificatoria e pastificatoria degli sfarinati di monococco (Tab. 3) ha evidenziato che gli sfarinati della cv Hammurabi, pur mostrando valori di contenuto proteico superiori rispetto a quelli della cv Norberto, avevano un glutine molto più debole, come dimostrato dai 35,4 mL in media di meno del sedimento in SDS, dalla metà del valore del W alveografico, ma soprattutto dal valore di Gluten index pressoché nullo. Anche la stabilità dell'impasto e l'indice di qualità farinografica generale si sono in media rivelati maggiori negli sfarinati di Norberto rispetto a quelli di Hammurabi, così come l'attività alfa amilasica, come evidenziato dai valori di Falling Number. Tutti gli sfarinati integrali hanno mostrato mediamente un alto contenuto in fibre totali (8,8%), leggermente superiore in Hammurabi rispetto a Norberto. La capacità antiossidante degli sfarinati di monococco ha confermato l'altissimo valore (Hammurabi 48,6 mmol TEAC/kg; Norberto 42,7 mmol TEAC/ kg) rispetto agli sfarinati integrali di frumento duro e tenero. Anche il contenuto di FOS si è dimostrato elevato, con valori percentuali (Hammurabi 2,4%; Norberto 2,6%) che tra i cereali si registrano solo nella granella immatura di grano duro.

Tabella 3. Parametri merceologici, reologici e tecnologici degli sfarinati (dati medi)

Sfarinati	SDS	FN	Alveografo		Farinografo					GI	Ceneri	Proteine (% s.s.)
	(mL)	(^o)	W	P/L	Ass.H ₂ O	Sviluppo	Stabilità	Ramm. 12'	Qfarin		(%)	
HAMMURABI	27,0	443,6	46,8	3,1	61,0	2,1'	1,0'	112,4 UF	36,4	3,6	1,4	15,6
NORBERTO	62,4	400,0	86,2	1,9	59,5	2,5'	1,7'	93,8 UF	38,4	55,8	1,4	14,2
Differenza	-35,4	43,6	-39,4	1,3	1,5	-0,4'	-0,7'	-18,6 UF	-2,0	-52,2	0,0	1,3

FN= Falling number (indice di caduta) GI=Gluten Index

Con riferimento alla produzione dello sfarinato di grano monococco per cous cous, il processo di parboilizzazione delle cariossidi ha permesso di modificare la tessitura della cariosside che è passata da un indice di durezza, misurato con SKCS, pari a valori dipoco superiori allo zero ad un indice di circa 80, tipico di cariossidi *hard*. Ciò ha fatto ottenere uno sfarinato semi-integrale, in cui più del 40% dello sfarinato mostrava particelle con granulometria >425 µm. Le fasi di *rolling* manuale (incocciamento) e di setacciamento per la formazione dei granelli di cous cous omogenei, e la successiva cottura a vapore (precottura) seguita dall'essiccazione, hanno permesso di ottenere un cous cous precotto. Il cous cous è stato sottoposto a prove di reidratazione per determinare la quantità ottimale di acqua da aggiungere al preparato precotto. Il rapporto ottimale di acqua/cous cous è risultato quello di 1:1 (p/v).

Bibliografia

- AACC 2010. *American Association of Cereal Chemists, Approved Methods*, 11th ed. Methods 32.32.01. St. Paul, MN, USA.
- AOAC 1995. *Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis* 16th ed., Methods 991.43; Gaithersburg, MD, USA.
- Casale C., Ippolito G., Rizzo G., Messina B., Russo G., Pogna N. 2011. La reintroduzione del grano monococco (*Triticum monococcum* L) in Sicilia: risultati di un'analisi preliminare delle caratteristiche agronomiche e qualitative di tre genotipi. *Atti dell'8° Convegno AISTEC "Evoluzione e rilancio della filiera dei cereali – Biodiversità, sostenibilità, tecnologia e nutrizione"* 11-13 maggio 2011, Aci Castello, Catania, pp. 199-202.
- ISTAT, Istituto Nazionale di Statistica. <http://dati.istat.it/Index.aspx?QueryId=37850>. Roma, varie annate.
- Martini D., Taddei F., Nicoletti I., Ciccoritti R., Corradini D., D'Egidio M.G. 2014. Effects of genotype and environment on phenolic acids content and total antioxidant capacity in durum wheat. *Cereal Chemistry*, 91: 310-317.
- Messina B., Ventimiglia M., Russo G. 2018. Indagine sulle abitudini di consumo dei prodotti derivati dai cereali e sulla disponibilità all'acquisto di derivati del grano monococco e dell'avena nella Città Metropolitana di Palermo. *Atti dell'11° Convegno AISTEC "I CEREALI per un sistema agroalimentare di qualità"* 22-24 novembre 2017, Roma, pp. 317-320.
- Nocente F., Galassi E., Taddei F., Natale C., Gazza L. 2024. Preliminary evaluation of minor cereals as non-traditional brewing raw materials. *Beverages*, 10 (1), 2.
- Spada V., Di Stasio L., Picascia S., Messina B., Gianfrani C., Mamone G., Picariello G. 2020. Immunogenic potential of beer types brewed with *hordeum* and *triticum* spp. malt disclosed by proteomics. *Frontiers in Nutrition*, 98 (7).

Realizzato ai sensi del PSR Sicilia 2014-2020 - Sottomisura 16.1 - Bando del 10/08/2018 D.D.S. n. 3788 del 23/11/200 - CUP G64I20000520009

Introduzione delle colture di copertura sull'accumulo di carbonio nel suolo e sulla produttività e qualità del frumento tenero di forza in successione

P. Colombatto, S. Maruccia, R. Cecire, L. Celi, A. Reyneri, M. Blandino*

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Largo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO).

*E-mail: paolo.colombatto@unito.it

Abstract

Given the need to reduce the environmental impact of the cereal sector and mitigate the effects of climate change, the introduction of summer cover crops intercropped with common wheat can be an interesting tool in the hands of farms to reduce chemical inputs, maximize crop efficiency and incorporate large amounts of carbon into the soil. In order to determine and quantify the effects of this practice on a cereal system characterized by high production potential, typical of the Po Valley, a three-year experimental planting was carried out, in which the cultivation of common wheat of strength was alternated with five different types of land cover. In addition, three different levels of fertilization were applied to the wheat in succession in order to analyze the uptake and subsequent release of macronutrients to the cash crop by the biomass produced during the summer period. The results report great capacities to incorporate carbon into the soil by the different CCs considered, but also point out an important effect on the quantitative and qualitative parameters of wheat, inversely proportional to the amount of biomass incorporated into the soil in the intercrop period.

Riassunto

Vista la necessità di ridurre l'impatto ambientale del settore cerealicolo e di mitigare gli effetti del cambiamento climatico, l'introduzione delle colture di copertura estive, intercalari al frumento tenero, può rappresentare un interessante strumento nelle mani delle aziende agricole per ridurre gli input di natura chimica, massimizzare l'efficienza delle colture e incorporare ingenti quantità di carbonio nel suolo. Per determinare e quantificare gli effetti di tale pratica su un sistema cerealicolo caratterizzato da elevata potenzialità produttiva, tipico della Pianura Padana, si è realizzato un impianto sperimentale dalla durata di tre anni, in cui alla coltivazione del frumento tenero di forza si sono fatte avvicendare 5 diverse tipologie di copertura del terreno. Inoltre, tre diversi livelli di concimazione si sono impostati sul frumento in successione, al fine di analizzare l'assorbimento e il successivo rilascio di macronutrienti alla coltura da reddito da parte della biomassa prodotta nel periodo estivo. I risultati riportano grandi capacità di incorporare carbonio nel suolo da parte delle diverse CC considerate, ma evidenziano anche un importante effetto sui parametri quantitativi e qualitativi del frumento, in modo inversamente proporzionale alla quantità di biomassa incorporata nel suolo nel periodo intercolturale.

Introduzione

La necessità di operare una transizione ecologica nel settore agroalimentare richiede la messa a punto di sistemi cerealicoli più resilienti e in grado di contribuire alla mitigazione del cambiamento climatico, aumentando il carbonio stoccato nei suoli e riducendo l'uso di pesticidi e di fertilizzanti di sintesi.

Le colture di copertura (CC) potrebbero svolgere un ruolo importante nella conservazione del suolo e nel miglioramento della sostenibilità dei sistemi agricoli; esse permettono infatti di: ridurre la lisciviazione dei nitrati nelle acque (Min *et al.*, 2011); sfruttare l'azotofissazione

esercitata dalle leguminose nel periodo intercalare, andando a diminuire la necessità di input chimici per la coltura cerealicola in successione (Liu *et al.*, 2011); incorporare nel terreno una considerevole quantità di sostanza organica, migliorando la struttura e il rapporto tra macro e micro porosità dello strato attivo di suolo, traducendosi, tra le altre cose, in un miglioramento della capacità di ritenzione idrica del suolo a favore della coltura successiva (fattore, questo, di notevole importanza nell'ottica della previsione dei cambiamenti climatici e della possibilità di climi sempre più aridi) (Villamil *et al.*, 2006; Abdollahi *et al.*, 2014; Vidotto *et al.*, 2018); esercitare una costante copertura del suolo volta a diminuire fenomeni come l'erosione e il ruscellamento, responsabili non solo della perdita diretta di suolo ma anche del convogliamento di sostanze attive nei corpi idrici, ed, infine, esercitare un continuo bio-controllo sulle avversità delle colture, andando a minimizzare la competizione delle infestanti (Ghimire *et al.*, 2019; Shrestha *et al.*, 2000; Creamer e Baldwin, 2000).

Pochi studi sono stati condotti fino ad ora in aree di coltivazione temperate, considerando il frumento come coltura da reddito e il ruolo delle CC come soluzione per ridurre la fertilizzazione minerale azotata e mantenere alti livelli qualitativi, ed in particolar modo del contenuto proteico.

Materiali e metodi

Un esperimento di campo, della durata di 3 anni (2020-2023), è stato condotto su un terreno sabbioso-limoso a Villafranca P.te (TO), confrontando diverse tipologie di CC estive come colture intercalari al frumento tenero di forza. Le CC confrontate sono state: S, sorgo sudanese (*Sorghum x drummondii*); SV, mix di sorgo sudanese e fagiolo dell'occhio (*Vigna unguiculata*); NV, mix di fagiolo dell'occhio e niger (*Guizotia abyssinica*). Ogni anno sono stati inclusi anche un testimone lasciato al naturale inerbimento da parte della flora spontanea senza la semina di CC (NT) e un testimone di terreno nudo (T), il quale ha previsto l'applicazione di glifosate per controllare lo sviluppo delle infestanti nel periodo intercolturale. Le CC sono state seminate pochi giorni dopo la raccolta del grano e l'asporto della paglia. All'inizio di ottobre, le CC sono state terminate triturando la biomassa e, previa essiccazione naturale della durata di una settimana, sono state incorporate nel terreno mediante aratura. Al momento della cessazione, è stata valutata la presenza di infestanti per unità di superficie in tutti i trattamenti. L'intera biomassa epigea è stata pesata e sono stati raccolti campioni rappresentativi che sono stati analizzati per il contenuto di macronutrienti, al fine di quantificarne l'assorbimento. Nel frumento seminato nelle successive stagioni vegetative, è stato impostato un disegno sperimentale fattoriale con 4 repliche, confrontando i 5 trattamenti CC precedentemente riportati e 3 livelli di fertilizzazione azotata (0, 90, 150 kg N/ha), applicati come nitrato di ammonio allo stadio di accestimento e in fase di levata. È stata utilizzata una cultivar di frumento ad alto contenuto proteico (Bologna). L'indice NDVI è stato rilevato sul grano ogni 7-10 giorni circa e utilizzato per calcolare l'indice AUCDC (*Area Under Canopy Development Curve*), considerando la somma dei valori NDVI durante l'intero ciclo colturale. Il grano è stato raccolto a luglio con una mietitrebbia parcellare e per ogni parcella sono stati misurati la resa in granella, il peso ettolitrico, il peso di mille semi (PMS), il contenuto di proteine e di glutine della granella.

Risultati e discussione

La Tabella 1 riporta la biomassa epigea, il rapporto C/N e l'assorbimento di macronutrienti delle CC al momento della terminazione. Le tesi che hanno previsto l'uso di sorgo (S e SV) hanno registrato una biomassa, e quindi un carbonio organico incorporati nel suolo, significativamente più elevati rispetto a NV o NT, ma anche un rapporto C/N significativamente più alto, il che suggerisce una velocità di mineralizzazione decisamente inferiore per la biomassa di sorgo.

L'assorbimento di N e P è stato più elevato con S, mentre l'assorbimento di K è risultato maggiore con l'uso di NV. La presenza di erbe infestanti non è risultata significativamente diversa tra i diversi CC, sebbene tutti questi trattamenti abbiano registrato una riduzione dal 74% al 93% della presenza di infestanti rispetto al NT.

Tabella 1. Confronto tra la biomassa epigea prodotta, la composizione (rapporto carbonio/azoto, C/N) e la capacità di assorbire e trattenere nutrienti nello strato attivo di suolo tra le diverse colture di copertura (CC) a confronto

CC	Biomassa (t s.s./ha)	C/N	N assorbito (kg/ha)	P assorbito (kg/ha)	K assorbito (kg/ha)
NT	6 b	22.8 b	119 b	18.3 b	190.4 c
S	12.7 a	40.8 a	156 a	33.8 a	266.5 b
SV	12.9 a	40.4 a	144.5 ab	33.4 a	270 b
NV	7.2 b	23.1 b	131.4 ab	31.9 a	326.8 a
<i>p-value</i>	<0.001	<0.001	0.002	<0.001	<0.001

Valori medi dei tre anni di sperimentazione. NT, testimone inerbito della flora spontanea, S, sorgo sudanese, SV, mix di sorgo sudanese e fagiolo dell'occhio, NV, mix di fagiolo dell'occhio e niger. Lettere differenti indicano differenze statisticamente significative, i valori di significatività (p-value) sono riportati in tabella.

L'AUCDC del frumento è stato influenzato in modo significativo e diretto sia dal livello di fertilizzazione (N) che dalla gestione del suolo nel periodo intercolturale (CC), che ha influito sull'indice vegetativo in modo inversamente proporzionale alla quantità di biomassa incorporata nel terreno nel periodo autunnale. Un andamento simile è stato registrato per i parametri quantitativi e qualitativi: la resa in granella è stata più alta nel testimone T, in cui lo sviluppo delle infestanti nel periodo di intercolturale è stato controllato chimicamente, mentre è stata decisamente più bassa per le tesi che hanno previsto l'uso di sorgo (S e SV).

Tabella 2. Effetto della precessione con la coltura di copertura (CC) e della fertilizzazione azotata (N) sull'indice di sviluppo della biomassa (AUCDC), i parametri produttivi e qualitativi del frumento tenero

Fattore	Fonte di variazione	AUCDC	Produzione granella (t/ha)	Peso ettolitrico (kg/hl)	PMS (g)	Proteina (%)	Glutine (%)
CC	T	90.6 a	6.5 a	79 b	31.4 a	14.3 a	13.2 a
	NT	80.1 b	5.3 c	79 b	31.8 a	14.1 a	12.9 a
	S	74 d	5.1 c	80.1 a	32.3 a	13.2 b	11.8 b
	SV	73.4 d	5.1 c	80 a	32.4 a	12.9 b	11.5 b
	NV	77.7 c	5.8 b	79.9 a	32.2 a	13.2 b	11.7 b
	<i>p-value</i>	<0.001	<0.001	<0.001	0.058	<0.001	<0.001
N	0	73.3 c	4.5 c	79.9 a	31.6 a	12.5 c	10.9 c
	90	79.8 b	5.4 b	79.5 a	31.9 a	13.5 b	12.1 b
	150	82.5 a	6.4 a	79.6 a	32.5 a	14.3 a	13.1 a
	<i>p-value</i>	<0.001	<0.001	0.214	0.422	<0.001	<0.001
CC x N	<i>p-value</i>	0.011	0.084	0.028	0.322	0.022	0.049

Valori medi dei tre anni di sperimentazione. CC, cover crop, T, testimone di suolo nudo, NT, testimone naturalmente inerbito dalla flora spontanea, S, sorgo sudanese, SV, mix di sorgo sudanese e fagiolo dell'occhio, NV, mix di fagiolo dell'occhio e niger. 0, 90 e 150 rappresentano le dosi di N distribuite come kg N/ha. Lettere differenti indicano differenze statisticamente significative, i valori di significatività (p-value) sono riportati in tabella.

Il peso ettolitrico e il PMS non sono stati influenzati dal fattore N, mentre il peso ettolitrico è risultato inferiore per le tesi T ed NT. Il contenuto proteico e di glutine in granella è aumentato significativamente in funzione del livello di fertilizzazione, mentre tutti i trattamenti CC, anche quelli che hanno previsto l'uso di una leguminosa in miscela (SV e NV), hanno mostrato valori di qualità della granella più bassi rispetto a NT o T (Tab. 2).

L'effetto dell'interazione tra il livello di fertilizzazione (N) e la gestione del suolo nel periodo intercolturale (CC) risulta particolarmente interessante ed evidente sul contenuto proteico medio della granella nel corso dei tre anni di sperimentazione (Fig. 1): i valori più alti (che si aggirano intorno al 14.5%) si sono raggiunti con il frumento in successione a T e NT, sia a 90 che a 150 kg N/ha, senza differenze statisticamente rilevanti tra i due diversi livelli di fertilizzazione. Tutte le tesi che hanno previsto l'uso delle colture di copertura (S, SV e NV), e nella fattispecie quelle che hanno previsto l'uso di sorgo (S e SV), viceversa, non hanno raggiunto il valore di proteina necessario per la determinazione merceologica del frumento di forza, a prescindere dal livello di concimazione adottato, eccezion fatta per il frumento dopo sorgo e con 150 kg N/ha, il cui limite risulta però essere una resa produttiva nettamente inferiore a T. Condizione simile viene descritta per la tesi NT, la quale, pur avendo raggiunto un contenuto di proteina in granella considerevole, è assoggettata da un livello produttivo decisamente inferiore a T e, soprattutto, ad una gestione delle infestanti che porterà ad una crescita esponenziale della banca semi del suolo nel corso delle successive annate agrarie.

Risulta, quindi, di fondamentale importanza, soprattutto in un'ottica di efficientamento dell'agrotecnica utilizzata e valorizzazione del prodotto all'interno di filiere determinate, considerare come fattore cruciale l'adattamento della fertilizzazione azotata del frumento in funzione della quantità e della qualità della biomassa interrata nel periodo intercolturale, al fine di scongiurare l'indisponibilità di macronutrienti per la coltura da reddito e la conseguente riduzione dei parametri qualitativi e quantitativi.

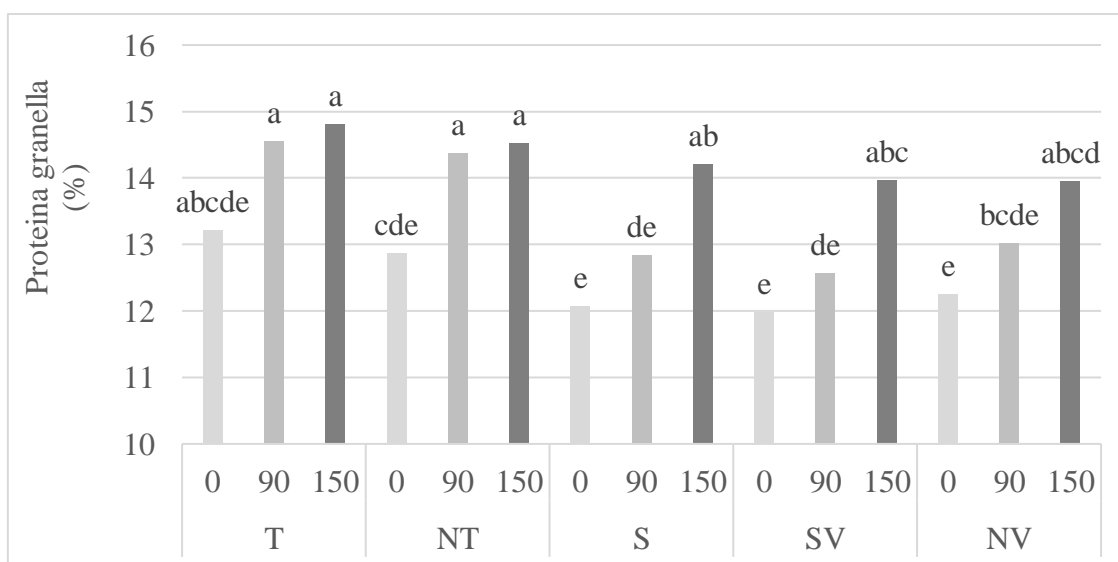


Figura 1. Effetto della precessione con coltura di copertura e della fertilizzazione azotata sul contenuto proteico della granella di frumento.

Valori medi dei tre anni di sperimentazione. T, testimone di suolo nudo, NT, testimone naturalmente inerbito dalla flora spontanea, S, sorgo sudanese, SV, mix di sorgo sudanese e fagiolo dell'occhio, NV, mix di fagiolo dell'occhio e niger. 0, 90 e 150 rappresentano le dosi di N distribuite come kg N/ha. Lettere differenti indicano differenze statisticamente significative (p -value < 0.001).

In un areale di coltivazione temperato, le colture di copertura intercalari al frumento durante il periodo estivo hanno registrato un'elevata resa in biomassa e una buona capacità di trattenere i nutrienti nello strato attivo di suolo, oltre a esercitare un'importante azione indiretta di controllo dello sviluppo delle infestanti. Tutti questi benefici sono risultati generalmente più elevati quando il sorgo è stato incluso tra le CC. Inoltre, questa esperienza condotta dopo un periodo di tre anni, ha mostrato effetti controversi sulla coltura da reddito in successione, con il verificarsi di un probabile sequestro di nutrienti (nella fattispecie di azoto) durante lo sviluppo vegetativo del grano, che influisce chiaramente sulla resa e sulla qualità della granella.

Bibliografia

- Abdollahi L., Munkholm L. J., Garbout A. 2014. Tillage System and Cover Crop Effects on Soil Quality: II. Pore Characteristics. *Soil Science Society of America Journal*, 78(1), 271-279.
- Commissione Europea UE (2020). *Farm to Fork Strategy*.
- Creamer N. G., Baldwin K. R. 2000. An Evaluation of Summer Cover Crops for Use in Vegetable Production Systems in North Carolina. *HORTSCIENCE*, 35(4), 600-603.
- Ghimire R., Mesbah A., Nilahyane A., Ghimire B., Beck L. 2019. Efficacy of cover crops on weed suppression, wheat yield, and water conservation in winter wheat–sorghum–fallow. *Crop Science*, 59(4): 1745-1752.
- Liu Y., Wu L., Baddeley J.A., Watson C.A. 2011. Models of Biological Nitrogen Fixation of Legumes. In: Lichtfouse, E., Hamelin, M., Navarrete, M., Debaeke, P. (eds) *Sustainable Agriculture Volume 2*. Springer, Dordrecht.
- Min J., Shi W., Xing G., Zhang H., Zhu Z. 2011. Effects of a catch crop and reduced nitrogen fertilization on nitrogen leaching in greenhouse vegetable production systems. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 91(1): 31-39.
- Shrestha A., Knezevic S. Z., Roy R. C., Ball-Coelho B. R., Swanton C. J. 2002. Effect of Tillage, Cover Crop and Crop Rotation on the Composition of Weed Flora in a Sandy Soil. *European Weed Research Society*, 42: 76-87.
- Triollet R., Mccafferty E.J., Alvarez Martinez A.F., Tóth B., Bellan E., Al Khudhairi D. 2019. JRC Annual Report 2019, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2020.
- Vidotto F., de Palo F., Ferrero A. 2018. Infestanti emergenti e riduzione di disponibilità di erbicidi. “ATTI XXI Convegno S.I.R.F.I.” Bari, S.I.R.F.I., pp. 175-208.
- Villamil M. B., Bollero G. A., Darmody R. G., Simmons F. W., Bullock D. G. 2006. No-Till Corn/Soybean Systems Including Winter Cover Crops. *Soil Science Society of America Journal*, 70(6): 1936-1944.

Controllo delle patologie del frumento con l'applicazione di bio-fungicidi: effetto sulla produttività e sul contenuto in micotossine da *Fusarium* e *Alternaria*

S. Maruccia^{1*}, P. Giorni², P. Colombatto¹, A. Abate³, A. Reyneri¹, T. Bertuzzi³, M. Blandino¹

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari - DISAFA, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini, 2 10095 Grugliasco (TO).

²Dipartimento di Scienze delle Produzioni Vegetali Sostenibili - DIPROVES, Università Cattolica del Sacro Cuore, via Emilia Parmense 84, 29122 Piacenza (PC).

³Dipartimento di Scienze animali, della nutrizione e degli alimenti - DIANA, Università Cattolica del Sacro Cuore, via Emilia Parmense 84, 29122 Piacenza (PC).

*E-mail: stefano.marucia@unito.it

Abstract

The demand to reduce the use of chemical pesticides in agriculture is becoming increasingly topical. The aim of this research was to evaluate the effect of some bio-fungicides on the control of leaf and ear diseases, and on the quality characteristics of the grain produced. In the experiment, the following 5 bio-fungicides were compared with an untreated control (NT) and a treatment with a reference synthetic fungicide (prothioconazole):

- natural substances, mixture of copper and sulphur;
- competing micro-organisms, *Phytium oligandrum* (strain M1, Polyversum®, Gowan) and *Bacillus subtilis* (strain QST713, Serenade Max®, Bayer);
- elicitors, chitosan hydrochloride (Chitosan®, Agrilete) and potassium hydrogen carbonate (Mallen®, Certis).

In 2022, with low disease pressure due to reduced rainfall, bio-fungicides showed good ability to control *Septoria* complex and Fusarium Head Blight (-70% and -45% compared to NT). DON was reduced by an average of 51%, with levels below legal limits. In 2023, with high spring rainfall, the effect of the bio-fungicides on foliar disease control is significant, but did not allow a reduction in DON.

Riassunto

La richiesta di ridurre l'uso di fitofarmaci chimici in agricoltura è sempre più attuale. Lo scopo di questa attività di ricerca è stato quello di valutare l'impatto di alcuni bio-fungicidi sul controllo delle malattie della foglia e della spiga, e sulle caratteristiche qualitative della granella prodotta. Nell'esperimento sono stati messi a confronto rispetto a un testimone non trattato (NT) e un trattamento con un fungicida di sintesi (protioconazolo) i seguenti 5 bio-fungicidi:

- sostanze naturali, miscela di rame e zolfo;
- microrganismi competitori, *Phytium oligandrum* (ceppo M₁, Polyversum®, Gowan) e *Bacillus subtilis* (ceppo QST713, Serenade Max®, Bayer);
- elicitori, chitosano cloridrato (Chitosano®, Agrilete) e KHCO₃ (Mallen®, Certis).

Nel 2022, con una bassa pressione delle malattie per le ridotte piogge, i bio-fungicidi hanno mostrato una buona capacità di contenimento del complesso della septoria e della fusariosi (-70% e -45% rispetto a NT). Il DON è stato ridotto in media del 51%, con valori al di sotto dei limiti di legge. Nel 2023, con elevate piogge primaverili, l'effetto dei bio-fungicidi sul contenimento delle malattie fogliari è significativo, tuttavia, non hanno permesso una riduzione del contenuto in DON.

Introduzione

Fra le diverse patologie che possono colpire il frumento, la fusariosi della spiga, causata da funghi del genere *Fusarium*, è una delle più dannose, a causa della mancanza di cultivar sufficientemente resistenti (Ma et al., 2020). Essa provoca una ridotta produzione e qualità della granella, a causa della raccolta di granelle striminzite e con bassi pesi ettolitrici, ma soprattutto determina un rischio sanitario per l'accumulo nella granella di micotossine, ed in particolare del deossinivalenolo (DON), che è il contaminante più comunemente ritrovato nei cereali vernini (Del Ponte et al., 2012). Attualmente, tra le strategie in grado di garantire una minimizzazione dei livelli di contaminazione, l'interramento dei residui colturali e la coltivazione di varietà meno sensibili all'infezione dei funghi produttori rivestono un ruolo centrale nei sistemi colturali cerealicoli (Blandino et al., 2012). Oltre all'adozione di pratiche preventive, l'applicazione di fungicidi di sintesi in fioritura, rappresenta un ulteriore fattore in grado di limitare il contenuto in DON e limitare i danni produttivi causati dalla fusariosi della spiga (Scarpino et al., 2015). Inoltre, risulta sempre più attuale la necessità di verificare l'eventuale presenza nei cereali delle micotossine emergenti da *Alternaria*, in particolare l'acido tenuazonico (TEA) e la tentossina (TEN), le quali sono state ritrovate con frequenza su alcune colture orticole industriali, ma poco è al momento conosciuto relativamente ai loro livelli di contaminazione nei cereali.

Nonostante la problematica del controllo delle micotossine rimanga una sfida per la filiera cerealicola, soprattutto nelle annate con andamenti meteorologici favorevoli allo sviluppo delle patologie responsabili della contaminazione, il mercato (industria di trasformazione e consumatori) e la politica (programma *Farm to Fork* nell'ambito del Green Deal Europeo) stanno fortemente orientando i modelli agro-alimentari a una riduzione dell'impiego di sostanze chimiche per il controllo delle avversità biotiche. La richiesta in atto di ridurre l'impiego di agrofarmaci di sintesi anche nella coltivazione dei cereali, ha portato negli ultimi anni ad una diffusione di prodotti commerciali o pre-commerciali alternativi a quelli di sintesi, utilizzabili anche in agricoltura biologica, e definiti bio-fungicidi. Sebbene molte sperimentazioni siano state condotte *in vitro* o in prove in serra, per saggiare l'efficacia di questi formulati nel controllare i funghi patogeni, con risultati promettenti, mancano informazioni relative alla loro efficacia in campo.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare, in 2 campagne agrarie, l'efficacia dell'applicazione in campo su frumento di diversi bio-fungicidi, sostanze naturali, microrganismi competitori o elicitori, nei confronti del complesso della septoriosi, della fusariosi della spiga e della contaminazione da micotossine, sia normate, sia emergenti.

Materiali e metodi

La prova si è svolta in pieno campo a Carmagnola (TO), nelle annate agrarie 2021-22 e 2022-23. In ogni campagna agraria è avvenuto il confronto dei seguenti 5 trattamenti bio-fungicidi con un testimone non trattato (NT) e l'applicazione di un fungicida di sintesi di riferimento (protioconazolo):

-1 sostanza naturale, solfato tribasico di rame (King[®], Chimimberg) e zolfo (Tiopron[®], Chimimberg);

-2 microrganismi competitori, *Phytium oligandrum* (Polyversum[®], Gowan) e *Bacillus subtilis* (ceppo QST713, Serenade Max[®], Bayer);

-2 prodotti elicitori, chitosano cloridrato (Chitosano[®], Agrilete) e bicarbonato di potassio (K) (Mallen[®], Certis).

Tutti i prodotti sono stati applicati all'inizio della fioritura (stadio 61 della scala BBCH), con un unico intervento per tutte le soluzioni a confronto al fine di valutarne l'efficacia nelle stesse condizioni di impiego. La sperimentazione è stata condotta sulla varietà di frumento tenero

Altamira, mediamente sensibile alle patologie della foglia e della spiga, con precessione mais da granella e incorporamento dei residui colturali nel suolo con l'aratura. La prova è stata condotta in parcelle di 12 m² adottando uno schema sperimentale a blocchi randomizzati, con 4 repliche per trattamento. Allo stadio di maturazione cerosa è stato effettuato il rilievo visivo della severità del complesso della septoriosi e fusariosi della spiga, mentre alla maturazione commerciale è avvenuta la raccolta dell'intera parcella con mietitrebbia parcellare, per la determinazione sul prodotto raccolto della produzione in granella e del peso ettolitrico (Blandino et al., 2012).

Per ogni parcella è stato conservato un campione di granella dal peso di 3 kg, il quale è stato macinato integralmente; successivamente è avvenuta la quantificazione, con metodica LC/MS-MS, di deossinivalenolo (DON) prodotto da *Fusarium* e delle micotossine da *Alternaria*, acido tenuazonico (TEA) e tentossina (TEN) (Scarpino et al., 2015).

Risultati e discussione

In entrambe le annate non si sono osservati effetti significativi fra i trattamenti di protezione delle malattie sulla produzione di granella e di peso ettolitrico (Tab. 1). Nel 2022 l'assenza di effetti produttivi è collegata a una bassa incidenza delle patologie fogliari e della spiga, per un andamento meteorologico poco piovoso durante tutto il ciclo colturale. Nel 2023, sebbene le differenze non siano significative, la produzione è aumentata rispetto al testimone del 11% con l'applicazione del fungicida di sintesi, mentre l'aumento medio con l'impiego delle soluzioni bio-fungicide a confronto è stato del 2.2%.

In entrambi gli anni, la miscela di rame e zolfo permette un buon controllo del complesso della septoriosi, con una riduzione media dell'82% rispetto al testimone NT. La tesi trattata con *Phytium oligandrum* presenta tra i bio-fungicidi il superiore effetto di contenimento della fusariosi della spiga (-75% rispetto a NT), sebbene il protioconazolo, fungicida di sintesi, determini un controllo migliore (-91% rispetto a NT), sebbene mai significativamente differente.

Tabella 4. Effetto del trattamento sui parametri produttivi, la severità delle patologie e il contenuto in micotossine da *Alternaria* (acido tenuazonico, TEA e tentossina, TEN).

Per ciascun anno, valori seguiti da lettere differenti indicano differenze statisticamente significative tra i trattamenti. Il valore di significatività (*p-value*) è riportato in tabella.

Anno	Trattamento	Produzione granella (t/ha)	Peso ettolitrico (kg/hl)	Severità septoria (%)	Severità fusariosi (%)	TEA (µg/kg)	TEN (µg/kg)
2022	Testimone NT	8.3 a	80.8 a	2.7 a	6.9 ab	120 a	378 a
	Protioconazolo	9.3 a	80.8 a	0.4 a	0.2 d	61 b	187 b
	Rame + zolfo	8.0 a	81.0 a	0.6 a	4.5 abc	42 b	154 b
	<i>Bacillus subtilis</i>	8.6 a	80.1 a	0.9 a	6.9 a	43 b	143 b
	<i>Phytium oligandrum</i>	8.9 a	80.3 a	1.1 a	1.9 cd	42 b	151 b
	Chitosano cloridrato	8.3 a	80.5 a	1.0 a	5.0 ab	59 b	182 b
	Bicarbonato di potassio	9.1 a	79.8 a	0.9 a	4.4 bc	62 b	163 b
	<i>p-value</i>	0.085	0.067	0.173	<0.001	<0.001	0.007
2023	Testimone NT	7.4 a	75.5 a	26. a	8.9 a	34 abc	9 b
	Protioconazolo	8.2 a	76.3 a	8.9 a	1.3 c	19 c	4 c
	Rame + zolfo	7.6 a	77.2 a	3.2 a	5.0 b	48 a	16 a
	<i>Bacillus subtilis</i>	8.0 a	76.6 a	19.4 a	5.6 b	39 ab	11 ab
	<i>Phytium oligandrum</i>	7.5 a	75.6 a	20.9 a	2.1 c	31 abc	12 ab
	Chitosano cloridrato	7.1 a	74.9 a	19.1 a	5.3 b	23 bc	12 ab
	Bicarbonato di potassio	7.6 a	76.0 a	10.0 a	5.9 b	21 bc	11 ab
	<i>p-value</i>	0.451	0.281	0.075	<0.001	0.001	<0.001

La pressione delle malattie fogliari e della spiga è stata superiore nel 2023, caratterizzato da elevate piogge nel corso della fioritura del frumento. In questa campagna agraria, la granella presenta mediamente valori di contaminazione da DON sempre superiori al limite di legge (Reg. UE 1122/2024, 1000 µg/kg).

In nessuna delle annate considerate, caratterizzate da andamenti metereologici e livelli di contaminazione differenti, l'impiego delle soluzioni bio-fungicide a confronto è risultato in grado di ridurre significativamente i livelli di contaminazione da DON rispetto al testimone NT (Fig. 1). Al contrario l'impiego del fungicida di sintesi ha ridotto significativamente il contenuto di DON in entrambe le annate (75% nel 2022 e 52% nel 2023). Nel 2022, con contaminazioni ridotte di DON, i bio-fungicidi hanno ridotto mediamente la micotossina del 51% rispetto al testimone NT, con poche differenze tra le soluzioni a confronto. Al contrario nel 2023, l'impiego di rame e zolfo ha determinato un aumento del contenuto in DON, mentre le altre soluzioni a confronto hanno ridotto la contaminazione rispetto al testimone in media del 21%.

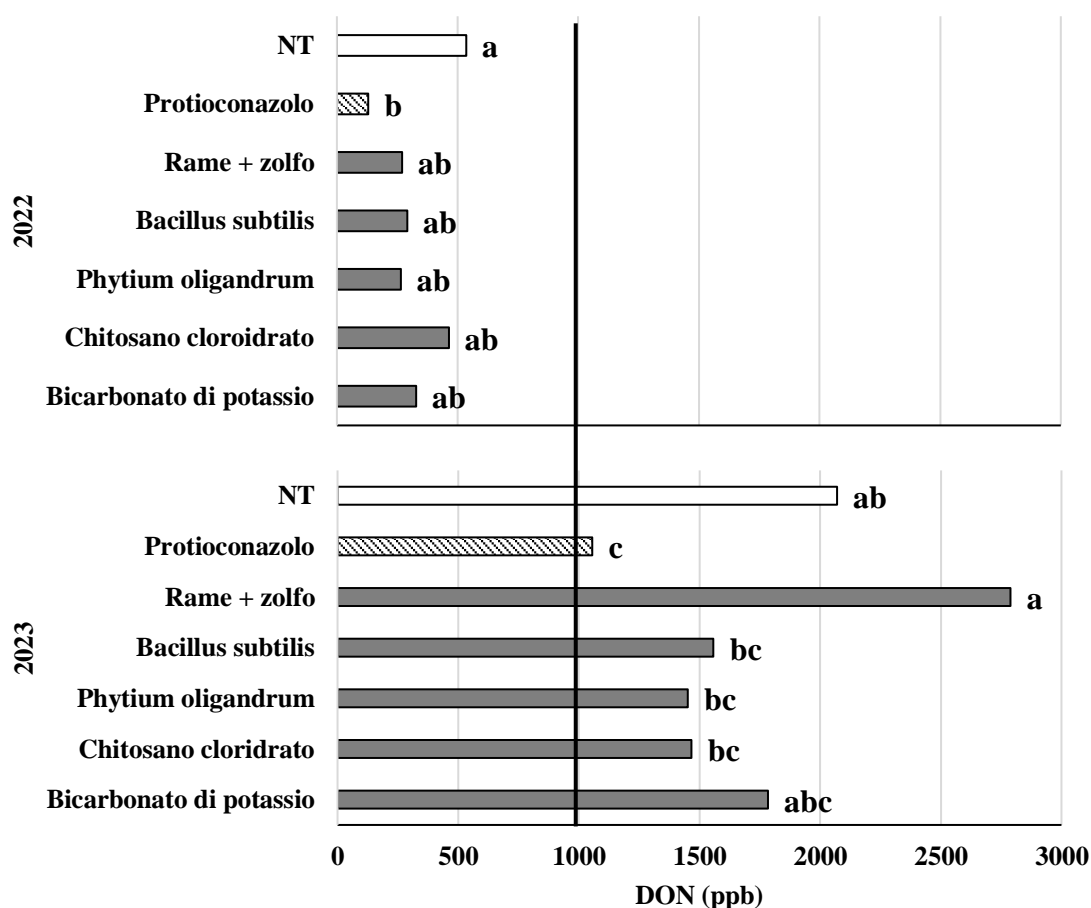


Figura 1. Effetto dell'applicazione di bio-fungicidi alla fioritura del frumento sulla contaminazione da deossinivalenolo (DON) nella granella. La linea verticale indica il limite di legge (Reg. UE 1122/2024). Valori seguiti da lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per p -value < 0.05.

Le micotossine da *Alternaria* (TEA e TEN) sono risultate maggiori nel 2022, con basse pressioni della fusariosi della spiga, evidenziando una concentrazione nella granella alla raccolta superiore di 3.5 e 42 volte superiore a quella osservata nel 2023, rispettivamente per acido tenuazonico e tentossina. Nel 2022 tutti i trattamenti bio-fungicidi hanno permesso una riduzione significativa delle tossine da *Alternaria* rispetto al testimone e paragonabile a quella

del fungicida di sintesi e in media pari al 55%. Al contrario nel 2023, solo il trattamento con protioconazolo ha determinato una riduzione significativa della contaminazione di acido tenuazonico (-44%) e tentossina (-55%), mentre le altre soluzioni bio-fungicide a confronto hanno diminuito il contenuto solo di acido tenuazonico (-19%) in maniera non significativa. Nel 2023, la miscela rame e zolfo, ha stimolato l'accumulo di entrambi questi metaboliti rispetto al testimone, risultando nel livello di contaminazione più elevato misurato.

La sperimentazione, condotta per effettuare un primo *screening* di soluzioni bio-fungicide, mettendole a confronto secondo un protocollo di applicazione comune, ha messo in evidenza come le strategie attualmente disponibili in commercio per la difesa sostenibile del frumento possono determinare un moderato effetto di controllo delle patologie in campo, in particolare in annate con basse pressioni delle malattie. Tuttavia, la loro efficacia non è al momento paragonabile a quella determinata da un singolo intervento con un fungicida di sintesi. In particolare, nessuna delle soluzioni testate ha dimostrato un'efficacia nel garantire il controllo della contaminazione da DON nella granella. Al contrario, l'efficacia di queste soluzioni bio-fungicide sembrerebbe essere superiore con le tossine di *Alternaria*, maggiormente presenti in annate con andamenti meteorologici che non favoriscono lo sviluppo dei patogeni più importanti del frumento. I dati raccolti sottolineano la necessità di proseguire la ricerca di nuove soluzioni e modelli di difesa, da un lato introducendo nuove sostanze e soprattutto formulazioni e modalità di applicazione più efficaci, studiando con attenzione l'efficacia del momento di applicazione in funzione della fisiologia e fenologia del frumento e delle condizioni meteorologiche, ma soprattutto introducendo queste innovazioni in sistemi colturali integrati, disegnati per ridurre l'inoculo potenziale di patogeni e assicurare una maggior efficacia dei trattamenti proposti.

Ringraziamenti

Sperimentazione condotta nell'ambito del progetto PRIN2022 "Effective and sustainable BIO-fungicides to REduce the use of Synthetic PEsticides in wheat supply chain - BIO-RESYPE"

Bibliografia

- Blandino M., Haidukowski M., Pascale M., Plizzari L., Scudellari D., Reyneri A., 2012. Integrated strategies for the control of Fusarium head blight and deoxynivalenol contamination in winter wheat. *Field crop research* 133: 139-149. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.04.004>
- Del Ponte E.M., Garda-Bufferon J., Badiale-Furlong E., 2012. Deoxynivalenol and nivalenol in commercial wheat grain related to Fusarium head blight epidemics in southern Brazil. *Food Chem.* 132: 1087-1091. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.108>
- Ma Z., Xie Q., Li G., Jia H., Zhou J., Kong Z., Li N., Yuan Y., 2020. Germplasms, genetics and genomics for better control of disastrous wheat Fusarium head blight. *Theor. Appl. Genet.* 133: 1541-1568. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03525-8>
- Scarpino V., Reyneri A., Sulyok M., Krska R., 2015. Fusarium head blight and 20 *Fusarium* and *Alternaria* mycotoxins in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *World Mycotoxin Journal* 8(4): 499-510. <https://doi.org/10.3920/WMJ2014.1814>

La coltivazione del frumento ibrido per l'ottimizzazione dell'utilizzo dell'azoto ed il miglioramento della produttività e sostenibilità dei sistemi cerealicoli

M. Scapino, R. Meloni, M. Blandino*

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO).

*E-mail: mattia.scapino@unito.it

Abstract

Hybrid genotypes, due to the phenomenon of heterosis, have a higher vegetative vigour, which, along with the higher cost of the seed, requires a suitable agronomic technique. The aim of this study is to compare a hybrid genotype with a conventional one and define the optimal N fertilisation strategy to maximise its productive potential, while aiming to reduce agronomic inputs and enhance the environmental sustainability. The study was carried out in northern Italy during the 2022-23 growing season, using a factorial combination of 2 common wheat genotypes, hybrid and conventional, and 20 different N fertilisation treatments. Observations included grain yield and production components, protein content and NUE. The hybrid showed a higher yield (+5%), due to a higher ear dimension and grain weight, particularly at lower N levels. The conventional genotype showed a higher protein content (+0.8% points). Wheat hybrids represent an opportunity to face the challenges of modern agriculture, but the development of specific agronomic techniques and the selection of the most promising genetics, in terms of both agronomic performance and quality traits, are essential.

Riassunto

I genotipi ibridi, grazie al fenomeno dell'eterosi, presentano un più elevato vigore vegetativo che, congiuntamente al maggiore costo della semente, richiede un adeguamento della tecnica colturale. L'obiettivo del lavoro è di mettere a confronto un genotipo ibrido con uno convenzionale e determinare la corretta strategia di concimazione azotata (N) per massimizzarne le potenzialità produttive in un'ottica di riduzione degli input agronomici e sostenibilità ambientale. Lo studio è stato condotto in Nord Italia durante la stagione colturale 2022-23 considerando una combinazione fattoriale di: 2 genotipi di frumento tenero, ibrido e convenzionale, 20 differenti combinazioni di concimazione N. Le osservazioni hanno riguardato la resa in granella e le componenti produttive, il contenuto proteico e l'efficienza dell'uso dell'azoto (NUE). L'ibrido ha mostrato rese superiori (+5%) grazie ad una maggiore dimensione delle spighe e delle cariossidi, specialmente con livelli di N più bassi. Il genotipo convenzionale ha mostrato un più alto contenuto proteico (+0.8 punti %). Gli ibridi di frumento rappresentano un'opportunità concreta per affrontare le sfide dell'agricoltura moderna, risulta però fondamentale la definizione di una specifica agrotecnica e la selezione delle genetiche più promettenti sia in termini di caratteristiche agronomiche che qualitative.

Introduzione

I genotipi ibridi, a differenza delle cultivar convenzionali costituite da linee pure autoimpollinanti, derivano dall'incrocio tra parentali con caratteri genici differenti che porta alla manifestazione del fenomeno dell'eterosi ed un conseguente elevato vigore vegetativo (Longin et al., 2012). Nel frumento, tale vigore si manifesta attraverso un maggiore sviluppo dell'apparto radicale e della biomassa epigea, portando ad un potenziale aumento della traslocazione dei nutrienti e della produttività (Gupta et al., 2019). D'altra parte, la tecnologia di produzione degli ibridi comporta un superiore costo della semente, con la conseguente necessità di ridurre la densità di semina e

rendendo necessario un adeguamento della tecnica colturale. La presente attività di ricerca si pone l'obiettivo di mettere a confronto un genotipo ibrido di frumento tenero con una varietà convenzionale e determinare la corretta strategia di concimazione azotata (N) al fine di massimizzarne le potenzialità produttive in un'ottica di riduzione degli input agronomici e di maggiore sostenibilità, ponendo particolare attenzione all'impronta carbonica del sistema cerealicolo.

Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto in Nord Italia durante la stagione colturale 2022-23. I trattamenti sono stati una combinazione fattoriale di 2 genotipi di frumento tenero (ibrido e convenzionale) e 20 differenti combinazioni di concimazione N, suddivisa tra l'inizio dell'accestimento (BBCH 23) e l'inizio della levata (BBCH 31) secondo un disegno sperimentale a blocchi randomizzati, con 4 repliche per ogni tesi (genotipo x concimazione N).

Le osservazioni hanno riguardato la resa in granella, ottenuta mediante pesatura dell'intera parcella sperimentale (10.5 m²), le componenti della produzione (densità spighe, cariossidi per spiga e peso 1000 semi), il contenuto proteico della granella e la stima della *Nitrogen Use Efficiency* (NUE).

Risultati e discussione

La Tabella 1 mostra l'influenza del genotipo sui parametri produttivi (resa, spighe per m², cariossidi per spiga, peso 1000 semi), qualitativi (contenuto proteico della granella) e sul NUE. Il genotipo ibrido, grazie all'alto indice di accestimento, ha recuperato l'iniziale svantaggio legato alla ridotta dose di seme (-33%) rispetto al genotipo convenzionale, mostrando una densità spighe alla raccolta di poco inferiore (-6%). Congiuntamente ai migliori risultati relativi alle altre componenti della produzione analizzate, presentando sia una maggiore dimensione delle spighe che delle cariossidi (+36%), ha mostrato un vantaggio produttivo medio del +5% rispetto al genotipo convenzionale, arrivando a rese superiori anche del +10% con bassi livelli di N.

A livello qualitativo, il genotipo convenzionale ha mostrato caratteristiche migliori per quanto riguarda il contenuto proteico (+0.8 punti %). Considerando però le maggiori produzioni del genotipo ibrido, la resa in proteine per unità di superficie è risultata di poco inferiore (0.02 t*ha⁻¹). Non sono invece emerse differenze statisticamente significative per il NUE, anche se con valori medi leggermente superiori per l'ibrido, a causa delle buone produzioni ottenute dalle tesi non concimate (0 + 0), dovute alle scarse precipitazioni del periodo invernale e la conseguente maggiore fertilità residua del suolo. Anche nel caso della concimazione N, nonostante l'ampio range di valori, il NUE ha mostrato differenze statisticamente significative solo tra la tesi più concimata (99+132) e una delle più basse (33+0). Come atteso, resa produttiva e contenuto proteico hanno mostrato un trend positivo al crescere della dose di N somministrata. Per quanto riguarda invece le componenti produttive, la tesi non concimata ha fatto osservare il minor numero di spighe e cariossidi per spiga, mentre non sono emerse differenze statisticamente significative per quanto riguarda il peso dei 1000 semi.

Tabella 1. Effetto del genotipo e della concimazione azotata sulla resa in granella, la densità di spighe, il numero di cariossidi per spiga, il peso 1000 semi (PMS), il contenuto proteico della granella e la *nitrogen use efficiency* (NUE).

Fattore	Fonte di variazione	Produzione (t s.s.*ha ⁻¹)	Spighe (n.*m ⁻²)	Cariossidi (n.*spiga ⁻¹)	PMS (g)	Proteine (%)	NUE (%)
Genotipo (G)	Ibrido	8.6 a	643 b	42.0 a	46.6 a	12.2 b	10.6 a
	Convenzionale	8.2 b	679 a	39.4 b	34.3 b	13.0 a	10.2 a
	<i>p</i> -value	<0.001	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	0.596
Concimazione N (N)	0 + 0	7.3 b	580 b	36.9 b	40.5 a	10.8 l	- -
	0 + 33	7.7 ab	668 ab	38.6 ab	41.4 a	11.4 il	9.3 ab
	0 + 66	8.2 ab	621 ab	40.5 ab	40.3 a	12.1 ghi	13.5 ab
	0 + 99	8.5 a	689 ab	42.0 a	39.4 a	12.7 cdefg	11.7 ab
	0 + 132	8.7 a	705 ab	41.8 a	40.4 a	13.1 abcde	10.5 ab
	33 + 0	7.9 ab	667 ab	40.0 ab	40.7 a	11.4 hil	18.1 a
	33 + 33	8.4 a	644 ab	39.9 ab	39.5 a	11.9 ghi	16.5 ab
	33 + 66	8.7 a	681 ab	41.2 ab	39.3 a	12.3 efgh	13.4 ab
	33 + 99	8.7 a	669 ab	41.8 a	40.7 a	13.0 bcdef	10.0 ab
	33 + 132	8.8 a	670 ab	41.2 ab	39.5 a	13.4 abcd	9.1 ab
	66 + 0	8.2 ab	712 a	41.5 a	39.9 a	11.9 ghi	13.3 ab
	66 + 33	8.5 a	673 ab	41.5 a	38.7 a	12.5 defg	11.9 ab
	66 + 66	8.4 a	646 ab	41.4 ab	38.5 a	13.1 abcd	7.6 ab
	66 + 99	8.5 a	660 ab	41.6 a	38.7 a	13.5 abc	6.9 ab
	66 + 132	8.8 a	648 ab	41.6 a	39.1 a	13.6 abc	7.1 ab
	99 + 0	8.3 a	680 ab	40.3 ab	40.0 a	12.2 fghi	10.7 ab
	99 + 33	8.6 a	612 ab	40.9 ab	39.4 a	13.0 bcde	9.5 ab
	99 + 66	8.5 a	661 ab	41.7 a	39.5 a	13.4 abcd	6.8 ab
	99 + 99	8.4 a	688 ab	40.5 ab	38.1 a	13.8 ab	5.2 ab
	99 + 132	8.5 a	650 ab	39.2 ab	39.8 a	13.9 a	4.8 b
	<i>p</i> -value	<0.001	0.047	0.018	0.211	<0.001	0.009
G x N	<i>p</i> -value	0.040	0.329	0.969	0.240	0.459	0.050

Concimazione N: combinazione della dose di azoto (kg N*ha⁻¹) somministrato rispettivamente agli stadi fenologici di inizio accestimento (BBCH 23) e inizio levata (BBCH 31).

Per ciascun fattore lettere differenti indicano differenze statisticamente significative (*p*-value<0.05).

La Figura 1 mostra l'effetto della combinazione di genotipo e concimazione N sulla resa in granella. L'ibrido, a differenza del genotipo convenzionale, presenta produzioni superiori con livelli di concimazione N più bassi, massimizzando la produzione con 99 kg N/ha, apportati per 1/3 ad inizio accestimento e per i restanti 2/3 a inizio levata (33+66). Al crescere della concimazione il genotipo convenzionale incrementa le sue potenzialità produttive, mentre l'ibrido, a causa dell'elevata taglia e della conseguente propensione all'allettamento, mostra un andamento opposto.

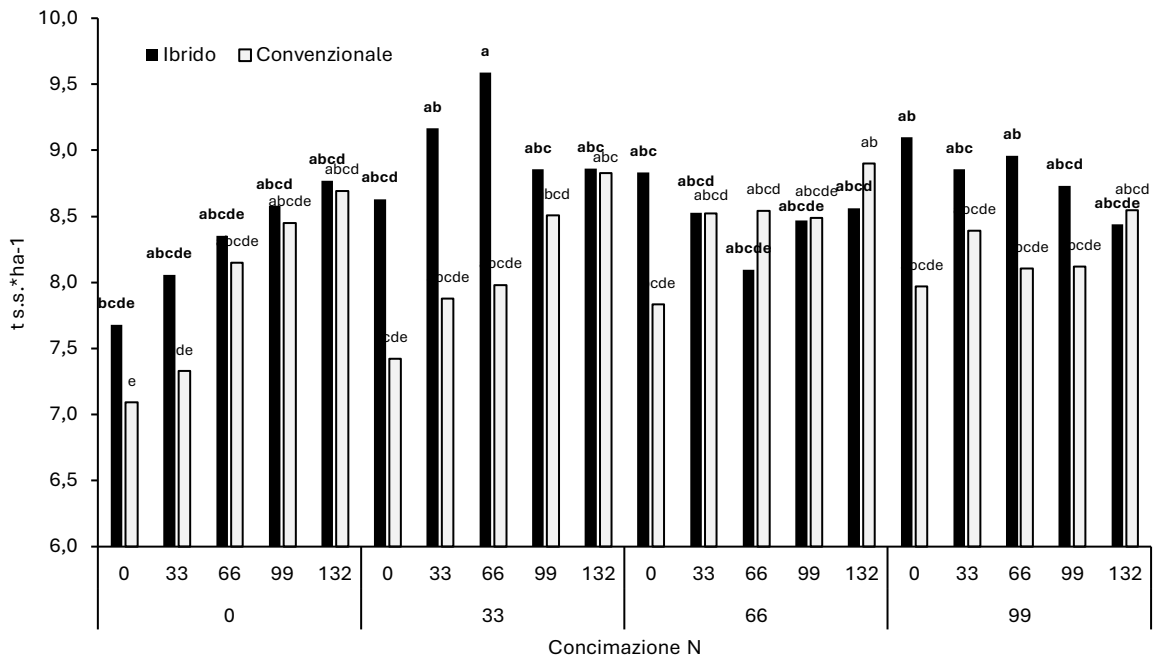


Figura 1. Effetto della combinazione del genotipo e della dose della concimazione azotata in accestimento e levata sulla produzione di granella.

Concimazione N: combinazione della dose di azoto (kg N*ha⁻¹) somministrato rispettivamente agli stadi fenologici di inizio accestimento (BBCH 23) e inizio levata (BBCH 31).

Per ciascun fattore lettere differenti indicano differenze statisticamente significative (p -value<0.05).

I dati raccolti evidenziano come i genotipi ibridi di frumento rappresentano un'opportunità concreta per affrontare le sfide dell'agricoltura moderna (e.g. i cambiamenti climatici) grazie ad una migliore stabilità produttiva ed efficienza d'uso degli input agronomici, risultando potenzialmente in grado di contribuire all'incremento della sostenibilità ambientale dei sistemi cerealicoli. Risulta però fondamentale la definizione di una specifica agrotecnica e la selezione delle genetiche più promettenti sia in termini di caratteristiche agronomiche (minore taglia) che qualitative (contenuto proteico).

Bibliografia

- Gupta P.K., Balyan H.S., Gahlaut V., Saripalli G., Pal B., Basnet B.R., Joshi A.K. 2019. Hybrid wheat: past, present and future. *Theoretical and Applied Genetics*, 132: 2463–2483. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03397-y>
- Longin C.F.H., Mühleisen J., Maurer H.P., Zhang H., Gowda M., Reif J.C. 2012. Hybrid breeding in autogamous cereals. *Theoretical and Applied Genetics*, 125: 1087-1096. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1967-7>

Il contributo della certificazione nella filiera del frumento duro

A. Mondillo*, B. De Angelis, N. Trotta, E. L. Frusciante

Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Difesa e Certificazione, S.S. 18 n. 242, 84091 Battipaglia (SA).

*E-mail: antonio.mondillo@crea.gov.it

Abstract

The most certified seed material in Italy is durum wheat (*Triticum durum* Desf.). The main derivative of durum wheat is the semolina with which pasta is produced, the basis of the Mediterranean diet. Italy is the world's leading producer of pasta. The importance of this food product has materialized in food supply chains thanks to law no. 289 of 27 December 2002 which established the supply chain contracts, providing for the implementation of production regulations with rigid criteria and in full respect of the environment. The basis of everything is the use of pure, healthy and traceable seed material. Quality that can be achieved if subjected to the entire certification process by the Crea Defense and Certification Research Center as a body delegated by Masaf (Ministry of Agriculture, Food Sovereignty and Forestry). The certified and health-controlled durum wheat "seed" allows the use of a perfectly legal and traceable product, allows for considerable product savings at the time of sowing, produces grain that provides healthier derivatives, and in many cases reduces, the presence of mycotoxins in foodstuffs and, finally, it supports eco-sustainable agriculture thanks to the use of varieties that better adapt to climate, soil and food changes.

Riassunto

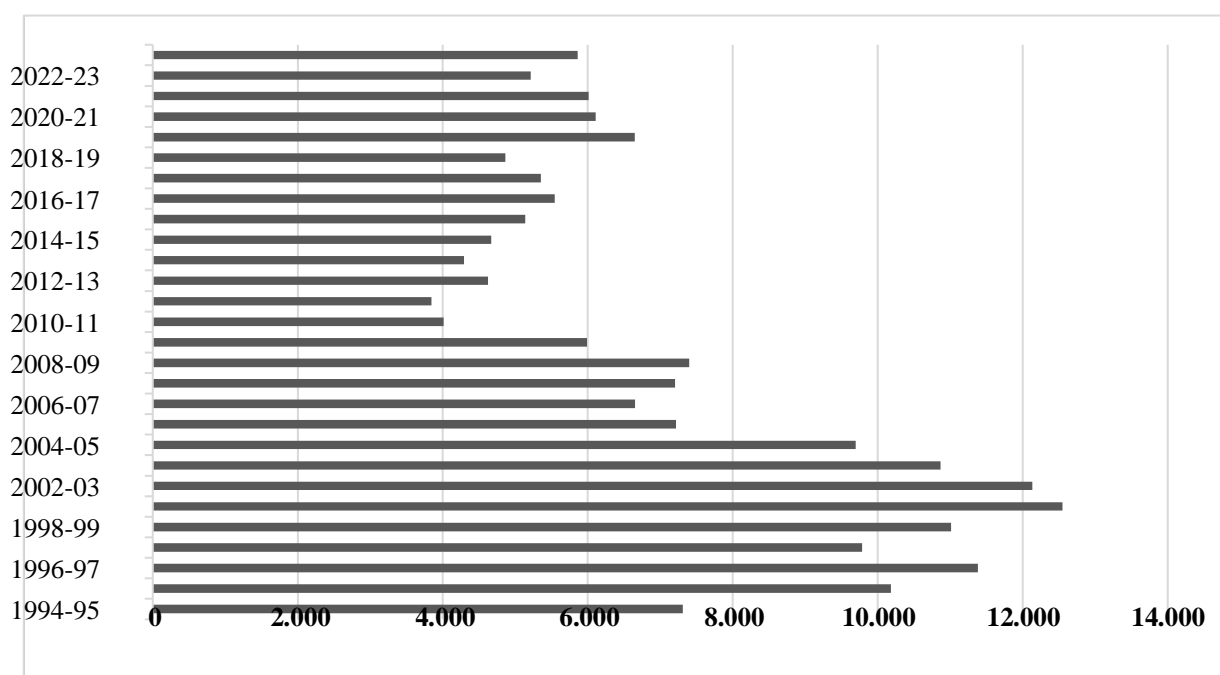
Il materiale sementiero maggiormente certificato in Italia è quello del frumento duro (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.) van Slageren). Il principale derivato del frumento duro è la semola con cui si produce la pasta, alimento base della dieta mediterranea. L'Italia è il primo produttore al mondo di pasta. L'importanza di questo prodotto alimentare si è concretizzata in filiere alimentari grazie alla legge n. 289 del 27 dicembre 2002 che ha istituito i contratti di filiera, prevedendo l'attuazione di disciplinari di produzione con criteri rigidi e nel pieno rispetto dell'ambiente. La base di tutto è l'impiego di materiale sementiero puro, sano e tracciabile. Qualità che può essere raggiunta se sottoposto all'intero processo di certificazione ad opera del Centro di ricerca Difesa e Certificazione del Crea quale organismo delegato dal Masaf (Ministero dell'agricoltura, della sovranità alimentare e delle foreste). Il "seme" di frumento duro, certificato e controllato sanitariamente, permette l'uso di un prodotto perfettamente legale e tracciabile, consente un considerevole risparmio di prodotto all'atto della semina, produce una granella che fornisce derivati più sani, fa diminuire, in molti casi, la presenza di micotossine nelle derrate alimentari e, infine sostiene un'agricoltura ecosostenibile grazie all'impiego di varietà che meglio si adattano ai cambiamenti climatici, pedologici e alimentari.

Introduzione

La produzione mondiale di pasta sfiora i 17 milioni di tonnellate e l'Italia è prima al mondo tra i Paesi produttori con 3,6 milioni di tonnellate nel 2022 (+3,2% del 2021) e un fatturato che sfiora i 7 miliardi di euro (Confagricoltura). Gli italiani sono i principali consumatori al mondo di questo alimento con 23 kg pro-capite all'anno e un totale di 1,3 milioni di tonnellate consumate nel 2022. Il 25% della pasta consumata nel mondo e il 75% di quella consumata in Europa sono prodotti in Italia (U.I.F. e Ipo). La pasta è un'ottima fonte energetica e una discreta

risorsa di proteine, vitamine e sali minerali: potassio, ferro, calcio, fosforo e zinco (www.alimentinutrizione.it/tabelle-nutrizionali/000800). Nell'annata 2022/23 l'ammontare di frumento duro certificato è pari a 174.945,49 tonnellate (www.crea.gov.it). La certificazione garantisce che la qualità non è solo frutto di un comportamento occasionale ma il risultato di un piano operativo nel quale risorse, mezzi e controlli sono adeguati a generare una qualità costante.

Tabella 1. Andamento in numero dei campioni analizzati di tutte le specie dal 1994/95 al 2023/24 - Laboratorio Analisi Sementi, Sede CREA-DC di Battipaglia (SA)



Materiali e metodi

Il Decreto Legislativo 2 febbraio 2021, n. 20, Norme per la produzione a scopo di commercializzazione e la commercializzazione di prodotti sementieri in attuazione dell'art.11 della Legge 04/10/2019, n.117, per l'adeguamento della normativa nazionale alle disposizioni del Regolamento (UE) 2016/2021 e del Regolamento (UE) 2017/625, stabilisce i requisiti che le sementi devono possedere per la produzione a scopo di commercializzazione (Gazzetta Ufficiale 16/L 2021). Al fine di attuare il controllo e la certificazione delle sementi il Centro di ricerca preposto all'uopo deve essere dotato di risorse strumentali, umane e finanziarie adeguate.

La Sede di Battipaglia del Crea DC per le relative attività di certificazione è dotata, pertanto, di due laboratori scientifici (fitopatologico e analisi sementi), di due aziende agricole sperimentali, di tre depositi agricoli, due celle per la conservazione dei semi a temperatura e umidità controllata, deposito e sala stampa cartellini ufficiali ed infine uffici per la validazione degli atti amministrativi inerenti il controllo e la certificazione delle sementi. È dotata di personale tecnico strutturato (23 unità) e non (10 unità) riconosciuto ufficialmente dal Masaf, ai sensi dell'art.19, comma1 D.lgs. n.20/2021, in qualità di *personale tecnico autorizzato al controllo ufficiale dei prodotti sementieri*. Ciò consente l'attuazione dell'intero processo di certificazione di cereali, quali: frumento duro, frumento tenero, orzo, avena spp., triticale, segale e sorgo; di foraggiere, quali: erba medica, trifogli spp, veccia spp., favino spp., sulla, lupinella, pisello da foraggio e proteico; di altre specie agrarie quali, barbabietola, patata e piante oleaginose e da

fibra ed alcune fasi della certificazione per le specie ortive secondo le direttive della legge sementiera.

Il processo di certificazione si svolge in quattro fasi: *Controllo in campo*, *Controllo alla selezione meccanica*, *Analisi di laboratorio* e *Controllo a posteriore*.

Per il frumento duro durante le ispezioni in campo viene accertata l'identità e la purezza varietale con parametri in relazione alle categorie di seme da ottenere (999,5 ‰ per seme di Pre-base e Base, 999‰ per seme di I^a riproduzione, 997‰ per seme di II^a riproduzione).



Figura 1. Controllo in campo

La fase successiva prevede il controllo alla selezione meccanica delle sementi e in itinere il campionamento delle stesse ai fini dei successivi accertamenti da lotti omogenei. Il campione medio finale di prelevamento, ottenuti a seguito di una metodologia standardizzata e normata, del peso di 3 kg sarà suddiviso in tre aliquote di 1 kg ciascuna e inviate alla sede di competenza, dove dopo accurata registrazione, vengono destinati al laboratorio di analisi sementi, alle celle di conservazione e al centro agricolo per la semina in post-controllo.



Figura 2. Registrazione campioni

Le analisi di laboratorio effettuate secondo i *Metodi ufficiali di analisi delle sementi* pubblicati sul D.M. del 22/12/1992 (Gazzetta Ufficiale 1/1993) riguardano: la *purezza*, la *ricerca semi estranei* e la *germinabilità*.

La *purezza* ha lo scopo di determinare la quantità di seme puro, di semi estranei e di materiali inerti che costituiscono il campione, per dedurre la composizione del lotto dal quale il campione proviene, nel caso del frumento duro i valori minimi sono: 99% per le categorie di Pre-base e Base, 98% per quelle certificate di prima e seconda riproduzione.

La *ricerca semi estranei* ha lo scopo di verificare la presenza ed il numero di semi estranei nonché l'assenza di altre specie rispetto a quella d'esame nei campioni di grandezza prevista dalla normativa. Per il frumento duro il valore massimo ammesso di semi estranei per le categorie di base e pre-base è pari a 4, per le categorie certificate di 1^a e 2^a riproduzione è pari

a 10, le specie estranee sono nell'Allegato IV della normativa sementiera. ; non sono ammessi nel campione di analisi semi di *Avena sterilis*, *Avena fatua* e *Lolium temulentum*.



Figura 3. Semi estranei: a. *Myagrum p.*, b. *Silybum m.*, c. *Vicia v.*, d. *Raphanus r*, e. Sclerozi di *Claviceps purpurea*

L'analisi di *germinabilità* ha lo scopo di determinare la percentuale di semi puri capaci di produrre germinelli normali che, in condizioni favorevoli di coltura, diano origine a piante integre e sane. Il valore minimo ammesso di germinelli normali per il frumento duro è pari a 85%.



Figura 4. Germinelli: a. *normali.*, b. *anormale per assenza radichetta*, c. *anormale per coleoptile perforato superiore a 1/3*

L'ultima fase della certificazione è il *controllo a posteriore*, detto comunemente post-controllo, ha lo scopo di valutare l'identità e la purezza varietale del prodotto sementiero già commercializzato. Nel caso del frumento duro le soglie da rispettare sono riportate nella in Figura 5.

N° PIANTE ESAMINATE	Soglie di rifiuto. Non conforme se il numero di fuoritipo è uguale o superiore a:		
	Prebase e Base	1° Rip.	2° Rip.
	99,90%	99,70%	99,00%
1000	4	7	16
1200	4	8	19
1400	5	9	21
1600	5	10	24
1800	5	10	26
2000	6	11	29
2200	6	12	31
2400	6	13	33
2600	6	14	36
2800	7	14	38
3000	7	15	40




Figura 5. Soglie di rifiuto per purezza varietale del frumento duro – campo di post-controllo

Risultati e discussione

La filiera del frumento duro riveste un ruolo cruciale nell'economia nazionale, sia per i consumi interni che per il soddisfacimento del mercato estero. All'interno delle filiere è previsto anche l'eventuale impiego di seme certificato per assicurare i migliori standard qualitativi, in quanto materiale sementiero puro, sano e tracciabile. Il prodotto sementiero di varietà ufficiali di frumento duro, controllato e certificato, consente: l'impiego di risorse vegetali che meglio si adattano a determinati territori e climi, un considerevole risparmio di materia prima all'atto della semina, un razionale utilizzo di mezzi tecnici (concimi, antiparassitari, fungicidi e diserbanti), l'impiego di lavorazioni meccaniche meno invasive e l'uso di materiale sano soprattutto esente da malattie trasmissibili per seme, quali carbone, fusariosi, carie. Ciò consente la produzione di una semola sana, priva di micotossine, di qualità eccellenti al fine dell'ottenimento di un bene alimentare quale la pasta, simbolo identificativo del nostro Paese. Pertanto, la il controllo e la certificazione delle sementi costituisce un valido supporto ai contratti di filiera ed è un riferimento per gli operatori del settore al fine di garantire la tracciabilità delle produzioni.

Ringraziamenti

Maurizio Giannatiempo, Michele Mele

Bibliografia

GU *Gazzetta Ufficiale*. Metodi ufficiali di analisi delle sementi 1/ 1993.

GU *Gazzetta Ufficiale*. Norme per la produzione a scopo di commercializzazione e la commercializzazione di prodotti sementieri, 16/L 2021.

ISTA. 2023. International Seed Testing Association Handbook.

Mondillo A. 2004. Frumento duro, dalle origini delle civiltà alle varietà moderne. *Ambiente Risorse e Salute* n. 99.

www.crea.gov.it

La certificazione delle sementi dei cereali e il suo ruolo nelle filiere rigenerative

B. De Angelis, A. Mondillo, N. Trotta, E. L. Frusciante*

Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Difesa e Certificazione, S.S. 18 n. 242, 84091 Battipaglia (SA).

*E-mail: berardino.deangelis@crea.gov.it

Abstract

In the world and in Italy, the cultivation of cereals occupies a large part of the surface area intended for arable land, as they are products (rice, corn, etc.) or constituents of derivatives (bread, pasta, sweets, etc.) which are fundamental for human nutrition. The seed certification required by European legislation makes it possible to enhance the production of arable land and cereals. Seed certification occurs through a technical-administrative process divided into various phases of control of the quality requirements established by current legislation. In fact, the use of certified seed must guarantee the user the possession of sufficient specific and varietal purity, germinability and health status. A supply chain based on these assumptions allows compliance with the required quality standards, as well as the rationalization of the use of synthetic products, water resources and the containment of invasive mechanical processes.

Riassunto

Nel mondo e in Italia la coltivazione dei cereali occupa buona parte della superficie destinata a seminativi, in quanto essi risultano essere prodotti (riso, mais, ecc.) o costituenti di derivati (pane, pasta, dolci, ecc.) fondamentali per l'alimentazione umana. La certificazione delle sementi prevista dalla normativa europea permette di valorizzare le produzioni dei seminativi e dei cereali in particolare. La certificazione delle sementi avviene attraverso un processo tecnico-amministrativo suddiviso in varie fasi di controllo dei requisiti qualitativi previsti dalla normativa vigente. L'impiego del seme certificato deve garantire, infatti, all'utilizzatore il possesso di sufficiente purezza specifica e varietale, germinabilità e stato sanitario. Una filiera basata su questi presupposti consente il rispetto degli standard qualitativi richiesti, nonché la razionalizzazione dell'utilizzo dei prodotti di sintesi, delle risorse idriche e il contenimento di lavorazioni meccaniche invasive.

Introduzione

I cereali rappresentano le specie vegetali più diffuse al mondo con circa 3 miliardi di tonnellate, coltivate su 731 milioni di ettari, FAOSTAT (2022). I prodotti derivati dalla loro trasformazione costituiscono, da sempre, la base dell'alimentazione umana, nonché il fondamento della dieta mediterranea (<https://www.salute.gov.it>). Nel mondo e in Italia, in particolare, i campi destinati alla coltivazione dei cereali occupano buona parte dei seminativi con un notevole impatto sulla filiera dei cereali a livello economico. La Politica Agricola Comunitaria 2024 ha previsto premi per alcune specie di cereali e il Decreto Ministeriale del 27 settembre 2023 ha fissato il quantitativo minimo di sementi certificate per ettaro per frumento duro e riso; lo Stato italiano prevede, inoltre, ulteriori aiuti a chi sottoscrive contratti di filiera ("Decreto ministeriale n. 4529 del 14 novembre 2017"), valido strumento di valorizzazione delle produzioni e forma di tutela per le figure professionali coinvolte. Queste misure, insieme all'utilizzo di seme certificato e a specifiche pratiche agrarie eco-sostenibili, mirano ad incentivare e consolidare le filiere rigenerative.

Materiali e metodi

Il seme certificato assicura la tracciabilità del prodotto finale consentendo di operare nella perfetta legalità, favorendo il rispetto delle norme di eco-condizionalità.

La certificazione avviene attraverso un processo tecnico-amministrativo suddiviso in varie fasi. La prima fase è rappresentata dalle *ispezioni in campo* presso le aziende moltiplicatrici per appurare l'origine e la categoria del seme impiegato, l'ubicazione e l'estensione della superficie coltivata, i precedenti colturali, l'identità e la purezza varietale, il rispetto della distanza di isolamento, la presenza di impurità specifiche e avversità biotiche e abiotiche, nonché una valutazione della produzione finale per ettaro (Figura 1.).



Figura 1. Controllo in campo orzo con evidenza di presenza di frumento

La seconda fase, *controlli alla selezione meccanica*, prevede, principalmente il campionamento dai lotti di sementi selezionati (Figura 2.). I campioni prelevati da ciascun lotto sono destinati ai laboratori di analisi e ai centri agricoli sperimentali per i successivi controlli.



Figura 2. Controllo alla selezione meccanica, prelievo dai sacconi con sonda lunga

La terza fase, *analisi di laboratorio*, prevede tre tipi di prove obbligatorie ai fini della certificazione e della commercializzazione delle sementi che sono: purezza specifica, ricerca semi estranei e germinabilità (Figura 3.).



Figura 3. Tecnici di laboratorio analisi sementi CREA-DC

Infine, si effettua il *controllo a posteriori* presso le aziende sperimentali agricole del Centro di Ricerca Difesa e Certificazione Figura 4. che ha lo scopo di verificare l'identità varietale dei lotti di seme commercializzati e il lavoro svolto in tutto l'iter di certificazione.



Figura 4. Campo di controllo a posteriore

La commercializzazione delle sementi, a seguito del buon esito di tutti i controlli previsti dalla certificazione, può avvenire solo dopo l'apposizione sulle confezioni dei cartellini ufficiali rilasciati dalla sede di competenza del CREA-DC Figura 5.

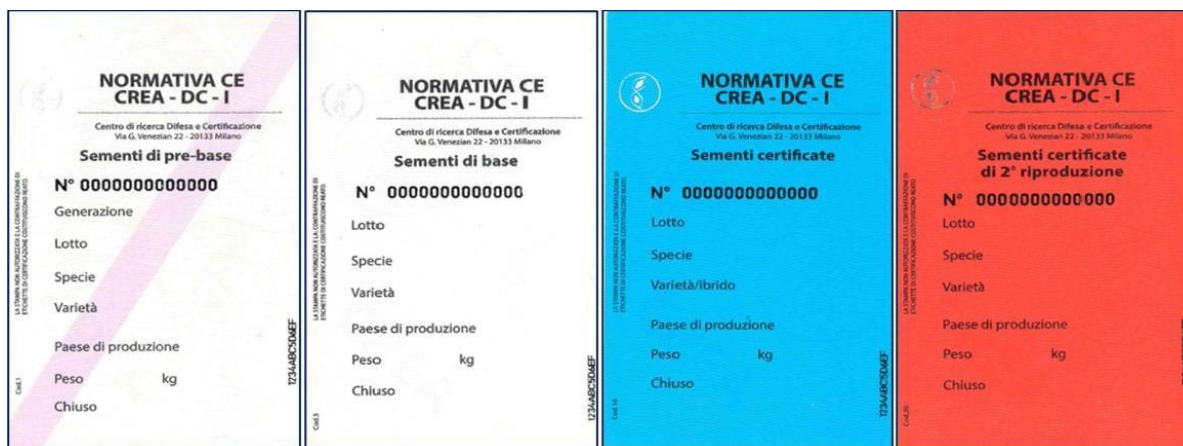


Figura 5. Esemplari di cartellini ufficiali di certificazione sementi

L'attività di certificazione della Sede di Battipaglia, il cui territorio di competenza è rappresentato dalle sei regioni del Centro Sud d'Italia "Lazio, Campania, Molise, Basilicata, Puglia e Calabria" è iniziata nel lontano 1970 e, a tutt'oggi, riveste un ruolo strategico dell'intera Area sementi del Centro di ricerca Difesa e Certificazione.

Nell'annata del 1970/71 la quantità di sementi certificate di tutte le specie ammontava a quintali 247.392 Figura 6., mentre nel 2022/23 è stato registrato un incremento di circa il 70%, con un quantitativo di quintali 809.411. Tuttavia, il maggior quantitativo di sementi certificate si è registrata tra le annate 1994/95 e 2009/2010 quando i quantitativi superavano costantemente il milione di quintali. L'annata agraria in cui la Sede ha certificato in assoluto il maggior quantitativo di prodotto sementiero è stata quella del 2002/03 con 2.535.461 quintali, di cui solo il frumento duro rappresentava circa il 96% dell'intero ammontare certificato (www.crea.gov.it).

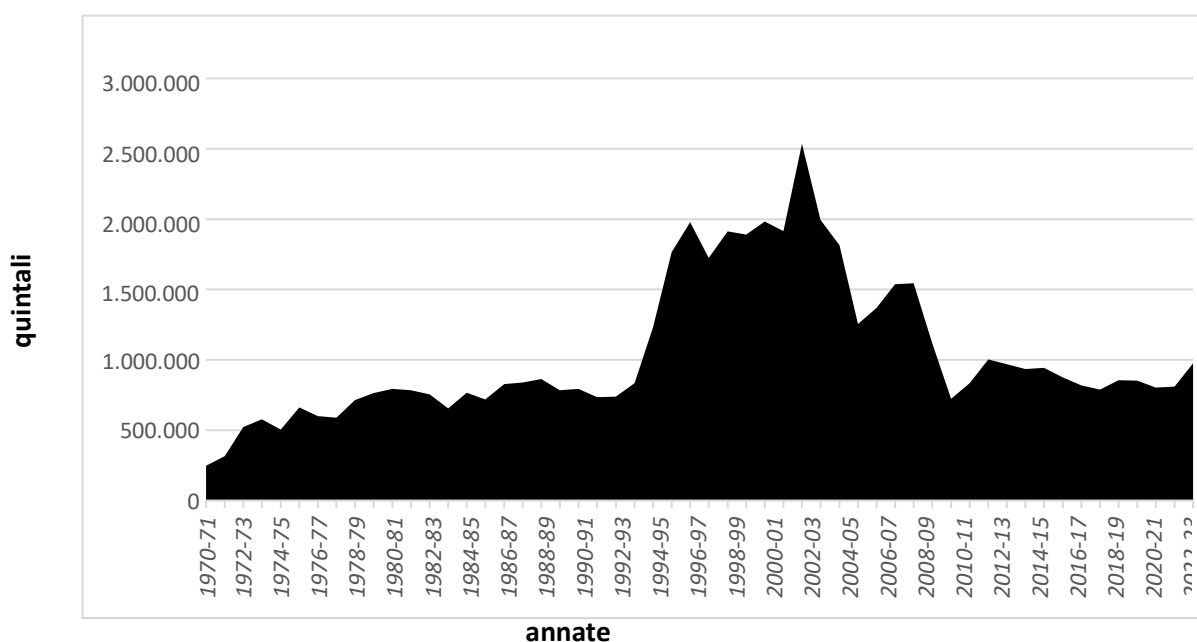


Figura 6. Andamento dei quantitativi certificati dal 1970/71 al 2022/23, Sede CREA-DC di Battipaglia

Risultati e discussione

Una filiera cerealicola fondata sull'utilizzo di seme certificato può affrontare sfide ambientali e di sostenibilità, in quanto questo possiede requisiti minimi, previsti dalla normativa in materia, purezza specifica e varietale, germinabilità e sanità. L'uso di una vasta gamma di varietà iscritte nei Registri nazionali e comunitari consente una scelta adeguata per i diversi territori agricoli, preservando anche gli ambienti marginali. Una buona germinabilità del seme favorisce un notevole risparmio di materia prima e l'ottenimento di rese più elevate. In generale, il seme certificato consente di effettuare interventi mirati, relativamente all'utilizzo di mezzi tecnici (concimi, antiparassitari, diserbanti, ecc.) e alla conduzione di operazioni colturali, che hanno un minore impatto sull'ambiente nell'ottica di una agricoltura sostenibile.

Ringraziamenti

Maurizio Giannatiempo, Michele Mele

Bibliografia

Gazzetta Ufficiale 1993. *Metodi ufficiali di analisi delle sementi*. 1st ed.

Gazzetta Ufficiale 2021. *Norme per la produzione a scopo di commercializzazione e la commercializzazione di prodotti sementieri*. 16/L

ISTA 2023. *International Seed Testing Association Handbook*.

<https://www.crea.gov.it>

<https://www.fao.org>

<https://www.fondazioneveronesi.it/magazine/articoli/alimentazione>

<https://www.salute.gov.it>

Fitopatie del frumento e comportamento delle varietà

A. Iori^{1}, N. Pecchioni², P. Vaccino³, N. Virzi⁴, P. De Vita², A. Belocchi¹, M. Fornara¹, S. Licciardello⁴, S. Mascheroni⁵, V. Mazzoni¹, S. Paone², A. Pesce⁴, A. Troccoli², C. Cassetta⁶, E. Grolì⁷, L. Mameli⁸, N. Mottola⁶, A. Petrini⁹, B. Randazzo¹⁰, S. Ravaglia⁷, P. Viola¹¹*

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Via Manziana 30, 00189 Roma (RM).

²Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, S.S. 673 km 25+200, 71122 Foggia (FG).

³Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, S.S. 11 per Torino km 2,5, 13100 Vercelli (VC).

⁴Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Corso Savoia 190, 95024 Acireale (CT).

⁵Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Via Stezzano 24, 24126 Bergamo (BG).

⁶Agenzia Regionale per lo Sviluppo Agricolo, Rurale e della Pesca (ARSARP), Via G. Vico 4, 86100 Campobasso (CB).

⁷Società Italiana Sementi SpA, Via Mirandola 5, 40068 San Lazzaro di Savena (BO).

⁸Agenzia regionale per la ricerca in agricoltura (AGRIS), S.S. 291 Sassari_Fertilia -Km 18,600 Bonassai (SS).

⁹Centro Ricerche e Sperimentazione CERMIS, Contrada Abbazia di Fiastra 2, 62029 Tolentino (MC).

¹⁰Associazione agricola Randazzo (ASAR), Contr. Loreto Snc, 90023 Ciminna (PA).

¹¹APSOVSEMENTI SpA, Strada Torremenapace 40, 27058 Voghera (PV).

*E-mail: angela.iori@crea.gov.it

Abstract

The CREA Research Centre for Engineering and Agro-Food Processing (CREA-IT) in Rome organizes the National Epidemiological Trial Network annually to evaluate the performance of durum and common wheat varieties in response to major plant diseases and to monitor the spatiotemporal evolution of fungal pathogens. The study analysed phytopathological data collected over more than two decades on 672 varieties of both wheat species, evaluated across 10-12 locations representative of Italy's main cereal-growing areas. Among the key diseases, the septoria complex has significantly affected both species, especially durum wheat. Yellow rust has surprisingly been detected in epidemic form among durum wheat genotypes in recent years, particularly in Sicily. Brown rust has consistently been present. Black rust poses a serious global threat and has reemerged in epidemic form in Italy. Powdery mildew infections have been relatively contained in soft wheat compared to durum wheat. The study also identified the best cultivars, providing valuable insights into the resistant or susceptible behaviour of the varieties.

Riassunto

Il CREA-Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari (CREA-IT) di Roma organizza ogni anno la Rete nazionale di prove epidemiologiche per saggiare il comportamento delle varietà di frumento duro e tenero verso le principali fitopatie e monitorare l'evoluzione spazio-temporale dei patogeni fungini.

Nell'ambito dello studio sono stati elaborati i dati fitopatologici registrati per oltre un ventennio su numerose varietà di frumento, saggiate in 10-12 località italiane. Tra le principali malattie, il complesso della septoriosi ha colpito entrambe le specie, in particolare le varietà di frumento duro. La ruggine gialla negli ultimi anni è stata rilevata in forma epidemica anche sui genotipi di frumento duro, soprattutto in Sicilia. La ruggine bruna è risultata costantemente presente nel nostro territorio. La ruggine nera è ricomparsa nei nostri ambienti in forma epidemica ormai da qualche anno. Nell'ultimo periodo, le infezioni di oidio sono state piuttosto contenute su frumento tenero, rispetto a quanto registrato sul duro. Lo studio ha permesso, inoltre, di individuare le cultivar migliori, fornendo informazioni utili sul loro comportamento resistente o suscettibile.

Introduzione

La produzione mondiale di frumento è fortemente influenzata dalla situazione geopolitica e dai cambiamenti climatici in atto che causano gravi ripercussioni economiche a livello globale. In Italia, la produzione di frumento duro e di frumento tenero nel 2023 è stata, rispettivamente, di 3,7 e 3,0 milioni di tonnellate, secondo i dati ISTAT. La disponibilità di materia prima di qualità è fondamentale per le industrie alimentari italiane e per la nostra economia. Pertanto, per migliorare le produzioni cerealicole nazionali, il contenimento degli stress biotici deve essere tenuto in particolare considerazione, poiché i patogeni possono avere effetti negativi sulle caratteristiche quali-quantitative della granella e dei prodotti di trasformazione. Per tale motivo, il CREA-Centro ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, sede di Roma, organizza, in collaborazione con altri Centri del CREA e Istituzioni pubbliche e private, la Rete nazionale prove epidemiologiche per valutare l'incidenza e la diffusione delle fitopatie e per saggiare il comportamento delle varietà di frumento verso i principali patogeni fungini.

Lo scopo del presente lavoro è stato di elaborare e sintetizzare una notevole quantità di informazioni sul comportamento delle cultivar verso le principali malattie fungine, al fine di evidenziare l'evoluzione nel tempo dei patogeni fungini e individuare tra le numerose cultivar saggiate quelle con miglior comportamento.

Materiali e metodi

In questo studio sono stati elaborati i dati fitopatologici della Rete nazionale prove epidemiologiche, relativi al comportamento di 672 varietà di frumento (310 di duro e 362 di tenero) verso le principali malattie fungine che colpiscono l'apparato aereo, ottenuti in 24 annate agrarie (dal 1999-2000 al 2022-2023) in 10-12 località rappresentative delle principali aree cerealicole italiane. I giudizi sul comportamento (resistente, moderatamente resistente, moderatamente suscettibile e suscettibile) delle cultivar, pubblicati in numerosi articoli (Iori *et al.*, 2023; 2022; 2021; 2020; 2019; 2018; 2017; 2016; Pasquini *et al.*, 2015; 2014; 2012; 2011; 2008; 2007; 2006; 2005; 2004; 2002; 2001; 2000), sono stati sintetizzati sia in 5 grafici (Fig. 1, 2, 3, 4 e 5), dai quali si evince la risposta delle varietà verso le malattie e l'evoluzione nel tempo dei patogeni, sia nella Tabella 1, nella quale sono state elencate le cultivar, saggiate per almeno 5 annate agrarie, che hanno mostrato il miglior comportamento in campo.

Risultati e discussione

Tra le principali malattie fungine che colpiscono l'apparato aereo del frumento, l'**oidio** è stato rilevato in vari anni. Nella Figura 1 viene riportato il comportamento delle varietà di frumento duro e di frumento tenero verso la malattia dalla primavera del 2000 a quella del 2023. Negli ultimi anni le infezioni di oidio sono risultate piuttosto contenute sulle varietà di frumento tenero, rispetto a quanto registrato su quelle di frumento duro, e ciò probabilmente è dovuto all'attività di miglioramento genetico che nel caso del frumento tenero ha reso disponibili un maggior numero di varietà resistenti al patogeno.

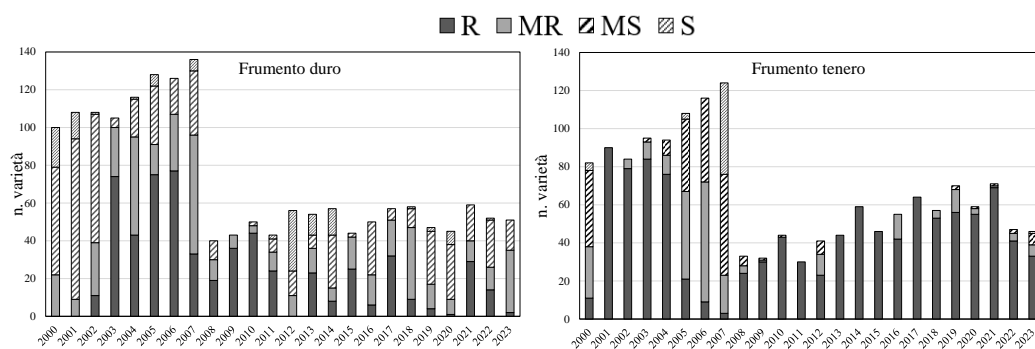


Figura 1. Comportamento delle varietà di frumento duro (sin) e tenero (dx) verso l'oidio.

Nella Figura 2 è riportato il comportamento delle varietà verso il **complesso della septoriosi** che comprende principalmente due patologie fungine: la septoriosi e la stagonosporiosi. Dall'osservazione del grafico possiamo dedurre che, nel periodo di riferimento, il complesso della septoriosi ha colpito con attacchi elevati entrambe le specie di frumento e le infezioni più elevate sono state riscontrate su frumento duro.

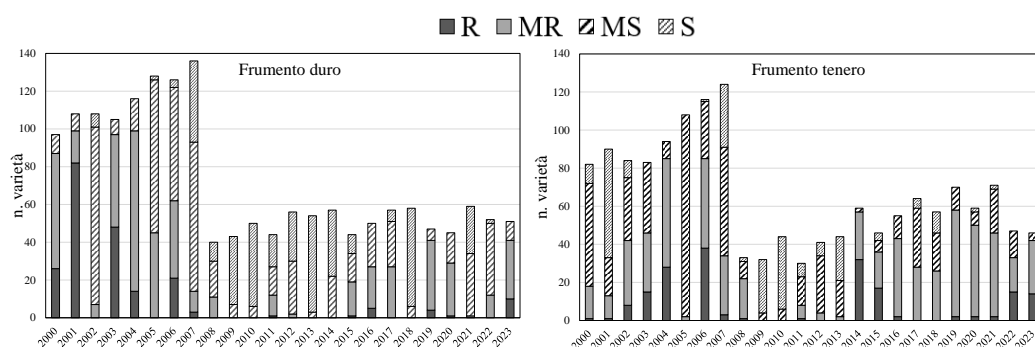


Figura 2. Comportamento delle varietà di frumento duro (sin) e tenero (dx) verso il complesso della septoriosi.

La **ruggine gialla** è nota per gli attacchi su frumento tenero in Paesi con clima fresco umido. In Italia, la malattia si manifestava ciclicamente, essenzialmente su frumento tenero nelle regioni del Centro-Nord. Dalla primavera del 2016, le epidemie di ruggine gialla sono state registrate, sorprendentemente, anche in Sicilia su frumento duro (Fig. 3).

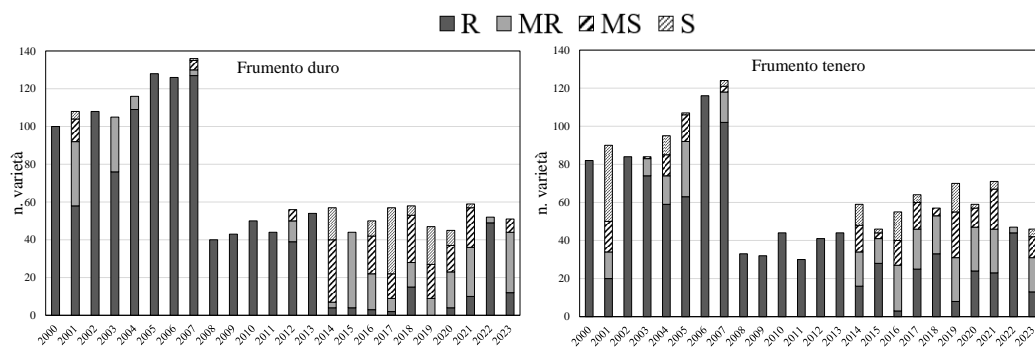


Figura 3. Comportamento delle varietà di frumento duro (sin) e tenero (dx) verso la ruggine gialla

La **ruggine bruna** può provocare epidemie nelle diverse aree cerealicole del mondo caratterizzate da temperature miti e nel nostro territorio si manifesta costantemente nelle colture. Nel poliennio considerato la malattia ha raggiunto gravità di attacco consistenti su entrambe le specie di frumento (Fig. 4).

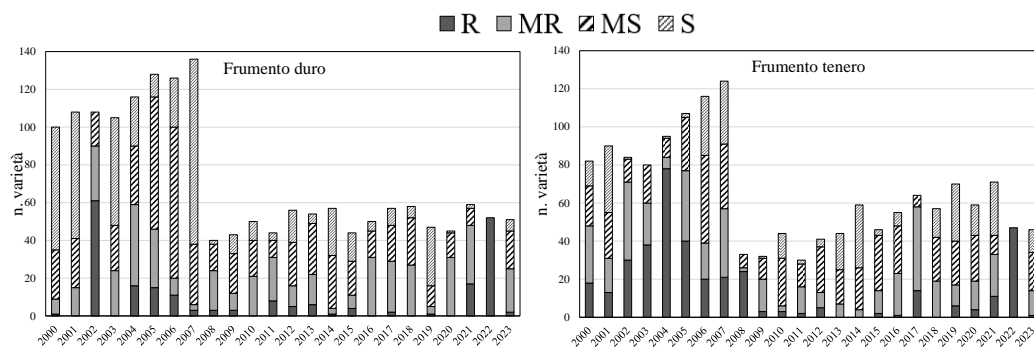


Figura 4. Comportamento delle varietà di frumento duro (sin) e tenero (dx) verso la ruggine bruna

La **ruggine nera** rappresenta una grave minaccia per il frumento a livello globale, perché le lesioni causate dal patogeno arrecano notevoli perdite di produzione. Epidemie di ruggine nera sono state registrate nel nostro territorio fino agli anni '70 e agli inizi degli anni '80. In seguito, la malattia è comparsa in campo raramente e solo in forma sporadica su qualche varietà suscettibile. Tuttavia, nell'annata 2015-16 un'epidemia di ruggine nera è stata riscontrata su frumento duro in Sicilia. A partire dall'annata agraria 2016-17, infezioni elevate della fitopatia sono state riscontrate anche sui genotipi di frumento tenero, inseriti in prova nelle località della Rete situate nelle regioni del Sud e nelle Isole (Fig. 5).

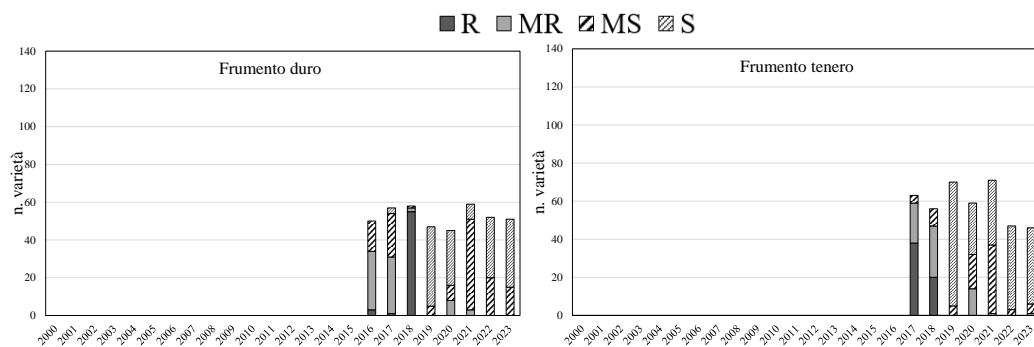


Figura 5. Comportamento delle varietà di frumento duro (sin) e tenero (dx) verso la ruggine nera.

L'analisi dei dati ha permesso, inoltre, di individuare tra le 672 varietà di frumento tenero e duro, saggiate per almeno 5 anni, quelle con miglior comportamento (resistente o moderatamente resistente) verso le principali fitopatie (Tab. 1). Tra le cultivar riportate in Tabella 1, ne sono state individuate alcune che hanno mostrato una buona risposta verso due e più malattie.

Tabella 1. Quadro di sintesi delle varietà di frumento tenero e duro, di vecchia e nuova costituzione, che hanno mostrato un comportamento resistente o moderatamente resistente verso le principali fitopatie, per almeno 5 anni. In grassetto le varietà con buon comportamento verso due o più malattie.

Frumento tenero	Oidio	Agadir, Altamira,,Bramante, Calisol, Diamento , Esperia, Giorgione, Katou, Lancillotto, Levis , Libero, Lucia , Maxi , Mec , Modern, Nobel , Pascal , Pitoma , PR22R58 , Rubisko , Santorin
	Ruggine gialla	Bolero, Bologna, Diamento , Eridio, Etecho, Eureka, Francia, Freccia, Golia, Isengrain, Levis Lucia , Maxi , Mec , Mol, Nobel , Noce, Paderno, Padus, Palesio, Pascal , Pegaso , PR22R58 , Rebelde, Rubisko , Santerno, Santorin , Sara, Sibilla, Soave, Tibet, Tremie, Tullio, Vaiiolet
	Ruggine bruna	Arsenal, Collerosso, Levis , Lucia , Pegaso , Pitoma , Rubisko , Vaiiolet , Vallerosa
	Complesso septoriosi	Lavandou
Frumento duro	Oidio	Arnacoris, Belfuggito, Canyon, Casteldoux, Daurur , Ermocolle, Marco, Matarrese , Olinto, Platone, Saragolla Bianca Ga10577
	Ruggine gialla	Creso, Daurur , Egeo, Idefix, Levante
	Ruggine bruna	Matarrese , Monastir, Ramirez
	Complesso septoriosi	Marzuolo Cervone

In conclusione, l'attività svolta per vari decenni nell'ambito della Rete ci ha fornito informazioni utili riguardo la diffusione nel nostro territorio delle fitopatie, la distribuzione nello spazio e nel tempo dei patogeni fungini e il comportamento (resistente o suscettibile) delle varietà. La disponibilità inoltre dei numerosi dati, raccolti in un così ampio arco temporale, è rilevante e strategica in questo periodo di forti cambiamenti climatici.

Ringraziamenti

Si ringraziano tutti i Colleghi e Collaboratori che con passione e dedizione per decenni hanno svolto le attività sperimentali.

Bibliografia

- Iori A., Pecchioni N., Vaccino P., Virzì N., *et al.* 2023. *L'Informatore Agrario*, 35: 65-70.
 Iori A., Pecchioni N., Quaranta F., Vaccino P., *et al.* 2022. *L'Informatore Agrario*, 34: 52-56.
 Iori A., Pecchioni N., Palumbo M., *et al.* 2021. *L'Informatore Agrario*, 34: 56- 61.
 Iori A., Pecchioni N., Perenzin M., *et al.* 2020. *L'Informatore Agrario*, 37: 55-60.
 Iori A., Pecchioni N., Perenzin M., Virzì N., *et al.* 2019. *L'Informatore Agrario*, 40: 52-57.
 Iori A., Pecchioni N., Perenzin M., Virzì N., *et al.* 2018. *L'Informatore Agrario*, 41: 55-57.
 Iori A., Palumbo M., Pecchioni N., *et al.* 2017. *L'Informatore Agrario*, 40: 50-55.
 Iori A., Perenzin M., Pecchioni N., Virzì N., *et al.* 2016. *L'Informatore Agrario*, 40: 51-56.
 Pasquini M., Iori A., Nocente F., Sereni L., *et al.* 2015. *L'Informatore Agrario*, 39: 42-46.
 Pasquini M., Iori A., Nocente F., Matere A., *et al.* 2014. *L'Informatore Agrario*, 42: 45-49.
 Pasquini M., Iori A., Matere A., Nocente F., *et al.* 2012. *L'Informatore Agrario*, 39: 53-56.
 Pasquini M., Iori A., Matere A., Nocente F., *et al.* 2011. *L'Informatore Agrario*, 7: 5-8 suppl.
 Pasquini M., Iori A., Matere A., Sereni L., *et al.* 2008. *L'Informatore Agrario*, 46: 48 -52.
 Pasquini M., Iori A., Matere A., Sereni L., *et al.* 2007. *L'Informatore Agrario*, 41: 72 -75.
 Pasquini M., Iori A., Sereni L., Casini F., *et al.* 2006. *L'Informatore Agrario*, 38: 64-70.
 Pasquini M., Iori A., Sereni L., Casini F., *et al.* 2005. *L'Informatore Agrario*, 36: 66-73.
 Pasquini M., Iori A., Sereni L., Casini F., *et al.* 2004. *L'Informatore Agrario*, 38: 67-74.
 Pasquini M., Iori A., Sereni L., Casini F., *et al.* 2002. *L'Informatore Agrario*, 35: 55-61.
 Pasquini M., Iori A., Sereni L., Casini F., *et al.* 2001. *L'Informatore Agrario*, 35: 43-51.
 Pasquini M., Iori A., Sereni L., Casini F., *et al.* 2000. *L'Informatore Agrario*, 3: 35 - 42.

Orzo da malto e cambiamenti climatici: varietà idonee per gli ambienti caldo-aridi. Risultati parziali del progetto INNO.MALTO

N. Virzi^{1*}, D. D'Angelo², A. Leonardi¹, S. Licciardello¹, E. Li Puma¹, A. Lo Scalzo¹, A. Pesce¹, F. Sciacca¹, N. Pecchioni¹, M. Palumbo¹

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali. Corso Savoia 190, 95024 Acireale (CT).

²Ente di Sviluppo Agricolo (ESA) - SOPAT 47. Piazza Ing. G. Panvini 17, 94100 Enna (EN).

*E-mail: nino.virzi@crea.gov.it

Abstract

The Italian production of malting barley is severely deficient and 68% of the malt used comes from abroad (Assobirra Report, 2022). This situation, combined with the increasing national industrial demand and the development of local supply chains for craft beer production, which are increasingly appreciated by consumers, suggests promising growth prospects for Italian brewing barley cultivation. To support farmers and processors, CREA-Research Centre for Cereal and Industrial Crops of Acireale (CT) has been conducting experimental trials in Sicily for many years, aimed at evaluating and characterizing commercial varieties of two-row barley malting barley (Virzi and Palumbo, 2017). From 2020 to 2023, the Inno.Malto project (PSR Sicily) led to the identification of a pool of varieties with good malting potential, excellent production stability and greater adaptability to arid cultivation. These varieties produced average yields that were 14% higher than the two varieties of feed barley (Alastro and Tea) and 28% higher than the durum wheat variety Iride, used as reference controls.

Riassunto

La produzione italiana di orzo da malto è fortemente deficitaria, con il 68 % del malto utilizzato proveniente dall'estero (Report Assobirra, 2022). Questo dato, insieme all'aumento del fabbisogno industriale nazionale e allo sviluppo di filiere locali per produzioni artigianali, sempre più apprezzate dai consumatori, lascia intravedere un potenziale di crescita significativo per l'ordeicoltura da birra italiana. Allo scopo di supportare agricoltori e trasformatori, il Centro Cerealicoltura e Colture Industriali di Acireale del CREA conduce da molti anni in Sicilia prove sperimentali per valutare e caratterizzare varietà commerciali di orzo distico da malto (Virzi e Palumbo, 2017). Nel periodo 2020-2023, la sperimentazione condotta nell'ambito del progetto Inno.Malto (PSR Sicilia) ha portato all'identificazione di un gruppo di varietà con una buona attitudine alla maltazione, ottima stabilità produttiva e una maggiore adattabilità all'aridocoltura. Queste varietà hanno prodotto mediamente il 14% in più rispetto alle rese medie delle due varietà di orzo da zootecnia (Alastro e Tea) e il 28% in più rispetto alla varietà di frumento duro Iride, utilizzate come testimoni di riferimento.

Introduzione

Negli ambienti caldo-aridi siciliani, sempre più soggetti agli effetti dei cambiamenti climatici, l'orzo presenta numerosi vantaggi rispetto ad altre colture, che si traducono in maggiore produttività e superiore sostenibilità economica e ambientale.

Nell'ambito della Sottomisura 16.1 del PSR Sicilia 2014-2022 è stato avviato il progetto "INNO.MALTO - Caratterizzazione di un malto tipico siciliano attraverso l'introduzione di metodi di coltivazione e di trasformazione delle materie prime innovative", al fine di favorire nella Regione lo sviluppo della filiera cereali-malto-birra. Fra le principali finalità del progetto vi è quella di individuare varietà di orzo distico da utilizzare per la produzione di un malto

interamente “*made in Sicily*”. Il Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali di Acireale del CREA, in qualità di partner scientifico del progetto Inno.Malto, ha condotto in Sicilia una sperimentazione per individuare genotipi dotati di buona adattabilità agli ambienti siccitosi ed evidenziare le potenzialità della coltura ordecicola nell’isola.

Materiali e metodi

La sperimentazione, condotta nel periodo 2020-2023 presso l’azienda agraria di Libertinia (CT) del CREA, ha riguardato 14 varietà di orzo da malto, abbinate a due varietà di orzo ad uso zootecnico (Alastro e Tea) e alla varietà di frumento duro Iride, inserite come testimoni. I genotipi di orzo a confronto sono stati coltivati, in regime non irriguo, in parcelle di 10 m² disposte secondo un disegno sperimentale a blocchi randomizzati con quattro ripetizioni, adottando un investimento unitario pari a 300 semi germinabili/m². La granella raccolta è stata sottoposta alle principali determinazioni analitiche merceologiche: peso 1000 cariossidi (determinato su un campione di 15 g), umidità, peso ettolitrico e contenuto proteico (determinati con il metodo NIT utilizzando la strumentazione Infratec Grain Analyzer - Foss). I dati agronomici e qualitativi rilevati sono stati elaborati e sottoposti ad analisi statistica (ANOVA).

Risultati e discussione

La Tabella 1 sintetizza le informazioni ricavate dalla sperimentazione e riporta, in ordine decrescente di resa in granella, i risultati produttivi indicizzati e i dati medi dei principali parametri merceologici delle varietà in prova per almeno un biennio nel periodo 2020-2023.

Tabella 1. Indici di resa, produzioni medie e dati qualitativi delle varietà di orzo da malto in prova a Libertinia

Varietà	Indici di resa ⁽¹⁾				Media poliennio		Dati qualitativi medi poliennio		
	2023	2022	2021	2020	t/ha	indice ⁽²⁾	Peso 1000 semi (g)	Peso ettolitrico (kg/hL)	Proteine (% s.s.)
2020 - 2023 (resa media: 5,71 t/ha)									
RGT Planet	108	106	113	122	6,32	111	42,0	63,0	10,3
Sunshine	100	104	120	123	6,24	109	40,8	64,1	11,3
RGT Orbiter	115	106	110	104	6,23	109	42,9	61,9	10,6
SY Stanza	113	109	100	108	6,17	108	40,7	61,4	10,7
Fortuna	98	107	98	128	6,04	106	43,6	62,3	11,2
RGT Asteroid	105	120	100	86	6,02	106	39,7	61,4	11,2
Laureate	106	106	91	97	5,78	101	41,6	59,7	10,8
Monroe	78	85	77	50	4,27	75	36,1	56,1	11,9
2021 - 2023 (resa media: 6,29 t/ha)									
LG Belcanto	118	110	114		7,17	114	43,4	62,9	10,5
Fatima	102	104	99		6,42	102	43,7	65,6	10,8
2022 - 2023 (resa media: 7,16 t/ha)									
Fandaga	118	107			8,06	113	45,1	61,9	10,5
SY Solar	117	102			7,83	109	44,9	62,6	10,3
LG Flamenco	116	100			7,74	108	43,5	62,2	10,2
Korbina	70	72			5,10	71	39,8	59,8	12,6
Resa media (t/ha)	7,22	7,09	4,55	3,96					

⁽¹⁾ posta pari a 100 la resa media di campo

⁽²⁾ posta pari a 100 la resa media poliennale

Tra le varietà valutate nel corso di quattro annate agrarie consecutive, RGT Planet ha mostrato una più spiccata adattabilità, producendo mediamente l'11% in più della resa media di campo, seguita dalle cultivar Sunshine e RGT Orbiter. Fra le varietà in prova nel corso di tre annate consecutive, ha mostrato potenzialità produttive superiori alle medie dell'areale e ottima stabilità la cultivar LG Belcanto, mentre fra i genotipi valutati per due annate è emersa Fandaga. Per quanto riguarda gli aspetti qualitativi, la sperimentazione ha evidenziato che le produzioni ordeicole regionali rispondono perfettamente alle richieste dell'industria maltaria. In particolare, per quanto riguarda il peso delle 1000 cariossidi, le varietà valutate, ad eccezione di quelle più tardive, hanno mostrato valori medi soddisfacenti del parametro qualitativo. Relativamente al peso ettolitrico, fra le cultivar in prova consecutivamente per un quadriennio, valori medi più elevati sono stati riscontrati sulla granella delle varietà Sunshine e RGT Planet. Riguardo al contenuto proteico, la maggior parte delle varietà in prova ha evidenziato valori medi equilibrati, rientrando nel range del 10-11%, ritenuto ottimale per assicurare una corretta macinabilità dell'orzo maltato e impedire l'intorbidamento della birra. Il contenuto proteico è fortemente influenzato, oltre che dalla componente genetica, dalle tecniche agronomiche adottate (precessioni colturali e concimazione azotata) e dalle condizioni ambientali (caratteristiche pedologiche e andamento meteorologico). La correlazione negativa fra la resa in granella ed il contenuto proteico, che penalizza normalmente il frumento e l'orzo da zootecnia, nel caso dell'orzo ad uso maltario gioca a favore della qualità, in quanto a produzioni elevate corrispondono generalmente tenori proteici equilibrati.

In Figura 1 vengono illustrate graficamente le rese medie registrate nelle prove sperimentali allestite nel quadriennio 2020-2023 a Libertinia (CT) su 7 varietà di orzo da malto a confronto con due varietà distiche di orzo ad uso zootecnico (Alastro e Tea) e la varietà di frumento duro Iride, utilizzate come testimoni di riferimento per il confronto fra le diverse colture.

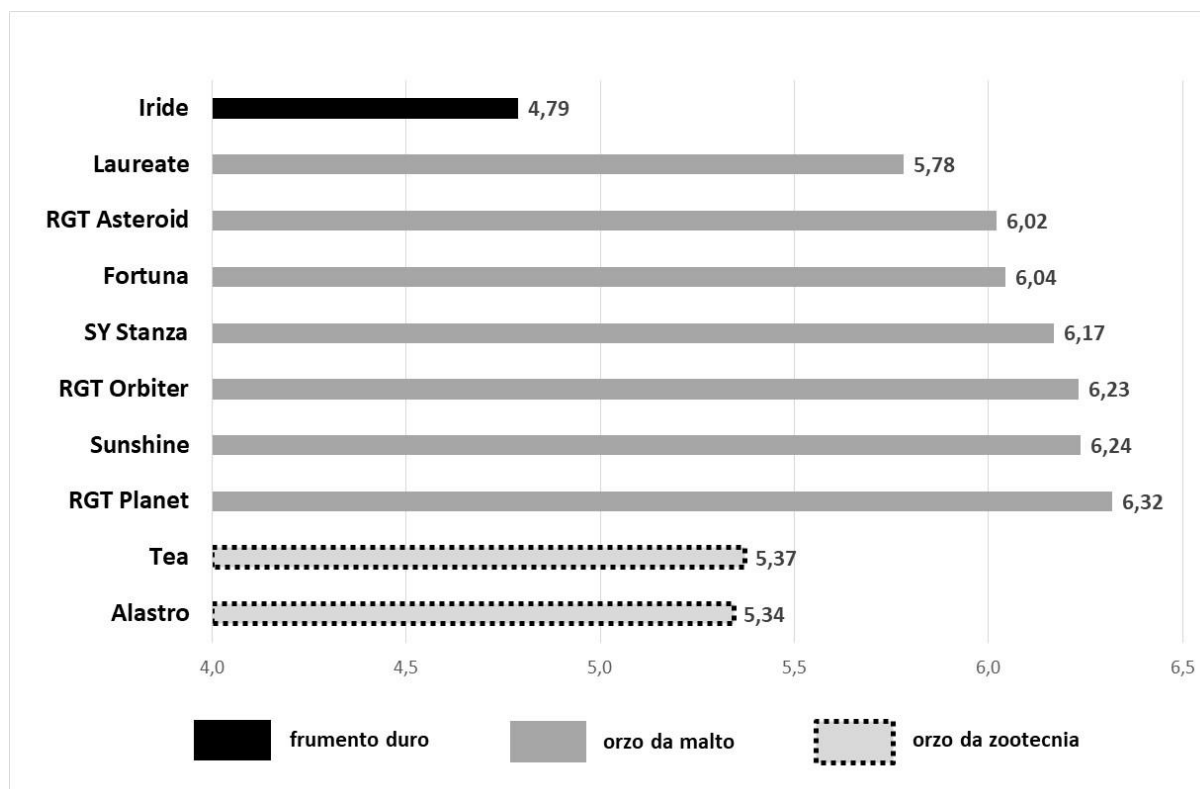


Figura 1. Rese medie (t/ha) di orzo e frumento duro registrate nel quadriennio 2020-2023 nelle prove sperimentali condotte a Libertinia (CT)

Il grafico evidenzia la disponibilità di varietà di orzo da malto dotate di ottima adattabilità all'aridocoltura, in grado di esprimere livelli produttivi significativamente superiori rispetto agli altri cereali a confronto. Nel corso della valutazione quadriennale, si sono registrati incrementi di resa in granella prossimi al 14% rispetto alle due varietà di orzo da zootecnia in prova e al 28% rispetto alla varietà di frumento duro Iride, una delle più diffuse nell'isola.

I risultati delle sperimentazioni condotte in Sicilia, un ambiente in cui gli effetti del cambiamento climatico sono particolarmente evidenti, dimostrano che il miglioramento genetico degli orzi da malto ha reso possibile disporre di varietà sempre più produttive, anche in ambienti di coltivazione caldo-aridi (Virzì *et al.*, 2022). Alla luce di quanto evidenziato, l'ordeicoltura da malto potrebbe affiancare la coltivazione del frumento duro negli ambienti mediterranei, offrendo agli agricoltori ulteriori opportunità di diversificazione colturale e nuovi sbocchi di mercato per produzioni cerealicole di elevata qualità.

Ringraziamenti

Lavoro realizzato nell'ambito del progetto "INNO.MALTO. "Caratterizzazione di un malto tipico siciliano attraverso l'introduzione di metodi di coltivazione e di trasformazione delle materie prime innovative" approvato e finanziato nell'ambito della Sottomisura 16.1 "Sostegno per la costituzione e la gestione dei gruppi operativi del P.E.I. in materia di produttività e sostenibilità dell'Agricoltura" del Programma di Sviluppo Rurale 2014-2022 della Regione Sicilia, in attuazione del Fondo europeo agricolo di sviluppo rurale (FEASR).

Bibliografia

Annual Report 2022, Assobirra (<https://www.assobirra.it/annual-report-assobirra/>).

Virzì N., Palumbo M., 2017. Scelta varietale e tecniche colturali per l'orzo da birra nel Sud Italia. Atti del Workshop "Filiera del luppolo e della birra artigianale nell'Italia meridionale", Nocera Terinese (CZ), 15 luglio 2017: 41-58.

Virzì N., Li Puma E., Licciardello S., Sciacca F., Leonardi L., Pesce A., Lo Scalzo A.M., Zappalà A., D'Angelo D., Gianinetti A., Faccini N., Cattivelli L., Baronchelli M., Palumbo M., 2022. Speciale Cereali. Le varietà di orzo da malto per lo sviluppo della filiera della birra artigianale siciliana. *Agriscilia*, 9: 27-31.

Presenza di metaboliti secondari fungini in cariossidi di frumento duro coltivato in Italia e loro correlazione con la comunità fungina ad esse associata

A. Prodi¹, F. Tini², V. Balmas³, A. Infantino⁴, A. Onofri², E. Cappelletti¹, S. Ofensou³, M. Sulyok⁵, M. Montanari^{6*}, D. Iraci Capuccinello⁷, N. Virzi⁸, I. Alberti⁹, L. Covarelli², G. Beccari²

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL), Università di Bologna, Viale Fanin 40, 40127 Bologna (BO).

²Dipartimento Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia, Borgo XX giugno 74, 06121 Perugia (PG).

³Dipartimento di Agricoltura, Università degli Studi di Sassari, Viale Italia 39a, 07100 Sassari (SS).

⁴Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Difesa e Certificazione, Via Bertero 22, 00156 Roma (RM).

⁵Department of Agrobio-technology (IFA-Tulln), Institute of Bioanalytics and Agro-Metabolomics, University of Natural Resource and Life Sciences, Vienna, Tulln, Austria.

⁶Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Cerealicoltura e colture industriali, Via di Corticella 133, 40128 Bologna (BO).

⁷Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Difesa e Certificazione, Via di Corticella 133, 40128 Bologna (BO).

⁸Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Cerealicoltura e colture industriali, C.so Savoia 190, 95024 Acireale (CT).

⁹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Cerealicoltura e colture industriali, Viale Amendola 82, 45100 Rovigo (RO).

*E-mail: massimo.montanari@crea.gov.it

Abstract

The present investigation was conducted on 70 samples of durum wheat from three distinct Italian macroareas: northern, central and southern Italy. The samples were subject to mycological analysis (using different diagnostic techniques) and to the quantification of fungal secondary metabolites by LC/MS-MS analysis. The fungal community associated with the investigated samples belonged to the following genera: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Microdochium*, *Penicillium* and *Rhizopus*. LC/MS-MS analysis revealed that the most prevalent fungal secondary metabolites in durum wheat grains were those biosynthesized by fungi belonging to the *Fusarium* and *Alternaria* genera. Grains from northern and central Italy showed the highest levels of secondary metabolites produced by species of the genus *Fusarium*. In particular, deoxynivalenol was largely detected in grains sampled from central and northern Italy, while much lower levels were found in grains from the south. Samples from central Italian regions were also notable for the highest levels of enniatins produced by *Fusarium*, as well as *Alternaria* secondary metabolites, including alternariol, altertoxin-I, macrosporin, and tentoxin.

Riassunto

La presente indagine è stata condotta su 70 campioni di frumento duro provenienti da tre diverse macroaree Italiane di coltivazione: nord, centro e sud Italia. I campioni sono stati sottoposti ad analisi micologiche (utilizzando diverse tecniche diagnostiche) e alla quantificazione dei metaboliti secondari fungini mediante analisi LC/MS-MS. La comunità fungina associata ai campioni esaminati è risultata appartenere ai generi: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Microdochium*, *Penicillium* e *Rhizopus*.

L'analisi LC/MS-MS ha mostrato come i metaboliti secondari fungini maggiormente presenti nelle cariossidi di frumento duro erano quelli biosintetizzati da species fungine appartenenti ai generi *Fusarium* e *Alternaria*. La granella proveniente dalle zone di coltivazione del centro e del nord Italia hanno presentato i livelli più alti di metaboliti secondari prodotti dal genere *Fusarium*. In particolare, il deossinivalenolo è stato maggiormente riscontrato nei campioni provenienti dal centro e dal nord Italia, mentre livelli molto più contenuti sono stati trovati nella granella proveniente dal sud. I campioni provenienti dalle regioni centrali si sono contraddistinti anche per i livelli più alti di enniatine, sempre prodotte da *Fusarium*, così come di metaboliti secondari prodotti dal genere *Alternaria* (alternariolo, altertoxin-I, macrosporina e tentoxina).

Introduzione

L'Italia è uno dei paesi maggiori produttori al mondo di frumento duro e il principale produttore ed esportatore mondiale di pasta. Di conseguenza, l'attenzione alla qualità del frumento duro è cruciale per l'intera filiera produttiva. In Italia, la coltivazione di frumento duro è concentrata soprattutto nelle regioni meridionali. Tuttavia, l'aumento della domanda ha portato all'espansione delle coltivazioni anche nelle regioni del centro-nord, dove si è registrato un incremento della produzione, ma anche un maggior rischio di contaminazione fungina, favorito dall'umidità più elevata che caratterizza queste aree.

Gli obiettivi di questo studio (Senatore et al., 2023) sono stati: 1) identificare, mediante diverse tecniche diagnostiche, la comunità fungina presente nelle cariossidi di frumento duro raccolte in diverse macroaree di coltivazione italiane; 2) quantificare, tramite cromatografia liquida accoppiata alla spettrometria di massa (LC/MS-MS), i metaboliti secondari prodotti dai funghi presenti nelle cariossidi di frumento duro.

Materiali e metodi

La ricerca è stata condotta su 70 campioni di frumento duro provenienti da 13 regioni italiane. I campionamenti sono stati eseguiti nella stagione 2017-2018. In base alla loro origine, i campioni sono stati raggruppati in tre macroaree (nord, centro e sud Italia), tipicamente caratterizzate da differenti condizioni climatiche. Dopo la raccolta, i campioni sono stati suddivisi in due sub campioni rappresentativi (150 g ciascuno): uno per la determinazione della comunità fungina e uno per la quantificazione dei metaboliti secondari fungini nella granella, mediante analisi LC-MS/MS. Per determinare la comunità fungina presente nelle cariossidi di frumento duro, sono state utilizzate due metodologie: 1) isolamento fungino mediante l'utilizzo del substrato patata destrosio agar (PDA); 2) isolamento fungino mediante l'utilizzo della tecnica della camera umida refrigerata (CUR, conosciuta in letteratura internazionale come *deep freezing blotter*). La comunità fungina presente nelle cariossidi dei campioni di frumento duro è stata isolata su PDA, come descritto da Beccari *et al.* (2018). L'isolamento dei funghi tramite CUR è stato realizzato come descritto da Limonard (1966). In ambedue i casi, dopo un periodo di incubazione in condizioni controllate, il genere delle colonie fungine è stato identificato mediante l'ausilio di uno stereomicroscopio e di un microscopio ottico. La rilevazione e la quantificazione dei metaboliti secondari è stata eseguita mediante LC-MS/MS.

Risultati e discussione

Lo studio della comunità fungina presente nei 70 campioni di granella proveniente dalle tre diverse macroaree di coltivazione italiane (nord, centro, sud) ha evidenziato la presenza sia di cariossidi infette che di cariossidi sane. Confrontando i due metodi di isolamento l'utilizzo del PDA ha permesso un isolamento fungino significativamente maggiore rispetto al metodo CUR. Tuttavia, entrambi i metodi hanno evidenziato che i campioni provenienti dall'Italia meridionale presentavano il numero più basso di colonie fungine sviluppatesi dalle cariossidi. In generale,

la comunità fungina isolata era composta dai seguenti generi: *Acremonium* (genere isolato solo con metodo CUR), *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium*, *Gliocladium* (genere isolato solo con metodo CUR), *Microdochium*, *Penicillium* e *Rhizopus*. Le colonie non identificate tramite l’osservazione visiva sono state classificate come “altre” (Fig. 1) (Senatore et al., 2023).

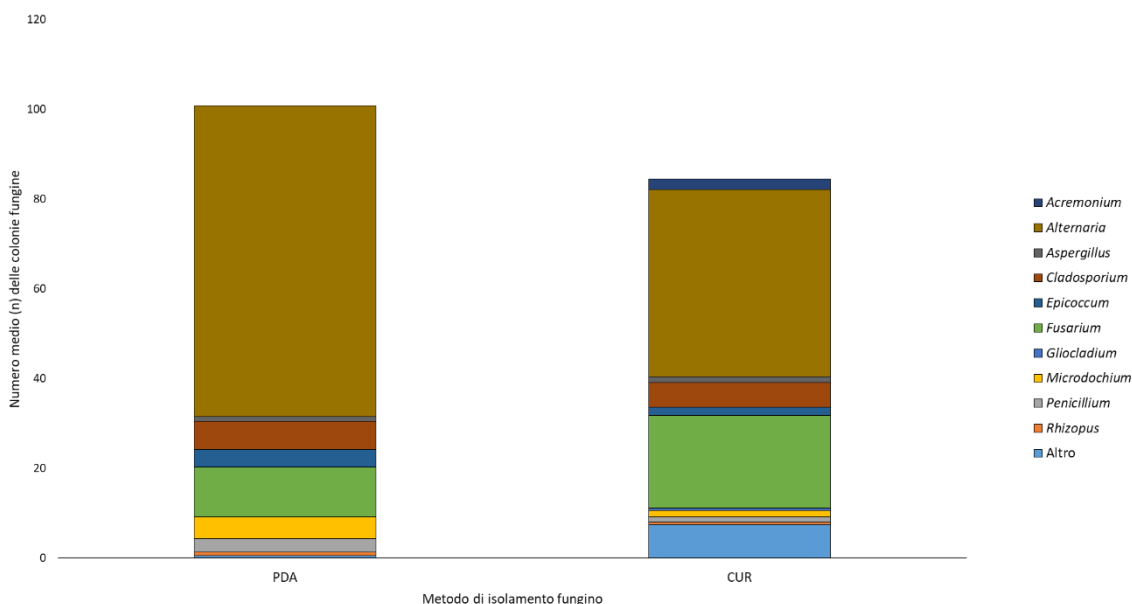


Figura 1. Numero medio di colonie (*n*) dei diversi generi fungini isolati da 70 campioni di frumento duro provenienti da tre macroaree cerealicole italiane, ottenute tramite due metodi di isolamento differenti: patata destrosio agar e camera umida refrigerata (PDA e CUR).

Con entrambi i metodi di isolamento, *Alternaria* è stato il genere più presente seguito dal genere *Fusarium*. Tutti gli altri generi hanno mostrato, con entrambi i metodi, un numero di colonie significativamente inferiore rispetto ad *Alternaria* e *Fusarium*. I due metodi hanno influenzato in modo diverso lo sviluppo delle colonie fungine appartenenti a determinati generi. In particolare, il metodo PDA ha permesso di isolare un numero significativamente più alto di colonie di *Alternaria*, *Epicoccum*, *Microdochium* e *Penicillium* rispetto al metodo CUR. Al contrario, il metodo CUR ha favorito un più alto sviluppo di specie appartenenti al genere *Fusarium*, rispetto al metodo PDA (Senatore et al., 2023).

Sono state riscontrate differenze significative nella distribuzione di alcuni generi fungini tra le tre macroaree. Ad esempio, con il metodo CUR, *Alternaria* era maggiormente presente nella granella proveniente dal centro e dal sud Italia rispetto a quella proveniente dal nord Italia. Un andamento simile, sebbene non significativo, è stato osservato anche con il metodo PDA. I campioni di frumento duro raccolti nel centro Italia hanno mostrato il maggior numero di colonie appartenenti al genere *Fusarium*. In particolare, con il metodo CUR, il numero medio di colonie di *Fusarium* ha seguito l’andamento centro \geq nord $>$ sud, andamento simile a quanto registrato con il metodo PDA: centro $>$ nord \geq sud. Con entrambi i metodi, l’Italia meridionale è risultata la macroarea con il minor numero di colonie di *Fusarium* sviluppate dalle cariossidi. La quantificazione dei metaboliti secondari fungini, mediante LC-MS/MS, presenti nelle cariossidi dei 70 campioni di frumento duro ha evidenziato un’abbondante presenza di micotossine biosintetizzate dai generi *Fusarium* e *Alternaria* (Senatore et al., 2023).

Esaminando la distribuzione dei metaboliti secondari prodotti da *Fusarium*, i campioni provenienti dal centro e nord Italia hanno mostrato i livelli di accumulo significativamente più

alti rispetto a quelli provenienti dal sud Italia (Fig. 2). In particolare, il deossinivalenolo è stato maggiormente riscontrato nei campioni provenienti dal centro e dal nord Italia, mentre livelli molto più contenuti sono stati trovati nella granella proveniente dal sud. I campioni provenienti dalle regioni centrali si sono contraddistinti anche per i livelli più alti di enniatine.

Oltre a presentare i livelli più alti di metaboliti prodotti da *Fusarium*, i campioni dell'Italia centrale mostravano anche i livelli più alti di metaboliti biosintetizzati da *Alternaria*. In questo caso, i campioni provenienti dall'Italia meridionale mostravano livelli di accumulo più alti rispetto a quelli originari del nord Italia. Nel dettaglio, una maggiore presenza di alternariolo, altertossina-I, macrosporina e tentossina è stata registrata nell'Italia centrale

Infine, sono stati rilevati, in quantità minori, anche metaboliti secondari prodotti dai generi *Aspergillus* e *Penicillium* (Senatore et al., 2023).

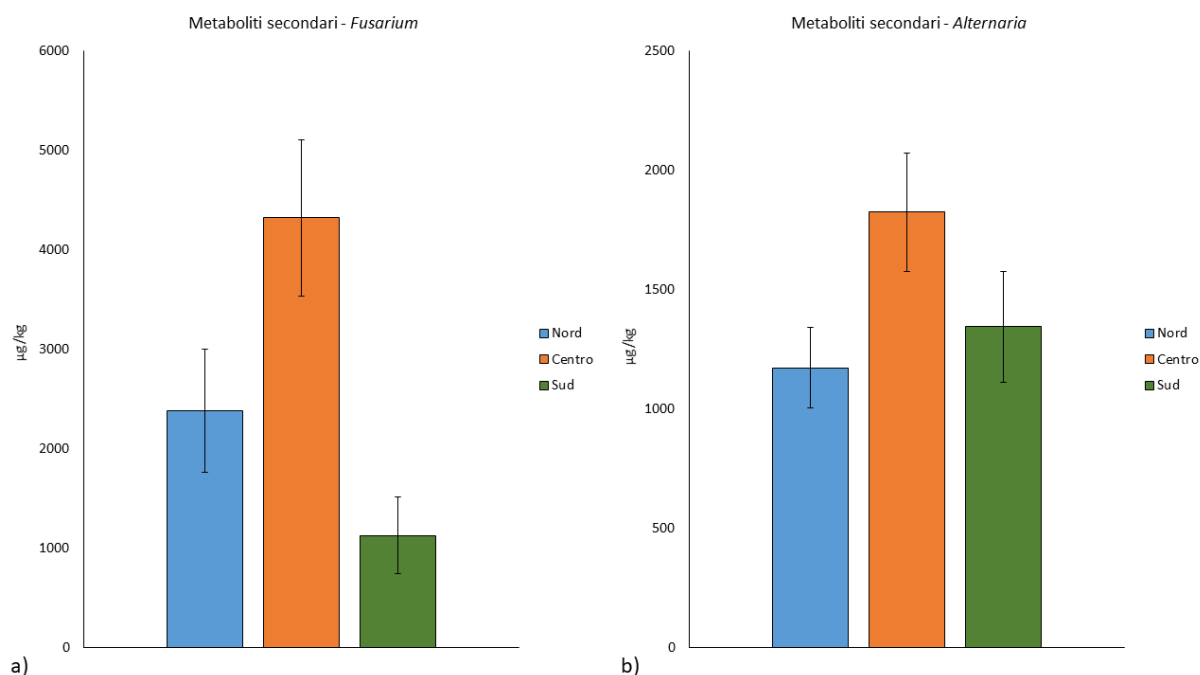


Figura 2. Livello medio ($\mu\text{g}/\text{kg}$) di metaboliti secondari prodotti dal genere *Fusarium* (a) e prodotti dal genere *Alternaria* (b) riscontrati mediante analisi LC/MS nella granella di frumento duro raccolta nelle tre diverse macroaree di coltivazione italiane (nord, centro, sud).

Bibliografia

Beccari G., Senatore M.T., Tini F., Sulyok M., Covarelli L. 2018. Fungal community, *Fusarium* head blight complex and secondary metabolites associated with malting barley grains harvested in Umbria, Central Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 273: 33-42.

Limonard T.A. 1966. A modified blotter test for seed health. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 72: 319-321.

Senatore M.T., Prodi A., Tini F., Balmas V., Infantino A., Onofri A., Cappelletti E., Oufensou S., Sulyok M., Covarelli L., Beccari G. 2023. Different diagnostic approaches for the characterization of the fungal community and *Fusarium* species complex composition of Italian durum wheat grain and correlation with secondary metabolite accumulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103:4503-4521.

Aspetti normativi delle analisi dei metalli nel riso: cadmio e arsenico inorganico (regole decisionali con incertezza di misura)

E. Fantozzi, F. Trivero, C. Simonelli*

Centro Ricerche sul Riso (CRR), Ente Nazionale Risi, Strada per Ceretto 4, 27030 Castello d'Agogna (PV).

*E-mail: e.fantozzi@enterisi.it

Abstract

Cadmium and arsenic are, respectively, a bivalent metal and a toxic semimetal that can mimic the behavior of essential elements in the body. The European Commission has issued regulations to limit the presence of these metals in food, such as rice. For cadmium, Regulation (EC) 1881/2006 set the limit at 0.20 mg/kg, later lowered to 0.15 mg/kg in 2021, while the limit for baby food is 0.040 mg/kg. Arsenic has been regulated since 2015, with limits of 0.20 mg/kg, reduced to 0.15 mg/kg in 2023 for processed rice. The Rice Research Center analyzes the presence of these elements using certified methods, employing atomic absorption spectrometry. When requested, the Laboratory applies the so-called *Decision Rules* to assess the compliance of samples with the established legal limits.

Riassunto

Il cadmio e l'arsenico sono rispettivamente un metallo bivalente e un semimetallo tossico che possono imitare il comportamento di elementi essenziali per l'organismo. La Commissione Europea ha emanato regolamenti per limitare la presenza di questi metalli negli alimenti, come il riso. Per il cadmio, il regolamento (CE) 1881/2006 fissava il limite a 0,20 mg/kg, abbassato a 0,15 mg/kg nel 2021, mentre per gli alimenti per bambini il limite è 0,040 mg/kg. L'arsenico è regolato dal 2015 con limiti di 0,20 mg/kg, ridotti a 0,15 mg/kg nel 2023 per il riso lavorato. Il Centro Ricerche sul Riso analizza la presenza di questi elementi con metodi certificati, utilizzando spettrometria ad assorbimento atomico. Qualora richiesto, il Laboratorio, utilizza le cosiddette *Regole decisionali* per valutare eventualmente la conformità dei campioni rispetto ai limiti di legge stabiliti.

Introduzione

Cadmio e arsenico sono rispettivamente un metallo bivalente e un semimetallo tossico nella sua forma inorganica, in grado di simulare i comportamenti di altri elementi (zinco e fosforo) coinvolti in processi biologici essenziali per l'organismo. Per questo motivo risulta fondamentale regolamentare il contenuto di questi metalli pesanti negli alimenti. I limiti di legge per i metalli in questione sono stati modificati negli anni e, attualmente, corrispondono a 0,15 mg/kg di cadmio e arsenico inorganico nel riso lavorato e 0,25 mg/kg di arsenico inorganico nel riso semigreggio; i limiti per il baby-food (alimenti per lattanti) corrispondono invece a 0,040 mg/kg di cadmio e 0,10 mg/kg di arsenico inorganico (Figura 1).

Il *cadmio* è in grado di attraversare le membrane biologiche e, mimando il comportamento dello zinco riesce a legarsi al suo posto nelle cellule. Quando assorbito, il cadmio ha un tempo di dimezzamento biologico di 10-30 anni. L'esposizione acuta a questo metallo bivalente, a causa della sua tossicità, è in grado di causare diverse patologie.

L'*arsenico inorganico* è in grado di sostituire parzialmente il fosforo in alcune reazioni biochimiche. Nel riso l'arsenico è presente sia in forma organica che inorganica; quest'ultima

risulta essere la più tossica e la sua presenza può portare a varie patologie quali diabete, malattie cardiovascolari, alterazioni dello sviluppo del feto e alcune forme tumorali.

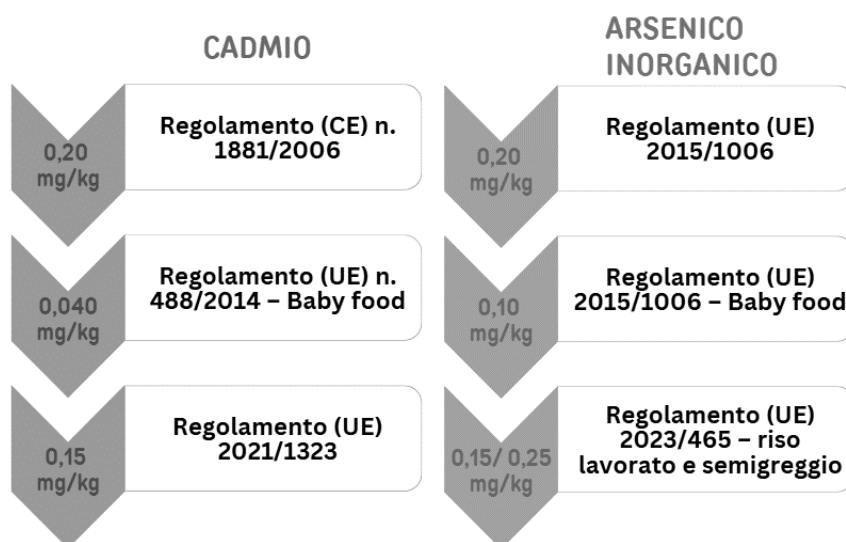


Figura 1. Limiti di legge per cadmio e arsenico inorganico negli anni.

Materiali e metodi

Il Laboratorio effettua le analisi seguendo il metodo normato UNI EN 14083:2003 per la determinazione in tracce di cadmio nel riso e il metodo normato UNI CEN/TS 1631:2014 per l'arsenico inorganico.

Per quanto riguarda l'analisi del cadmio, il campione di riso macinato viene sottoposto a mineralizzazione mediante microonde utilizzando HNO_3 e H_2O_2 al fine di eliminare la componente organica. La soluzione così ottenuta viene diluita e analizzata tramite la tecnica analitica di Spettrometria ad assorbimento atomico con fornetto di grafite (GF-AAS), previa costruzione di una retta di taratura

Nel caso dell'arsenico inorganico invece, dal campione di riso macinato viene estratta la componente inorganica mediante HNO_3 0,28 mol/l. Il prodotto ottenuto viene centrifugato, filtrato e sottoposto ad una fase di pre-riduzione tramite l'aggiunta di una soluzione di KI. In questo modo è possibile ridurre l'As (V) a As (III), forma inorganica adatta ad ottenere le arsine (AsH_3) che vengono analizzate tramite la tecnica analitica di spettrometria ad assorbimento atomico con formazione di idruri (HG-AAS). Anche in questo caso viene prima costruita una retta di taratura.

Risultati e discussione

Poiché i risultati analitici (R) devono essere confrontati con dei limiti di legge, a ciascun risultato è associata un'incertezza secondo il documento UNI CEI 70098-3. Per calcolare l'incertezza sul cadmio, il Laboratorio applica l'*approccio Olistico*, ovvero si utilizzano i risultati di una stessa prova eseguita in diversi laboratori con lo stesso metodo e sulla stessa matrice, in modo tale da poter considerare casuale la variabilità dei risultati dei singoli laboratori e poter così considerare le prove come indipendenti tra di loro. Considerando che l'incertezza coincide con la precisione dei singoli laboratori, è necessario valutare la riproducibilità del metodo, poiché questa tiene conto di tutte le variabili presenti.

Per quanto riguarda invece il calcolo dell'incertezza nell'analisi dell'arsenico inorganico, si utilizza la *Relazione di Horwitz*, poiché in questo caso non sono disponibili i dati di riproducibilità. Questa relazione matematica lega la concentrazione dell'analita al coefficiente di variazione percentuale. In questo caso viene fatto variare il fattore tempo.

Nel caso delle analisi prese in esame, essendoci dei limiti definiti per legge fissati senza un intervallo di incertezza e trovandosi quindi nel campo delle analisi di conformità, è necessario applicare le cosiddette *Regole decisionali*. È possibile però che il risultato analitico al quale è stata associata un'incertezza risulti discutibile se messo a confronto con il valore limite (VL) definito per legge. In tal caso si utilizza un criterio probabilistico, la *Guard-band (g)*:

$$g = k'_{0,95} \cdot u_{RdP}$$

$$u_{RdP} = \text{incertezza tipo di } R \text{ (RdP)}$$

$$k'_{0,95} = 1,645 \text{ (} v > 10 \text{)}$$

$$k'_{0,95} = k \text{ (} v \leq 10 \text{)}$$

$$u_{RdP} = \frac{U}{k}$$

$$U = \text{incertezza estesa}$$

$$k = \text{fattore di copertura}$$

A seguito dell'introduzione della *Guard-band (g)*, si procede quindi alla valutazione della conformità del risultato R, facendo riferimento alle casistiche riportate in Tabella 1.

Tabella 1. Casistiche relative alle analisi di conformità dei campioni con l'introduzione della Guard-Band.

$(R-VL)_{arr} \leq 0$	R non eccede il VL in quanto R si trova all'interno della zona di accettabilità
$(R-VL)_{arr} = 0$	Il VL potrà essere considerato «raggiunto»
$(R-VL)_{arr} > 0$ e $R-g-VL > 0$	Il misurando è maggiore del VL con una probabilità maggiore del 95%, si ha quindi la <i>non conformità</i> del campione al quale si riferisce il risultato della misura

Bibliografia

Regolamento (CE) N. 1881/2006 - Tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari.

Regolamento (UE) N. 488/2014- Modifica del regolamento (CE) N. 1881/2006.

Regolamento (UE) N. 2015/1006 - Modifica del regolamento (CE) N. 1881/2006.

Regolamento (UE) N. 2021/1323 - Modifica del regolamento (CE) N. 1881/2006.

Regolamento (UE) N. 2023/465 - Modifica del regolamento (CE) N. 1881/2006.

UNI EN 14083:2003 “Determinazione di elementi in tracce – Determinazione di piombo, cadmio, cromo e molibdeno mediante spettrometria ad assorbimento atomico con forno di grafite dopo digestione sotto pressione”.

UNI CEN/TS 16731:2014 “Determinazione dei composti dell'arsenico reagenti all'idruro nel riso mediante spettrometria ad assorbimento atomico (AAS-idruro) in seguito di estrazione acida”.

ISPRA – L'analisi di conformità con i valori di legge: il ruolo dell'incertezza associata a risultati di misura.

Aspetti normativi relativi alla qualità del granello di riso: il DLgs 131/2017 e la norma ISO 7301

E. Fantozzi, F. Trivero, A. Carnia, C. Simonelli*

Centro Ricerche sul Riso (CRR), Ente Nazionale Risi, Strada per Ceretto 4, 27030 Castello d'Agogna (PV).

*E-mail: e.fantozzi@enterisi.it

Abstract

2017 was a turning point in the Italian rice market with the introduction of Legislative Decree 131/2017, aimed at ensuring transparency and support for consumers. The decree focuses on the over 300 rice varieties registered with the Ente Nazionale Risi (ENR), placing particular emphasis on historic varieties such as Arborio and Carnaroli. Only those following a strict supply chain can be labeled as *classic*. The decree also distinguishes *traditional* varieties, which are similar to the classics but with specific characteristics, and *generic* varieties, categorized based on physical parameters. Additionally, it establishes quality requirements for processed rice, including controls according to ISO standard 7301, to ensure that the final product meets high standards.

Riassunto

Il 2017 ha segnato una svolta nel mercato del riso italiano con l'introduzione del Decreto Legislativo 131/2017, che mira a garantire trasparenza e supporto ai consumatori. Il decreto si concentra sulle oltre 300 varietà di riso registrate presso l'Ente Nazionale Risi (ENR), ponendo particolare attenzione alle varietà storiche come Arborio e Carnaroli. Solo quelle che seguono un rigoroso percorso di filiera possono essere etichettate come *classico*. Il decreto distingue anche varietà *tradizionali*, simili alle classiche ma con caratteristiche specifiche, e varietà *generiche*, categorizzate in base a parametri fisici. Inoltre, stabilisce requisiti qualitativi per il riso lavorato, inclusi controlli secondo la norma ISO 7301, per garantire che il prodotto finale soddisfi standard elevati.

Introduzione

Al fine di procedere alla commercializzazione del riso su territorio italiano, occorre che esso sia conforme alla Legge del Mercato Interno (DLgs 131/2017) che ne stabilisce le regole di etichettatura e i criteri di qualità merceologica.

Attività di controllo qualità

La qualità dei campioni di riso posti in commercio deve essere conforme ai dettami riportati nell'Allegato 4 del DLgs 131/2017 (Tabella 1), ovvero devono essere rispettati i limiti di legge, considerando che il campione oggetto dell'analisi risulta irregolare se il dato analitico supera il rispettivo valore massimo, senza tenere conto dell'incertezza di misura. La determinazione viene effettuata secondo la norma ISO 7301.

Tabella 1. Allegato 4 del DLgs 131/2017 nella quale vengono definiti i limiti di legge riguardanti le caratteristiche qualitative per riso e riso parboiled.

ALLEGATO 4

(Previsto dall'articolo 4 comma 2)

Caratteristiche qualitative per il riso e il riso parboiled (valori massimi)

Categorie ¹	%
grani rotti o rotture	5,00
grani striati e/o pigmentati ²	3,00
grani gessati	4,50
grani danneggiati	2,50
grani danneggiati da calore ³	0,05 ⁴
grani immaturi, malformati e grani di altre varietà ^{3,5}	10,00
<i>di cui grani di altre varietà</i>	5,00
grani parboiled ³	0,10
grani non parboiled ^{3,6}	0,10
peck ^{3,6}	1,00
materie estranee commestibili	0,10
materie estranee non commestibili, non tossiche	0,01
coefficiente di variazione della lunghezza dei grani ⁷	5,0

¹ Le definizioni sono riportate nell'allegato 1. Non si applicano alle miscele di riso di cui all'articolo 3, comma 7.

² Se la percentuale è > al valore massimo, la denominazione dell'alimento deve riportare l'indicazione «ostigliato».

³ Per il riso integrale la determinazione è effettuata dopo la lavorazione del grano.

⁴ Per le varietà Basmati e Jasmin il valore massimo è 0,50.

⁵ La presenza di grani di altre varietà è determinata solo per le denominazioni di cui all'articolo 5 e per le denominazioni di cui all'articolo 3, comma 3.

⁶ Si applica al riso parboiled.

⁷ Si applica alla determinazione delle caratteristiche biometriche dei grani, ai fini della classificazione di cui all'articolo 3, comma 1.

Diverse varietà e diverse tipologie di riso

Il riso viene suddiviso in base alla varietà alla quale appartiene (Tabella 2).

Le *varietà tradizionali*, similari come tipologia di granello alle classiche, sono iscritte al Registro Varietale detenuto da Ente Nazionale Risi.

Anche le *varietà generiche* sono elencate nel Registro Varietale, le caratteristiche sono suddivise in base alle loro tipologie e recanti la loro caratterizzazione morfologica.

Il Registro Varietale viene aggiornato annualmente, con l'inserimento delle nuove varietà iscritte.

Le *varietà classiche* restano sempre tali, a meno di nuova introduzione prevista da un iter ministeriale specifico.

È prevista la commercializzazione del riso nelle sue diverse forme edibili: semigreggio o integrale, semilavorato, lavorato o bianco. Tutte le forme possono essere anche sottoposte a processo di parboilizzazione, con difetti e limiti specifici per il loro controllo qualità.

Tabella 2. Suddivisione delle diverse varietà di riso.

Varietà classiche (con anno di iscrizione)	Varietà generiche	Varietà tradizionali
<ul style="list-style-type: none"> • Arborio classico (1945) • Roma / Baldo classico (1962) • Carnaroli classico (1945) • Ribe classico (1961) • Vialone nano classico (1937) • S. Andrea classico (1968) 	<ul style="list-style-type: none"> • Riso a grani Lunghi A • Riso a grani Lunghi B • Riso a grani Medi • Riso a grani Tondi 	<ul style="list-style-type: none"> • Arborio • Roma / Baldo • Carnaroli • Ribe • Vialone nano • S. Andrea

La filiera del classico

Al fine di poter aderire alla filiera del classico e mettere in commercio le varietà Arborio, Roma/Baldo, Carnaroli, Ribe, Vialone nano e S. Andrea seguiti dalla denominazione “classico”, occorre aderire alla filiera specifica, vigilata da Ente Nazionale Risi, che è l'organismo di controllo incaricato.



Figura 1. Iter previsto per l'adesione alla filiera del classico.

I controlli

Ente Nazionale Risi ha accordi di collaborazione con l'Ispettorato Centrale della Tutela della Qualità e della Repressione Frodi dei prodotti agroalimentari (ICQRF), con i Carabinieri di Tutela Agroalimentare e con AGEA per verificare l'idonea qualità dei prodotti posti in commercio su scala nazionale.

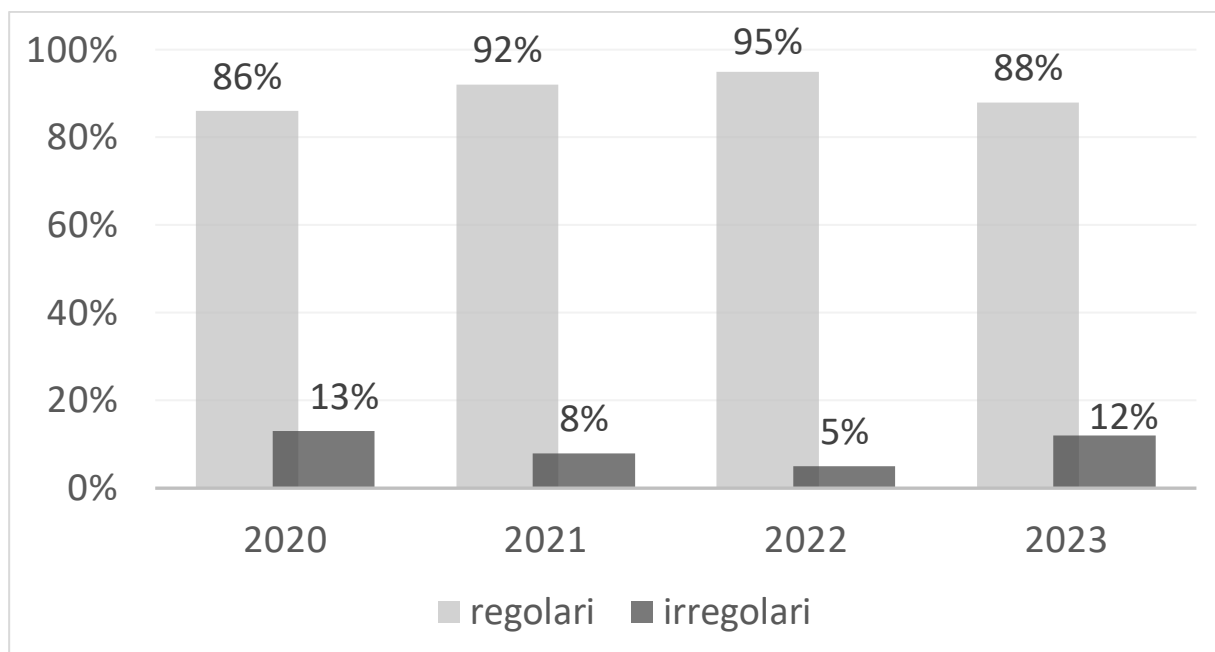


Figura 2. Risultati espressi come percentuale di campioni regolari e irregolari, a seguito dei controlli condotti dal 2020 al 2023 dall'Ispettorato Centrale della Tutela della Qualità e della Repressione Frodi dei prodotti agroalimentari.

Bibliografia

DLgs 131/2017 Disposizioni concernenti il mercato interno del riso, in attuazione dell'articolo 31 della legge 28 luglio 2016, n. 154.

Regolamento (UE) N. 1308/2013 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 17 dicembre 2013 (e successivi aggiornamenti) recante organizzazione comune dei mercati dei prodotti agricoli e che abroga i regolamenti (CEE) n. 922/72, (CEE) n. 234/79, (CE) n. 1037/2001 e (CE) n. 1234/2007 del Consiglio

UNI ISO 7301:2021 "Riso – Specifiche"

Relazioni annuali ICQRF

Applicazione dell'analisi di identificazione varietale genetica all'analisi delle diverse varietà di riso

F. Trivero, E. Fantozzi, C. Cattaneo, A. Carnia, C. Simonelli*

Centro Ricerche sul Riso (CRR), Ente Nazionale Risi, Strada per Ceretto 4, 27030 Castello d'Agogna (PV).

*E-mail: f.trivero@enterisi.it

Abstract

The Internal Market Law (Legislative Decree 131/2017) requires a registry of rice varieties, updated annually by Ente Nazionale Risi, documenting the morphological characteristics of individual varieties. Italian law prohibits the commercialization of mixtures of different varieties, with a maximum tolerance of 5%. However, morphological identification of varieties, especially traditional ones within the same group, is complex and not always accurate. To address these challenges, the Laboratory of Ente Nazionale Risi's Research Center has developed and accredited a genetic varietal identification method based on SNP¹ molecular markers. This method allows for the genetic discrimination of 30 rice varieties, creating a reference "genetic library." The method, validated according to ISO 13495 and accredited by Accredia in 2023, will be expanded in 2024-2025 to include new varieties from the "round" group, with the future goal of also identifying the percentage composition of varieties in mixtures.

Riassunto

La Legge del Mercato Interno (DLgs 131/2017) prevede un registro delle varietà di riso, aggiornato annualmente dall'Ente Nazionale Risi, che documenta i caratteri morfologici delle singole varietà. La legge italiana vieta la commercializzazione di miscele di varietà diverse, con una tolleranza massima del 5%. Tuttavia, l'identificazione morfologica delle varietà, soprattutto quelle tradizionali dello stesso gruppo, è complessa e non sempre precisa. Per superare queste difficoltà, il Laboratorio del Centro Ricerche dell'Ente ha sviluppato e accreditato un metodo di identificazione varietale genetica basato su marcatori molecolari SNP (*Single Nucleotide Polymorphism* o Polimorfismo a singolo nucleotide). Questo metodo consente di discriminare geneticamente 30 varietà di riso, creando una "libreria genetica" di riferimento. Il metodo, validato secondo la norma ISO 13495 e accreditato Accredia nel 2023, verrà ampliato nel 2024-2025 per includere nuove varietà del gruppo "tondi", con l'obiettivo futuro di identificare anche la composizione percentuale delle varietà nelle miscele.

Introduzione

La Legge del Mercato Interno (D.Lgs. 131/2017) prevede che l'Ente Nazionale Risi annualmente rediga il «Registro Varietale», contenente tutti i caratteri morfologici delle varietà italiane di riso. L'analisi visiva di riconoscimento su riso lavorato non sempre permette di discriminare morfologicamente tra loro, o rispetto alla rispettiva varietà classica, le varietà tradizionali appartenenti ad uno stesso gruppo (S. Andrea, Ribe, Carnaroli, Roma o Baldo, Arborio e Vialone Nano).

Il Laboratorio di Chimica, Merceologia e Biologia Molecolare del Centro Ricerche sul Riso (LCM-BM-CRR)² dell'Ente Nazionale Risi ha quindi sviluppato, validato ed accreditato un metodo per l'identificazione varietale genetica delle varietà Classiche e Tradizionali basato

sullo studio di marcatori molecolari SNP (Polimorfismi a Singolo Nucleotide) secondo la norma ISO 13495. Lo scopo del lavoro è stato quello di riuscire a discriminare geneticamente 30 varietà: 6 classiche, 23 tradizionali ed una varietà appartenente al gruppo “tondi”.

Tabella 1. Caratteri morfologici descritti nel D.Lgs 131/2017 per le varietà Classiche.

D.Lgs. 4 agosto 2017, n. 131 DENOMINAZIONI DELL'ALIMENTO						
Caratteristiche del granello	Riso Arborio	Riso Roma o Riso Baldo	Riso Carnaroli	Riso Ribe	Riso Vialone nano	Riso S. Andrea
Lunghezza (mm)	6,6 ÷ 7,2	6,4 ÷ 7,2	6,5 ÷ 7,0	5,8 ÷ 6,8	5,4 ÷ 5,8	6,2 ÷ 6,7
Larghezza (mm)	3,2 ÷ 3,4	2,9 ÷ 3,1	2,9 ÷ 3,1	2,4 ÷ 2,8	3,2 ÷ 3,5	2,9 ÷ 3,1
Rapporto lunghezza/larghezza	2,0 ÷ 2,2	2,2 ÷ 2,4	2,2 ÷ 2,3	2,0 ÷ 2,7	1,6 ÷ 1,8	2,1 ÷ 2,3
Consistenza (kg/cm ²)	0,65 ÷ 0,80	0,60 ÷ 0,80	≥0,85	-	≥0,85	0,60 ÷ 0,75
Perla	molto estesa	da poco a molto estesa	molto estesa	-	molto estesa	poco estesa

Messa a punto e validazione del metodo

L'analisi di sequenziamento Illumina e l'analisi bioinformatica dei risultati hanno consentito di confrontare le informazioni genetiche delle 30 varietà con il genoma di riferimento di riso (Nipponbare) e ottenere così un panel di 301 SNP in grado di discriminare tutte e 30 le varietà indagate, rendendo possibile la costituzione di un “database genetico”. Le stesse 30 varietà sono state nuovamente analizzate ed i risultati hanno confermato il potere discriminatorio dei SNP scelti. Il metodo è stato quindi validato in accordo con la norma ISO 13495 e, a partire da inizio 2023, accreditato Accredia.

Analisi genetica varietale su campioni di riso

Il lavoro è stato effettuato eseguendo i passaggi di seguito elencati:

1. Analisi dei difetti e macinazione: il campione di riso viene inizialmente epurato dei difetti secondo il D.Lgs. 131/2017, quindi macinato ed omogeneizzato.
2. Estrazione del DNA: da una porzione del campione viene estratto il DNA e successivamente la sua qualità e quantità vengono valutate mediante fluorimetro e biofotometro.
3. Preparazione della library: le sequenze nucleotidiche di interesse, contenenti gli SNP utili per l'identikit, vengono amplificate, indicizzate e purificate, per ottenere la library del campione. La library viene analizzata qualitativamente e quantitativamente prima di effettuare l'analisi di sequenziamento.
4. Sequenziamento: il sequenziamento viene effettuato mediante lo strumento Illumina MiSeq, dotato di un sistema di «cattura immagine» utile per decodificare la sequenza nucleotidica dei vari frammenti che costituiscono la library del campione. Le sequenze nucleotidiche così ottenute vengono salvate in file di testo in formato FASTQ.

- Analisi bioinformatica dei dati: i file FASTQ vengono analizzati mediante una pipeline bioinformatica che estrapola gli SNP dalle sequenze della library del campione e li confronta con il database genetico delle varietà. Al termine dello screening viene emesso un report in cui vengono evidenziati tutti gli SNP che il campione in esame non condivide con ognuna delle varietà a database. Un esempio di risultato è riportato in Figura 1.

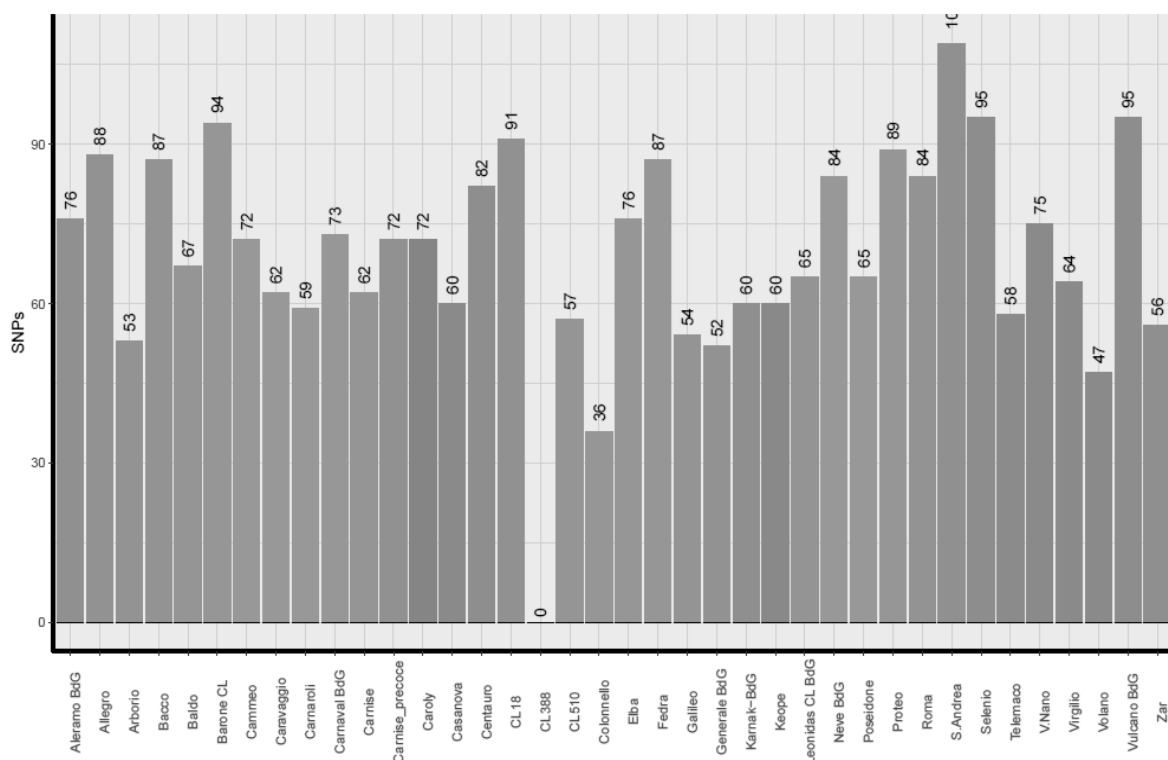


Figura 1. Esempio di risultato analitico di un campione: confronto del campione con il database genetico varietale. Nel grafico viene riportato, per ogni varietà a database, il numero di SNP per i quali il campione risulta incompatibile. L’esito dell’analisi è dunque positivo se si riscontra l’assenza di incompatibilità tra gli SNP del campione in analisi e quelli di una o più varietà a database. Nel caso riportato in figura, il campione incognito viene attribuito alla varietà di riso denominata “CL388” poiché non si riscontrano incompatibilità.

Prospettive per il futuro

Le prospettive di sviluppo dell’analisi nel prossimo biennio (2024-2025) riguarderanno l’ampliamento del database genetico mediante l’introduzione del gruppo “tondi”. Un altro interessante obiettivo sarà l’identificazione delle singole varietà presenti in miscela e la loro relativa abbondanza percentuale, implementando così al carattere qualitativo dell’analisi anche quello quantitativo.

Bibliografia

- Decreto Legislativo 4 agosto 2017, n. 131, “Disposizioni concernenti il mercato interno del riso”, in attuazione dell’articolo 31 della legge 28 luglio 2016, n. 154. (17G00145).
 ISO 13495:2013, Foodstuffs, “Principles of selection and criteria of validation for varietal identification methods using specific nucleic acid”.
 Registro Varietale D.L. 131/2017.

L'importanza dei dati storici: 20 anni di studio sulla collezione di riso del CREA-CI

F. Sansoni^{1*}, L. Sena^{1,2}, M. Canella¹, P. Vaccino¹

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Strada Statale 11 per Torino km 2,5, 13100 Vercelli (VC).

²Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli studi di Modena e Reggio Emilia, Via Mendola 2, 42122 Reggio Emilia (RE).

*E-mail: francesca.sansoni@crea.gov.it

Abstract

Genebanks, other than their pivotal role as diversity conservation repository, regenerate every year part of their collection to maintain their material in optimal conditions. During regeneration cycles, morpho-physiological data are collected, contributing to the creation of large datasets that offer a valuable resource of information. The *ex-situ* collection of rice (mainly *Oryza sativa* L. subgroup japonica) held at the Research Centre for Cereal and Industrial Crops (CREA-CI) of Vercelli is quite unique in Italy and its establishment dates back to the beginning of the 20th century. The collection is hereby presented through the analysis of 21 years of historic data, from 2001 to 2022, in 17 different locations in Northern Italy, for a total of 6,592 entries, 677 genotypes analysed and 9 phenotypic traits under investigation. An R script has been developed to analyse the dataset. The BLUEs (Best Linear Unbiased Estimates) calculation, heritability, PCA analyses and correlation with weather data propose a comprehensive overview of the germplasm stored in the genebank. Great variability and phenotypic diversity were assessed, key aspects in the perspective of breeding programs. This work starts a re-evaluation of historic data, historic cultivars, and represents the first step towards the shift of the genebank to a bio-digital resource centre.

Riassunto

Le banche del germoplasma devono periodicamente rigenerare i materiali in esse conservati per il mantenimento della loro capacità germinativa. Durante questi cicli di moltiplicazione vengono annotati dati morfo-fisiologici che vengono normalmente raccolti in database, come quello presente al Centro di Ricerca di Cerealicoltura e Colture Industriali (CREA-CI) di Vercelli, attivo dall'inizio del XX secolo, che contiene le informazioni relative alla sua collezione di riso (principalmente *Oryza sativa* L. japonica). La collezione viene qui presentata attraverso l'analisi dei dati storici relativi a 21 anni di attività, dal 2001 al 2022, in 17 località diverse del nord Italia, per un totale di 6592 *datapoint*, 677 genotipi e 9 tratti fenotipici sotto esame. Per avere una visione organica della collezione sono stati calcolati i BLUEs (*Best Linear Unbiased Estimates*), l'ereditabilità dei caratteri, è stata fatta l'analisi delle componenti principali (PCA); inoltre i dati sono stati messi in correlazione con i dati climatici delle singole località e anni agronomici, tramite uno script R sviluppato appositamente. Lo studio ha descritto una grande variabilità e diversità fenotipica della collezione, un aspetto fondamentale per i programmi di breeding. Questo lavoro ha lo scopo di rivalutare i dati storici, le varietà storiche e vuole essere il primo passo verso il cambiamento da semplice banca del germoplasma ad un centro di risorse bio-digitali.

Introduzione

Il riso (*Oryza sativa* L.) è uno dei cereali più coltivati al mondo e metà della popolazione mondiale basa la propria dieta sullo stesso (Gutaker et al., 2020). L'Italia è il primo produttore di riso in Europa: nel 2022 ha prodotto 1.236.960 t su una superficie totale di 218.420 ha; nello stesso anno è stata anche il 14° esportatore mondiale con 12.193 t (FAOSTAT, n.d.; Muthayya et al., 2014). La Stazione Sperimentale di Riscicoltura, fondata nel 1908 a Vercelli, diventata poi nel 2015 Centro di Ricerca di Cerealicoltura e Colture Industriali (CREA-CI), si è imposta nel territorio per la ricerca sul riso, le sue collaborazioni internazionali e la sua vasta collezione. Presso il Centro è mantenuta una di riso che comprende un totale di 708 varietà, sviluppate dal 1829 al 2020, 3 specie diverse (*Oryza sativa* ssp. japonica, e ssp. indica, *O. glaberrima*, *O. rufipogon*), originarie di tutti i continenti, ma circa la metà delle varietà sono italiane. Le banche del germoplasma giocano un ruolo fondamentale nel mantenimento della diversità, cruciale per poter affrontare le sfide che il cambiamento climatico ci sta imponendo. In questo contesto il CREA-CI è coinvolto nel programma RGV-FAO, finanziato dal MASAF al fine di implementare l'*International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture* (ITPGRFA) (De Salvador et al., 2014). Per impostare programmi di breeding mirati è necessario conoscere al meglio il materiale di partenza: in questo contesto, lo scopo di questo lavoro è descrivere le performance delle diverse varietà in contesti ambientali, climatici e temporali diversi per avere una visione completa del materiale.

Materiali e metodi

I dati grezzi, più di 11.000 divisi su 209 diversi esperimenti, dopo essere stati curati manualmente, sono stati filtrati per scegliere solo esperimenti agronomicamente comparabili tra loro. Il dataset finale utilizzato in questo lavoro comprende di 6592 *datapoint* ed è relativo a 677 varietà coltivate nell'arco di 21 anni in 17 località diverse (Figura 1).

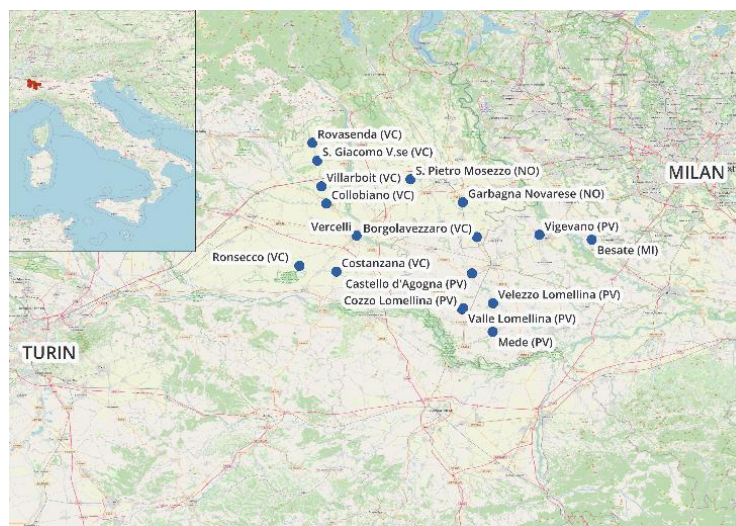


Figura 2. le località (pallini blu) dove sono state coltivate le varietà; alcuni esperimenti sono stati svolti più volte nella stessa località. nella sezione in alto a sinistra, le stesse località (pallini rossi) in una scala inferiore.

Sono stati analizzati 9 tratti fenotipici misurati secondo il protocollo di *Plant Trait Ontology* (Cooper et al., 2024): altezza (TO:0000207), produzione, fioritura (TO:0002616), maturazione (TO:0000933), giorni fioritura-maturazione, peso dei 1000 semi (TO:0000533); infezione da brusone (*Pyricularia oryzae*), mal del collo (*Magnaporthe grisea*) ed elmintosporiosi (*Bipolaris oryzae*), tutte misurate da 0 a 9, dove 0 è assenza di infezione e 9 è infezione severa. R e RStudio sono stati usati per questo lavoro e uno *script* è stato sviluppato appositamente. Usando il *Linear*

Mixed Model secondo il modello di Laird-Ware (Laird & Ware, 1982) sono state calcolate le varianze dei vari tratti e quindi sono stati individuati ed eliminati dal dataset gli *outliers* (Philipp et al., 2019). Il calcolo dell'ereditabilità è basato sul modello di Cullis; per il calcolo dei BLUEs (*Best Linear Unbiased Estimates*), per l'analisi delle componenti principali (PCA) e della matrice di correlazione sono stati usati vari pacchetti R (Bourke et al., 2021; Covarrubias-Pazarán, 2016; Lê et al., 2008). I dati climatici sono stati ottenuti da TerraClimate (Abatzoglou et al., 2018) e analizzati con QGIS (<https://qgis.org>).

Risultati e discussione

Le varietà in collezione hanno dimostrato grande variabilità per tutti i parametri analizzati (Tabella 1). I dati non sono distribuiti in maniera normale, come confermato in Tabella 1 dal test di normalità (*Anderson-Darling normality test*), dalla *skewness* (l'asimmetria della gaussiana) e *kurtosis* (la presenza o meno di code nella gaussiana) delle distribuzioni, ma quasi tutti i dati sono non-continui, quindi un risultato atteso.

Tabella 5. Descrizione statistica dei dati grezzi e dei dati corretti con la rimozione degli *outliers*. ^a prima della rimozione degli *outliers*; ^b dopo la rimozione degli *outliers*. Per il test di normalità viene qui mostrato il *p*-value.

Parametro	N. di anni ^{a,b}	N. di entries ^a	Ereditabilità ^a (h ²)	N. di entries ^b	Ereditabilità ^b (h ²)	Test di normalità ^b	Skewness ^b	Kurtosis ^b
Fioritura	18	6.317	0,75	6.293	0.86	2,2 e ⁻¹⁶	0,64	0,92
Maturazione	19	6.371	0,54	6.358	0.71	2,2 e ⁻¹⁶	0,09	1,43
Fioritura-Maturazione	18	6.194	0,46	6.191	0.61	1,2 e ⁻¹³	-0,03	0,57
Altezza	19	5.531	0,85	5.511	0.94	2,2 e ⁻¹⁶	0,65	0,7
Infezione da <i>Magnaporthe</i>	15	3.902	0,23	3.860	0.39	2,2 e ⁻¹⁶	1,59	2,65
Infezione da <i>Bipolaris</i>	15	2.982	0,08	2.966	0.41	2,2 e ⁻¹⁶	0,7	0,43
Infezione da <i>Pyricularia</i>	17	4.224	0,23	4.202	0.39	2,2 e ⁻¹⁶	1,31	2,23
Resa	16	2.393	0,77	2.393	0.77	2,2 e ⁻¹⁶	-0,39	-0,37
Peso 1000 semi	5	2.283	0,89	2.216	0.96	2,2 e ⁻¹⁶	0,41	-0,12

L'ereditabilità (h²) in generale aumenta dopo la rimozione dei dati aberranti ed è molto alta per parametri come fioritura, altezza della pianta e peso dei 1000 semi (Sun et al., 2014; Zhao et al., 2023.), ma bassa per la suscettibilità alle malattie. Come discusso in lavori precedenti, la resistenza alle malattie ha basi genetiche ma è fortemente influenzata dalle condizioni meteorologiche, come confermato anche in questo lavoro dai risultati della PCA in Figura 3: temperature e piovosità hanno influenzato l'incidenza media delle malattie. Le infezioni fungine hanno picchi positivi o negativi in diverse annate e in diverse località. Il range di produzione va da 0.4 t/ha per le zone meno produttive a oltre 13 t/ha per le più produttive (dati non mostrati), confermando anche come ci siano zone dove la malattia è più presente che in altre, che spiega come ci siano zone dove la resa media è più alta. Il clima mostra una forte influenza anche sul ciclo delle piante: il tempo di maturazione è risultato inversamente proporzionale alle piogge del periodo aprile-ottobre. Come atteso, la produzione è influenzata negativamente dalle malattie.

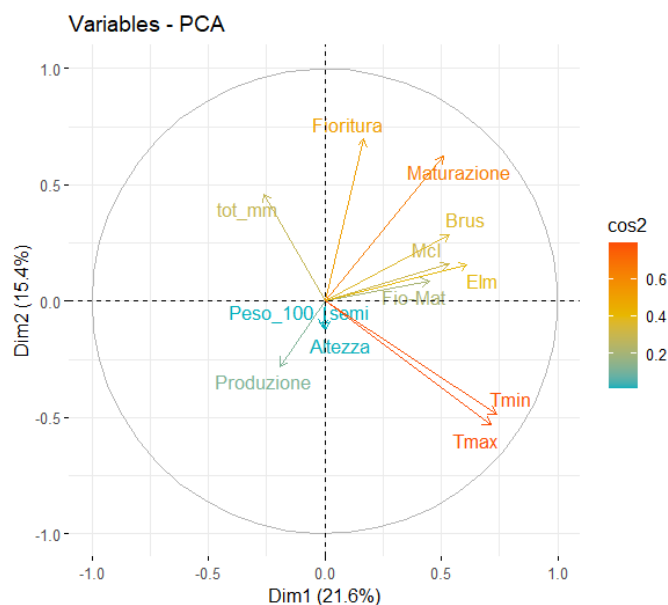


Figura 3. Analisi delle Componenti Principali (PCA). Il grafico mostra la percentuale di varianza per ogni tratto fenotipico analizzato e per le variabili ambientali nelle prime due dimensioni. Mcl = Mal del collo (*Magnaporthe grisea*), Brus = Brusone (*Pyricularia oryzae*), Elm = Elmintosporiosi (*Bipolaris oryzae*).

L'incidenza e severità delle malattie sono risultate correlate alle temperature medie e alla piovosità, ma anche ai tempi di fioritura e maturazione. *Magnaporthe grisea* (mal del collo) è risultata correlata a *Pyricularia oryzae* (brusone) in quanto sono patogeni ecologicamente molto simili e filogeneticamente correlati, come confermato anche dalla matrice di correlazione (Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.). Il peso dei mille semi è risultato correlato all'altezza della pianta, come lo sono fioritura e maturazione.

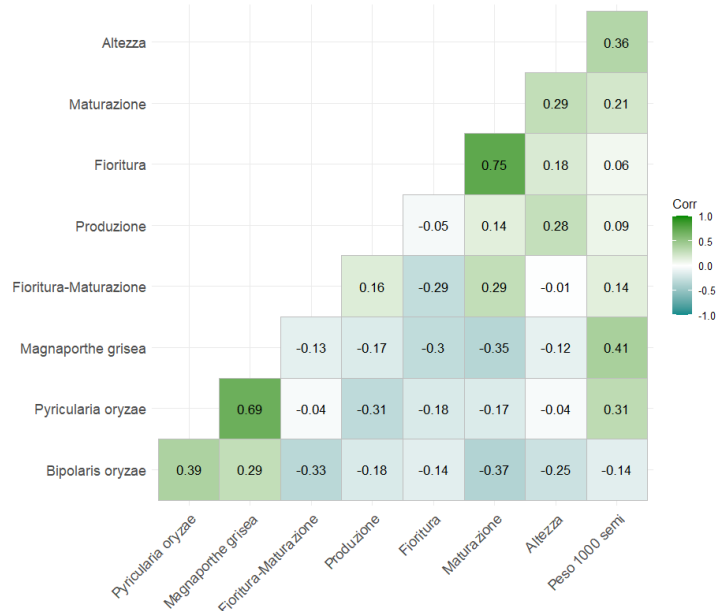


Figura 4. La matrice di correlazione Pearson tra le variabili fenotipiche in esame e idati climatici collezionati per ogni località ogni anno di esperimenti.

La collezione possiede un grande potenziale per programmi di breeding con la sua grande variabilità intrinseca, avendo analizzato varietà sia vecchie che recenti (la più vecchia è “Bertone” del 1829), provenienti da tutto il mondo che hanno mostrato *performance* molto diverse in campo. Questo lavoro è fondamentale per la rivalutazione dei dati storici ottenuti da varietà storiche e moderne; rappresenta inoltre il primo *step* per il passaggio da semplice

genebank a un centro di risorse bio-digitali, dove le informazioni e i dati raccolti negli anni vengono mantenuti in una forma accessibile e costantemente aggiornati, per poter essere sfruttati al massimo per lavori futuri, collaborazioni e per l'inserimento in database internazionali di più ampio rilievo. Per approfondire l'argomento, questo lavoro è stato pubblicato nel 2024 (Sansoni et al., 2024).

Bibliografia

- Gutaker R.M., Groen S.C., Bellis E.S., Choi J.Y., Pires I.S., Bocinsky R.K., Slayton E.R., Wilkins O., Castillo C.C., Negrão, S., et al. 2020. Genomic History and Ecology of the Geographic Spread of Rice. *Nat Plants* 6: 492-502, doi:10.1038/s41477-020-0659-6.
- Muthayya S., Sugimoto J.D., Montgomery S., Maberly G.F. 2014. An Overview of Global Rice Production, Supply, Trade, and Consumption. *Ann N Y Acad Sci*, 1324: 7-14, doi:10.1111/nyas.12540.
- FAOSTAT Available online: www.fao.org (accessed on 27 March 2024).
- De Salvador F.R., Fideghelli C., Engel P., Giorgioni M., Palombi M.A. 2014. PLANTA-RES, THE ITALIAN NATIONAL NETWORK ON PLANT GENETIC RESOURCES FOR FOOD AND AGRICULTURE. *Acta Hortic* 1032: 215-219, doi:10.17660/ActaHortic.2014.1032.29.
- Cooper L., Elser J., Laporte M.-A., Arnaud E., Jaiswal P. Planteome 2024 Update: Reference Ontologies and Knowledgebase for Plant Biology. *Nucleic Acids Res.*, 52: 1548-1555, doi:10.1093/nar/gkad1028.
- Laird N.M., Ware J.H. Random-Effects Models for Longitudinal Data; *Biometrics*. 1982 Dec; 38(4):963-74. PMID: 7168798.
- Philipp N., Weise S., Oppermann M., Börner A., Keilwagen J., Kilian B., Arend D., Zhao Y., Graner A., Reif J.C., et al. 2019. Historical Phenotypic Data from Seven Decades of Seed Regeneration in a Wheat Ex Situ Collection. *Sci Data* 6, 137: XX-XX doi:10.1038/s41597-019-0146-y.
- Bourke P.M., Voorrips R.E., Hackett C.A., Van Geest G., Willemsen J.H., Arens P., Smulders M.J.M., Visser R.G.F., Maliapaard C. 2021. Detecting Quantitative Trait Loci and Exploring Chromosomal Pairing in Autopolyploids Using PolyqtlR. *Bioinformatics* 37, 3822-3829, doi:10.1093/bioinformatics/btab574.
- Covarrubias-Pazaran G. 2016. Genome Assisted Prediction of Quantitative Traits Using the R Package *Sommer* PLoS ONE 11(6): 1-15.
- Lê S., Josse J., Husson F. 2008. FactoMineR : An R Package for Multivariate Analysis. *J Stat Softw* 25: XX-XX. doi:10.18637/jss.v025.i01.
- Abatzoglou J.T., Dobrowski S.Z., Parks S.A., Hegewisch K.C. 2018. TerraClimate, a High-Resolution Global Dataset of Monthly Climate and Climatic Water Balance from 1958-2015. *Sci Data* 5: XX-XX. doi:10.1038/sdata.2017.191.
- Sun C., Chen D., Fang J., Wang P., Deng X., Chu C. 2014. Understanding the Genetic and Epigenetic Architecture in Complex Network of Rice Flowering Pathways. *Protein Cell* 5: 889-898, doi:10.1007/s13238-014-0068-6.
- Zhao H., Fu Y., Zhang G., Luo Y., Yang W., Liang X., Yin L., Zheng Z., Wang Y., Li Z., Zhi H., Huang J., Tan Q., Bu S., Liu G., Wang S., Liu Z., GS6.1 controls kernel size and plant architecture in rice. 2023Pre-print available at [researchsquare.com](https://www.researchsquare.com) doi:10.21203/rs.3.rs-2616757/v1.
- Sansoni F., Sena L., Pozzi V., Canella M., Vaccino P. 2024. Rice Regeneration in a Genebank: 21 Years of Data. *Agronomy*, 2024: 1379. <https://doi.org/10.3390/agronomy>

A monte della riduzione di acrilammide in prodotti cerealicoli: esplorazione della variabilità allelica del gene asparagina sintetasi in frumenti a diverso livello di ploidia

C. Morcia^{1*}, R. Ghizzoni¹, V. Terzi¹, R.T. Gogam¹, E. Marconi², V. Turfani², V. Narducci², A. Raffo²

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Genomica e Bioinformatica, Via San Protaso 302, 29017 Fiorenzuola d'Arda (PC).

²Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Alimenti e Nutrizione, Via Ardeatina 546, 00178 Roma (RM)

*E-mail: caterina.morcia@crea.gov.it

Abstract

This research is part of the PRO-MITIGATION project "Cereal-based Processed Foods: Mitigation of Maillard Reaction Unintended Effects". The project aims to identify genotypes of autumn/winter cereals with low asparagine content to reduce the formation of acrylamide in bakery products like biscuits, which results from the Maillard reaction. Reducing free asparagine, the precursor of acrylamide, a suspected human carcinogen, is crucial for minimizing the levels of this harmful substance in finished products.

An objective of the work was to assess the genetic variability in the trait "free asparagine content" using molecular markers, to identify genotypes with low asparagine levels among widely grown wheat varieties. Specifically, markers targeting a deletion in the asparagine synthetase B2 gene were utilized to distinguish between genotypes with high and low asparagine content.

Riassunto

Questa ricerca fa parte del progetto PRO-MITIGATION "*Cereal-based Processed Foods: Mitigation of Maillard Reaction Unintended Effects*". Il progetto mira a identificare genotipi di cereali autunno-vernini con basso contenuto di asparagina per ridurre, in prodotti da forno quali i biscotti, la formazione di acrilammide derivante dalla reazione di Maillard. La riduzione dell'asparagina libera, precursore dell'acrilammide, sospetto cancerogeno per l'uomo, è fondamentale per limitare i livelli di questa sostanza nociva nei prodotti finiti. Uno degli obiettivi del lavoro è stato quello di valutare la variabilità genetica nel tratto "contenuto di asparagina libera" utilizzando marcatori molecolari, per identificare genotipi con bassi livelli di asparagina tra varietà di frumento ampiamente coltivate. In particolare, sono stati utilizzati marcatori che identificano una delezione nel gene dell'asparagina sintetasi B2 per distinguere genotipi ad alto e basso contenuto di asparagina.

Introduzione

I cereali a paglia (frumento, orzo, avena, segale e triticale) sono fondamentali per l'alimentazione umana e animale, essendo fonte di energia grazie al loro alto contenuto di carboidrati, quantità significative di proteine, fibre ed elementi essenziali come potassio, fosforo e magnesio. Il contenuto di aminoacidi liberi della cariosside del frumento ha recentemente suscitato un notevole interesse tra i genetisti a causa dei problemi di sicurezza alimentare associati all'asparagina libera. Questo aminoacido sottoposto ad elevate temperature reagisce con gli zuccheri riducenti per formare acrilammide e la sua concentrazione, nei prodotti a base di frumento, è il principale determinante di questa sostanza potenzialmente cancerogena per l'uomo (Mihalache e Dall'Asta, 2024). Per tale ragione è fondamentale riuscire a limitare i livelli di asparagina libera nel frumento per garantire la sicurezza alimentare.

Studi precedenti (Oddy *et al.*, 2021) hanno evidenziato come alcune accessioni di frumenti a basso contenuto in asparagina libera siano portatrici di una delezione naturale di circa 13 kb, nella famiglia genica dell'asparagina sintetasi, localizzata nel genoma B. Saggi PCR sono stati sviluppati con lo scopo di evidenziare in modo veloce e a basso costo la presenza di questa delezione, a sua volta predittiva di basso contenuto in asparagina libera. Partendo da queste evidenze, nell'ambito del progetto PRO-MITIGATION, è stata valutata la presenza/assenza della delezione in un ampio pool di frumenti. I marcatori molecolari impiegati hanno consentito di evidenziare una consistente variabilità allelica in una collezione di germoplasma di frumenti italiani a diverso livello di ploidia ed appartenenti a diverse finestre temporali di breeding. La famiglia genica dell'asparagina sintetasi svolge nel frumento un ruolo cruciale nel metabolismo dell'azoto, che è essenziale per la crescita e lo sviluppo delle piante. Gli enzimi dell'asparagina sintetasi catalizzano la conversione ATP-dipendente di aspartato e glutammina in asparagina e glutammato (Fig. 1). Questo processo è fondamentale per l'assimilazione e il trasporto dell'azoto all'interno della pianta.

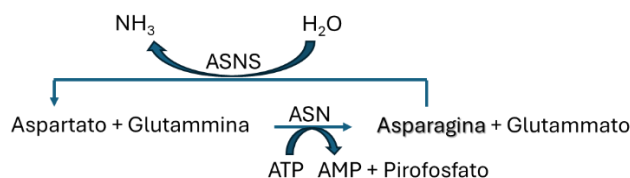


Figura 1. Asparagina e Gluttammato si formano da aspartato e glutammina in una reazione dipendente dall'ATP catalizzata dall'asparagina sintetasi (ASN). L'asparagina si scompone in aspartato in una reazione di idrolisi catalizzata dall'asparaginasi (ASNS), rilasciando ammoniaca (Oddy, 2023).

Nel frumento, la famiglia genica dell'asparagina sintetasi comprende più geni, ciascuno con ruoli e modelli di espressione specifici. La loro espressione è regolata da segnali di sviluppo e fattori ambientali come la disponibilità di azoto, la siccità e la salinità (Curtis *et al.*, 2020; Gaufichon *et al.*, 2010). Il gene TaASN-B2 è un membro della famiglia genica dell'asparagina sintetasi e svolge un ruolo fondamentale nel metabolismo dell'azoto, contribuendo alla sintesi dell'asparagina. Questo gene è localizzato sul genoma B, uno dei sottogenomi che costituiscono la struttura esaploide del tenero (A, B e D) e tetraploide del duro (A e B). L'identificazione della delezione naturale di TaASN-B2 nel frumento è stata condotta amplificando il DNA genomico con due coppie di primer sviluppati da Oddy *et al.* (2021). I genotipi di frumento privi di TaASN-B2 presentano una banda di 232 bp quando amplificati con ASN-B2-Deletion-F/R. I frumenti in cui la delezione è assente (gene integro) presentano una banda di 434 bp corrispondente al gene TaASN-B2 quando amplificati con primer ASN-2-Universal-F/R (Fig. 2).

Materiali e metodi

Materiali vegetali: 33 varietà di frumento tenero provenienti dalle “Prove Nazionali” dei campi sperimentali del CREA-GB di Fiorenzuola d’Arda (PC), annata agraria 2022-2023; 10 varietà di frumenti teneri antichi e 2 varietà di frumento duro provenienti dalla Valmarecchia, annata agraria 2019-2020 and 2017-2018; 23 popolazioni di Solina, frumento tenero antico proveniente dall’Abruzzo, annata agraria 2018-2019; 17 varietà di frumento duro appartenenti alle collezioni CREA-GB con diverse origini e annate agrarie.

Estrazione di DNA: Il DNA genomico è stato estratto dalla granella macinata con mulino Cyclotec (Foss Italia S.r.l., Padova, Italy), utilizzando Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen Italy, Milano, Italy)

PCR end-point: le amplificazioni sono state condotte utilizzando le coppie di primer ASN-B2-Deletion-F/ASN-B2-Deletion-R e ASN-2-Universal-F/ASN-2-Universal-R, sviluppate da Oddy et al. (2021). Le reazioni PCR sono state allestite in un volume finale di 20 μ L utilizzando reagenti GoTaq® Flexi (Promega), primers 250 mM e 20 ng di DNA stampo. Il protocollo di amplificazione ha previsto 5 minuti a 96°C (attivazione), 35 cicli a 96°C per 45 secondi (denaturazione), 60°C per 30 secondi (annealing) e 72°C per 1 minuto e 30 secondi (extension). Dopo una extension finale a 72°C per 10 minuti i campioni sono stati conservati a 4°C fino al momento di caricarli su gel di agarosio 1%.

Risultati e discussione

È noto che gli enzimi asparagina sintetasi catalizzano un passaggio critico nella biosintesi dell'asparagina. All'interno di questa famiglia, i geni TaASN2 sono altamente espressi durante lo sviluppo del frumento. Un aspetto interessante è che TaASN-B2 è assente in alcune varietà. Il test PCR-based sviluppato da Oddy *et al.* (2021) è stato utilizzato per testare varietà di frumento di interesse per gli ambienti italiani. In Fig. 2 è possibile vedere i risultati ottenuti per alcuni campioni di frumento tenero.

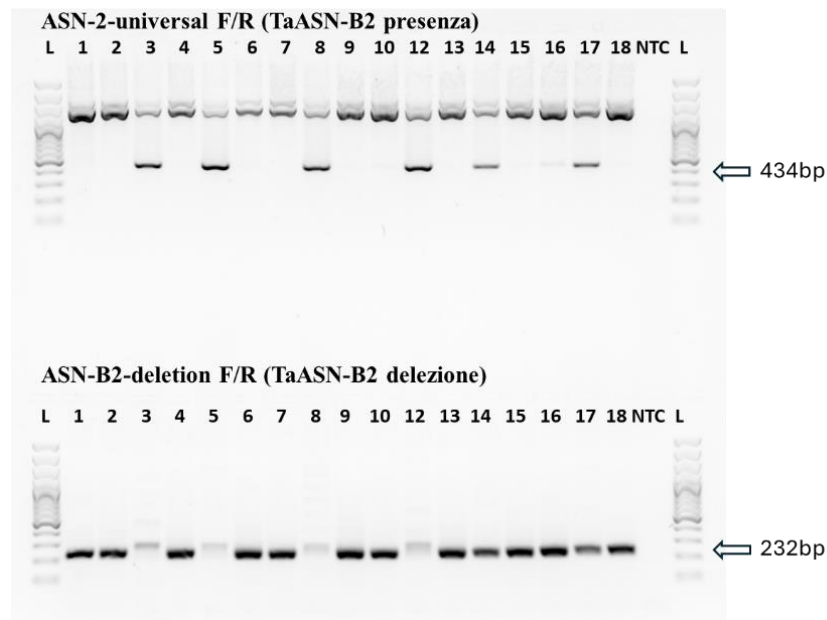


Figura 2. Esempio di output analitico ottenuto dall'analisi. Una banda di 434 bp con primer 'universale' indica la presenza del gene integro. Una banda di 232 bp con primer 'delezione' indica il gene deleto.

Dalle analisi complessive del frumento tenero (66 accessioni), la quantità di genotipi con delezione del gene TaASN-B2 è risultata essere del 74,6% rispetto al 25,4% con presenza completa del gene (Fig. 3), mentre nei frumenti duri analizzati (19 accessioni) non sono stati identificati genotipi con la delezione.

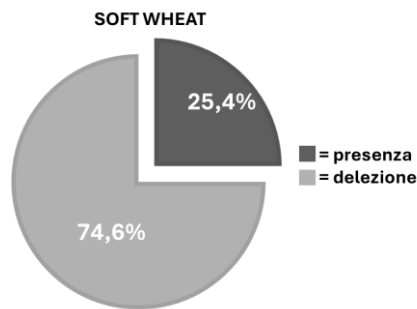


Figura 3. Percentuale dei genotipi di frumento tenero con presenza del gene TaASN-B2 e con delezione del gene.

Questo lavoro ha permesso, attraverso un'analisi PCR end-point a basso costo, di identificare frumenti con delezione del gene TaASN-B2 appartenente alla famiglia dei geni asparagina sintetasi. Questi genotipi, coltivati secondo buone pratiche agronomiche e in condizioni di sufficiente zolfo, potrebbero essere minori produttori di asparagina libera (Oddy, 2023). I marcatori molecolari impiegati hanno evidenziato una consistente variabilità allelica nella collezione di frumenti analizzata. La delezione del gene asparagina sintetasi B2 è risultata frequente anche nei frumenti antichi (31 accessioni analizzate), evidenziando come la mutazione abbia avuto origine molto tempo fa, mantenendosi durante il processo di domesticazione e breeding fino alle varietà ed accessioni più recenti. Questa delezione è associata ad una minore produzione di asparagina nei cereali e conseguente riduzione del contenuto di acrilammide nei prodotti derivati e processati ad alta temperatura. L'utilizzo di un test PCR, poco costoso e rapido, può supportare l'attività di breeding per selezionare varietà a minor contenuto di asparagina idonee per la produzione di prodotti da forno. L'obiettivo futuro è di esplorare nuovi genotipi ampliando lo studio intrapreso nell'ambito del progetto "Pro-Mitigation on Foods" al fine di selezionare un ampio numero di genotipi di frumento potenzialmente basso-produttori di asparagina da poter impiegare per preparazioni alimentari più sicure anche se sottoposte ad alte temperature di cottura.

Ringraziamenti

Il presente lavoro è stato svolto nell'ambito delle attività del progetto PRO-MITIGATION "SPOKE 4 ON FOODS" "Research and innovation network on food and nutrition Sustainability, Safety and Security" – Working ON FOODS".

Bibliografia

- Curtis T., Halford N.G., Powers S.J. 2020. Drought stress effects on free asparagine levels and associated gene expression in wheat. *Journal of Experimental Botany*, 71(16): 4755-4767.
- Gaufichon L., Reisdorf-Cren M., Rothstein S. J., Chardon F., Suzuki A. 2010. Biological functions of asparagine synthetase in plants. *Plant Science*, 179(3): 141-153.
- Mihalache O.A., Dall'Asta C. 2024. The burden of disease due to dietary exposure to acrylamide in Italy: A risk assessment-based approach. *Food and Chemical Toxicology*, 188: 114699.
- Oddy J., Alarcón-Reverte R., Wilkinson M., Ravet K., Raffan S., Minter A., Mead A., Stephen Elmore J., Moreira de Almeida I., Cryer N. C., N. G. Halford, Pearce S. 2021. Reduced free asparagine in wheat grain resulting from a natural deletion of TaASN-B2: investigating and exploiting diversity in the asparagine synthetase gene family to improve wheat quality. *BMC Plant Biology*, 21: 1-17.
- Oddy J. 2023. Genetic and agronomic control of free asparagine accumulation in wheat (*Triticum aestivum*). Doctoral dissertation, University of Reading.

Applicazione del telerilevamento satellitare per la valutazione della qualità e sanità dei cereali

R. Meloni*, A. Farbo, E. Borgogno-Mondino, A. Reyneri, M. Blandino

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO)

*E-mail: raffaele.meloni@unito.it

Abstract

Remote sensing allows crops monitoring through vegetation indices such as NDVI, NDRE and NDWI, strictly related to the development, nutritional status and water content, respectively. In the last years, lot of satellites constellations were launched, including Sentinel-2 which provides a global coverage every five days. For these reasons, satellite vegetation indices can be easily exploited for a large-scale application. The research was conducted in Piedmont between 2021 and 2023 by monitoring over 200 corn and wheat fields and investigating the correlation between vegetation indices and yield, quality (protein content and test weight) and sanitary (mycotoxins) aspects. High relation between NDVI and NDRE with corn and wheat yield was found. The single measurements at ripening show stronger correlation for wheat while for corn was better with the indices overall trend as the integral of the development curve. Weak correlation was discovered between indices and protein content or test weight. Finally, the mycotoxins content showed a relation with vegetation indices (particularly with NDVI and NDRE, weaker for NDWI) but an evaluation is needed depending on specific mycotoxin and crop management practices.

Riassunto

Il telerilevamento consente di monitorare lo sviluppo, lo stato nutrizionale e il contenuto idrico delle colture tramite indici vegetazionali quali NDVI, NDRE e NDWI. L'utilizzo di questi indici su larga scala è stato reso possibile negli ultimi anni da diverse costellazioni di satelliti quali Sentinel-2 che fornisce una copertura mondiale ogni cinque giorni. La ricerca è stata condotta in Piemonte tra il 2021 e 2023 monitorando più di 200 appezzamenti di mais e frumento e indagando la relazione tra degli indici vegetazionali e gli aspetti produttivi, qualitativi (contenuto proteico e peso ettolitrico) e sanitari (micotossine). La correlazione tra NDVI e NDRE con la produzione è risultata buona nonostante siano maggiormente correlate le singole misurazioni in maturazione per il frumento mentre per il mais l'andamento degli indici stessi inteso come integrale della curva di sviluppo. Proteine e peso ettolitrico non hanno evidenziano nessuna correlazione robusta con gli indici vegetazionali. Infine, le micotossine presentano una relazione con gli indici vegetazionali (in particolare con NDVI e NDRE, più limitata con NDWI) ma deve essere attentamente valutata in funzione dell'agrotecnica e della micotossina d'interesse.

Introduzione

Il telerilevamento ottico è una tecnica di analisi non distruttiva che si basa sull'osservazione di specifiche lunghezze d'onda dello spettro elettromagnetico e sulla loro combinazione per generare indici spettrali in grado di esprimere specifiche caratteristiche dell'oggetto preso in studio. Tra gli indici, i più diffusi risultano essere l'NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*), l'NDRE (*Normalized Difference Red-Edge Index*) e l'NDWI (*Normalized Difference Water Index*) i quali permettono di valutare rispettivamente lo sviluppo, lo stato nutrizionale e il contenuto idrico della coltura. Nell'ultimo decennio, l'accesso a tali indici su larga scala è

stato reso possibile grazie alle diverse costellazioni di satelliti che scansionano ad intervalli regolari l'intera superficie terrestre. In particolare, il satellite Sentinel-2 effettua una misurazione ogni cinque giorni con una risoluzione al suolo variabile tra i 10 e 60 m in funzione dell'indice (Delwart, 2015).

La disponibilità di tali informazioni in breve tempo e su superfici elevate ben si adatta ad un'applicazione su colture intensive quali i cereali (Atzberger, 2013). In un'ottica di gestione della filiera, l'utilizzo dell'indice appropriato può rappresentare uno strumento utile per la valutazione di aspetti produttivi (stime di resa), qualitativi e sanitari (micotossine) durante lo sviluppo della coltura, in modo tale da canalizzare il prodotto in fase di conferimento verso la corretta destinazione d'uso.

L'obiettivo di questo lavoro è quello di valutare le possibili relazioni tra indici vegetazionali satellitari e i parametri produttivi, qualitativi e sanitari di frumento e mais coltivati nell'areale piemontese al fine di trarre informazioni utili durante la campagna agraria per una corretta segregazione del prodotto in fase di conferimento e nella successiva filiera.

Materiali e metodi

La ricerca è stata condotta in 3 annate agrarie (dal 2021 al 2023) e ha riguardato sia frumento che mais. In totale sono stati monitorati più di 200 appezzamenti per coltura distribuiti nella pianura Piemontese, prendendo in considerazione i principali areali. Ogni appezzamento è stato trebbiato separatamente e la resa determinata pesando i singoli rimorchi. Contestualmente al conferimento del prodotto, un campione di granella è stato prelevato dal rimorchio per effettuare le analisi dei parametri qualitativi (proteine e peso ettolitrico per il frumento, solo peso ettolitrico per il mais). Un ulteriore campione di granella dal peso di 5 kg è stato prelevato e macinato al fine di valutare il contenuto di deossinivalenolo (DON) nel frumento in 50 appezzamenti mentre le fumonisine e le aflatossine sono state valutate in 80 situazioni agronomiche a mais.

Gli indici vegetazionali NDVI, NDRE e NDWI sono stati calcolati per tutto il ciclo colturale scaricando le opportune bande di riflettanza dall'apposito server (<https://scihub.copernicus.eu/dhus/#/home>) secondo le formule riportate in Tabella 1.

Tabella 1. Indici vegetazionali satellitari, relative formule, bande e lunghezze d'onda utilizzati nelle analisi

Indice Vegetazionale	Formula generale	Formula Sentinel-2 bande	Formula Sentinel-2 lunghezza d'onda
NDVI	$\frac{\text{NIR-RED}}{\text{NIR+RED}}$	$\frac{\text{B8-B4}}{\text{B8+B4}}$	$\frac{\rho_{842}-\rho_{665}}{\rho_{842}+\rho_{665}}$
NDRE	$\frac{\text{NIR-REDEGE}}{\text{NIR+REDEGE}}$	$\frac{\text{B8-B5}}{\text{B8+B5}}$	$\frac{\rho_{842}-\rho_{705}}{\rho_{842}+\rho_{705}}$
NDWI	$\frac{\text{NIR-SWIR}}{\text{NIR+SWIR}}$	$\frac{\text{B3-B11}}{\text{B3+B11}}$	$\frac{\rho_{560}-\rho_{1610}}{\rho_{560}+\rho_{1610}}$

L'analisi dei dati ha riguardato la correlazione attraverso il coefficiente r di Pearson tra i diversi indici vegetazionali nel corso del ciclo colturale e i parametri produttivi, qualitativi e sanitari. Gli indici sono stati testati sia in specifici momenti chiave del ciclo colturale sia considerando l'andamento dell'indice stesso inteso come l'integrale della curva definita dall'indice nel tempo tramite l'indicatore AUCDC (Area Under Canopy Development Curve, Capo et al., 2021). Infine, un'analisi di specifici casi studi è stata effettuata per meglio comprendere alcuni aspetti di rilievo legati alle micotossine.

Risultati e discussione

L'analisi della correlazione evidenzia una relazione maggiore della produzione con gli indici vegetazionali NDVI e NDRE (Fig. 1). Viceversa, l'NDWI non è risultato correlato in maniera significativa con la produzione. Per il frumento è stata osservata una generale migliore correlazione tra produzione e indice vegetazionale misurato durante uno specifico stadio (maturazione) mentre per il mais la relazione migliore è stata trovata con l'indice complessivo AUCDC. Inoltre, per il frumento si evidenzia un incremento del valore del coefficiente r di Pearson considerando una singola varietà in una determinata annata ($r = 0.878$) rispetto alla stessa varietà nel triennio di prove ($r = 0.696$) o al triennio di prove includendo tutte le varietà (0.304) (Fig. 1A, dati riferiti a NDVI). Questo implica una forte influenza sia dell'annata (sviluppo della coltura più o meno buono) che della varietà (colore fogliare e portamento) sui valori dell'indice e della produzione. Al contrario, per il mais (Fig. 1B) non è stato osservato questo andamento con valori pressoché costanti al variare della categoria considerata ($r \sim 0.600$), probabilmente dovuto alle minori differenze in termini di portamento e colore fogliare che si riscontrano nel mais rispetto al frumento.

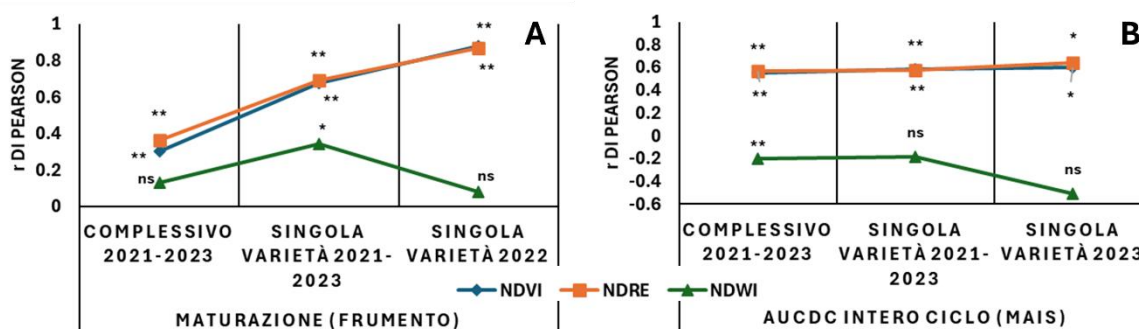


Figura 1. Variazione del coefficiente di correlazione r di Pearson tra produzione e indici vegetazionali NDVI, NDRE e NDWI misurati allo stadio di maturazione per il frumento (A) e come indice complessivo del ciclo colturale (indice AUCDC) per il mais (B) prendendo in considerazione tutti i casi agronomici investigati, o una selezione definita da una sola varietà e un solo anno.

Gli asterischi indicano la significatività della correlazione (**: $p < 0,01$, *: $p < 0,05$, ns: $p > 0,05$).

La medesima analisi, stata svolta per il contenuto proteico del frumento, il peso ettolitrico di entrambe le specie e il contenuto di micotossine (deossinivalenolo per il frumento, fumonisine e aflatossine per il mais) non ha portato a risultati ugualmente soddisfacenti (dati non presentati). I valori di correlazione ottenuti per il contenuto proteico e il peso ettolitrico sono risultati essere generalmente molto bassi e non significativi se non per qualche specifica varietà di frumento in funzione del contenuto proteico.

La relazione tra NDVI e NDRE con il contenuto di DON nel frumento presenta deboli ma significative correlazioni per gli indici misurati in maturazione ($r \sim 0.400$). Un ritardo nella chiusura del ciclo colturale (indice più elevato) predispone maggiormente la coltura all'attacco dei funghi e allo sviluppo di micotossine. La relazione tra indici vegetazionali e fumonisine e aflatossine sul mais è al contrario più variabile.

In Figura 2 viene riportato un caso studio sull'effetto dello stress idrico del mais nello stesso appezzamento durante le tre annate agrarie sull'indice NDVI, sulla produzione e sul contenuto di micotossine. Lo stress è stato indotto sfruttando la tessitura più sabbiosa della parte superiore del campo e riducendo l'irrigazione in modo da accentuare lo stress. Le immagini satellitari durante la maturazione evidenziano differenti valori dell'indice NDVI nelle due zone del campo, sottolineando una riduzione della biomassa fotosinteticamente attiva in quello stadio nella parte stressata. Nel 2022, annata più secca, lo stress idrico è risultato maggiore. Il grafico

riguardante l'AUCDC (Fig. 2D) evidenzia come lo sviluppo della coltura risulti inferiore nella parte del campo soggetta ad stress idrico ad eccezione del 2023 dove non si evidenziano differenze. Tale andamento si ripercuote sulle produzioni di granella, maggiori nella parte meglio irrigata (+2 t/ha, Fig. 2A) con assenza di differenze con la zona ben irrigata solo nel 2023. Per quanto riguarda il contenuto in fumonisine (Fig. 2B), la tendenza è simile a quella delle produzioni: il mais ben irrigato presenta uno *stay green* maggiore (dimostrato da un maggiore NDVI) che, al contrario della parte stressata, permette un maggiore sviluppo di *Fusarium spp.* Viceversa, lo stress idrico nella parte del mais con apporto idrico insufficiente predispone la coltura all'attacco di *Aspergillus spp.* portando a trovare tracce di aflatossine nella granella (Fig. 2C) nelle più calde annate 2022 e 2023.

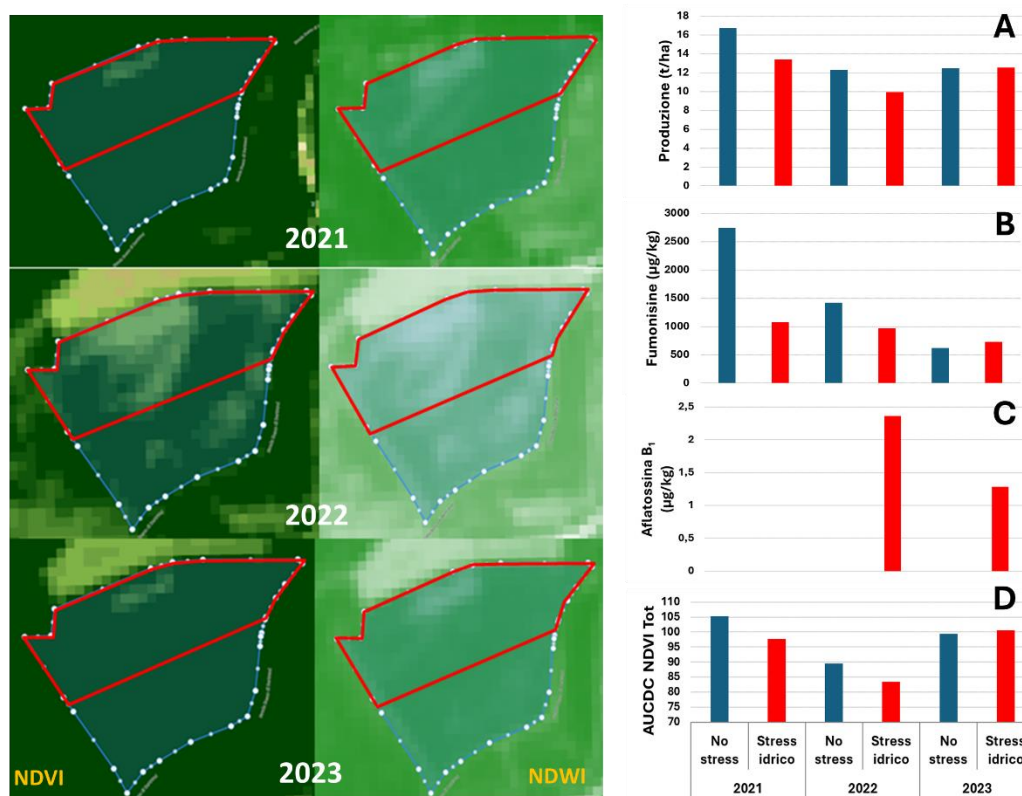


Figura 2. Immagini satellitari di NDVI e NDWI di un campo di mais in maturazione negli anni 2021-23. In rosso area soggetta a stress idrico, in blu area ben irrigata. A pixel più chiari corrispondono valori dell'indice più bassi.

Gli istogrammi riportano le produzioni (A), contenuto di fumonisine (B), aflatossine (C) e AUCDC (integrale della curva dell'indice) calcolato a partire dalla fioritura (D) nelle 3 annate di sperimentazione

Un secondo caso studio condotto su mais, ha riguardato gestioni di fertilizzazione e irrigazione differenti. In particolare, nella tesi “fertirrigazione” i concimi azotati e l’acqua sono stati distribuiti gradualmente lungo il ciclo tramite un impianto di microirrigazione con ale gocciolanti; nella tesi “manichetta”, l’acqua è stata gestita nella modalità precedente, mentre il concime azotato ureico è stato distribuito in unica soluzione alla levata; infine, nella tesi “scorrimento”, l’acqua viene apportata con irrigazioni meno frequenti per sommersione e il concime in copertura come urea in unica soluzione. Le diverse pratiche agronomiche si ripercuotono sull’andamento dell’NDVI (Fig. 3): la soluzione con fertirrigazione porta ad ottenere uno *stay green* maggiore seguito dalla gestione della sola acqua a manichetta e dalla

condizione a scorrimento, che presenta anche uno sviluppo globale della coltura inferiore. La lunghezza maggiore del ciclo colturale della tesi con fertirrigazione si traduce in un maggiore contenuto di fumonisine, con valori che sono del 50% più alti di quelli della gestione a scorrimento.

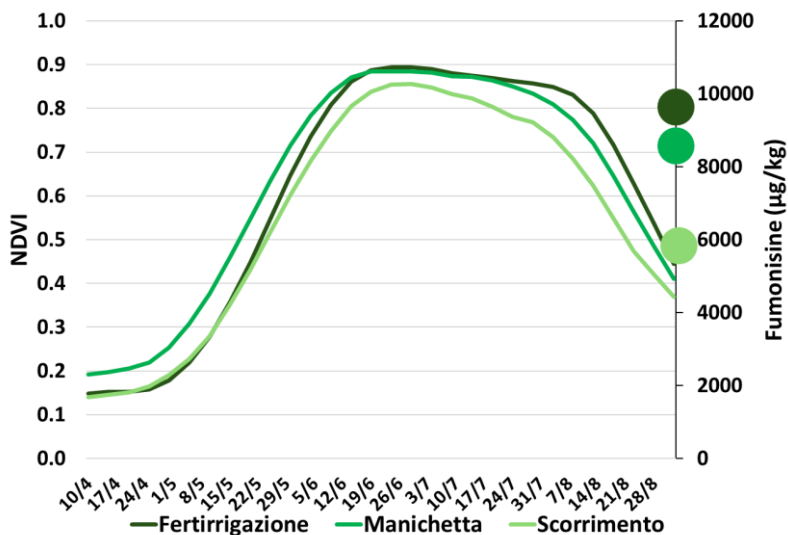


Figura 3. Andamento dell'indice NDVI del mais irrigato in modalità differenti e relativo contenuto di micotossine (punti su asse destro).

L'interpretazione del dato satellitare per la gestione delle micotossine va dunque valutata in funzione della micotossina di interesse e di altri fattori come, ad esempio, il trattamento insetticida che può portare ad un prolungamento dello *stay green* ma anche una contemporanea riduzione delle micotossine.

Pertanto, il telerilevamento può rappresentare uno strumento importante di gestione non solo agronomica delle colture, ma anche della gestione delle filiere produttive, fornendo indicazioni agli operatori dei centri di raccolta per operare le opportune segregazioni di partite con differenti livelli qualitativi e sanitari.

Bibliografia

- Atzberger, C., 2013. Advances in remote sensing of agriculture: Context description, existing operational monitoring systems and major information needs. *Remote sensing*. 5, 949–981. <https://doi.org/10.3390/rs5020949>.
- Capo, L., Blandino, M., 2021. Minimizing Yield Losses and Sanitary Risks through an Appropriate Combination of Fungicide Seed and Foliar Treatments on Wheat in Different Production Situations. *Agronomy* 11(4), 725. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040725>
- Delwart, S. 2005. SENTINEL-2 User Handbook. European Space Agency. Available from: <https://earth.esa.int/documents>.

Cottura degli spaghetti: induzione o microonde?

A. Cimini, L. Morgante*, M. Moresi

Dipartimento per l'Innovazione nei sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali, Università della Tuscia, Via S. C. de Lellis, 01100 Viterbo (VT).

*E-mail: lorenzo.morgante@unitus.it

Abstract

In this study, commercial spaghetti was cooked using an eco-sustainable cooker (EPC) previously developed and a home microwave (MW) oven to assess its cooking quality and energy consumption. When using a cooking water-to-pasta ratio of 10 or 5 L/kg, spaghetti cooked in 14 or 12 min with an energy consumption of 1.53 ± 0.02 or 0.92 ± 0.01 kWh/kg in the EPC, but in 18 or 15 min with an energy consumption of 2.6 or 2.1 kWh/kg in the MW oven, respectively. Cooking with a smart cooker such as the EPC and a water/pasta ratio of 5 L/kg was by far more sustainable not only than MW cooking, but also than the modality recently suggested by the Italian Food Union.

Riassunto

In questo studio si sono confrontati la qualità di cottura di spaghetti commerciali ed i consumi energetici associati all'uso di un cuocitore eco-sostenibile (EPC), previamente sviluppato, e di un forno a microonde casalingo. Nel caso di un rapporto acqua/pasta di 10 o 5 L/kg, la cottura nell'EPC ha richiesto 14 o 12 min con un consumo energetico di $1,53\pm 0,02$ o $0,92\pm 0,01$ kWh/kg, mentre nel forno a microonde ha richiesto 18 o 15 min con un consumo energetico di circa 2,6 o 2,1 kWh/kg. La cottura con un cuocitore smart come l'EPC e un rapporto acqua/pasta di 5 L/kg è risultata nettamente più sostenibile non solo della cottura a microonde, ma anche delle modalità recentemente suggerite dall'Unione Italiana Food.

Introduzione

La cottura della pasta è un processo che richiede una considerevole quantità di energia e ciò contribuisce in modo significativo all'impronta di carbonio dalla produzione al consumo di pasta secca (Barilla, 2017; Cimini et al., 2020a). Ad es., per cuocere 1 kg di pasta secca in 10 L di acqua per un tempo di 9 min nei fornelli a gas od elettrici casalinghi si consumano 2,25 kWh, di cui 1,8 kWh per far bollire l'acqua e 0,45 kWh per cuocere la pasta (EPD[®], 2022; UNAFITA, 2018). Recentemente, si è scatenato un ampio dibattito sui metodi ottimali per cuocere la pasta. Giorgio Parisi, premio Nobel, e alcuni giornali come il Corriere della Sera (2022) hanno suggerito di cuocere la pasta a fuoco spento. L'Unione Italiana Food ha consigliato di mettere il coperchio sulla pentola durante l'ebollizione, di ridurre l'acqua di cottura a 7 L/kg di pasta e di praticare la cottura passiva per ridurre le emissioni di CO₂ del 47% almeno, senza tuttavia fornire alcun dato a supporto (Horecanews, 2024). Altri consigliano l'uso del forno a microonde (MW: <https://www.youtube.com/watch?v=Jgxqrx5b9n4>).

Dopo aver valutato la qualità di cottura della pasta lunga e corta (Cimini et al., 2019abc) al ridursi del rapporto acqua/pasta (WPR), è stato sviluppato un cuocitore eco-sostenibile (EPC) che utilizza una piastra ad induzione commerciale controllata da un microcontrollore programmabile Arduino[®]. Con la stessa qualità di cottura, la cottura con WPR=3 L/kg ha ridotto il consumo energetico a $0,93\pm 0,07$ kWh/kg (Cimini et al., 2020b).

In questo studio, si sono confrontati la qualità di cottura di spaghetti commerciali ed i consumi energetici associati all'uso dell'EPC o di un forno casalingo a microonde, con l'obiettivo di individuare oggettivamente il sistema di cottura a minor impatto ambientale.

Materiali e metodi

Si è utilizzata una pasta di semola di grano duro commerciale (Spaghetti n° 5; Barilla G. e R. F.lli SpA, Parma), avente un tenore di umidità, proteine grezze ed amido pari, rispettivamente, a 125, 125 e 701 g kg⁻¹ e un tempo di cottura di 9 min. In Fig. 1 sono illustrati i sistemi di cottura

utilizzati: a) il prototipo di EPC e una pentola da 3 L con coperchio entrambi in acciaio inox (art. n. 502.864.20; IKEA, Oumbärlig, S) (Cimini et al., 2020b); b) un forno a microonde Whirlpool mod. MT243/WH, operante a 2450 ± 50 MHz, e un cuoci-pasta con coperchio in polipropilene (PP) (marchio Rotho, mod. 1025102792).

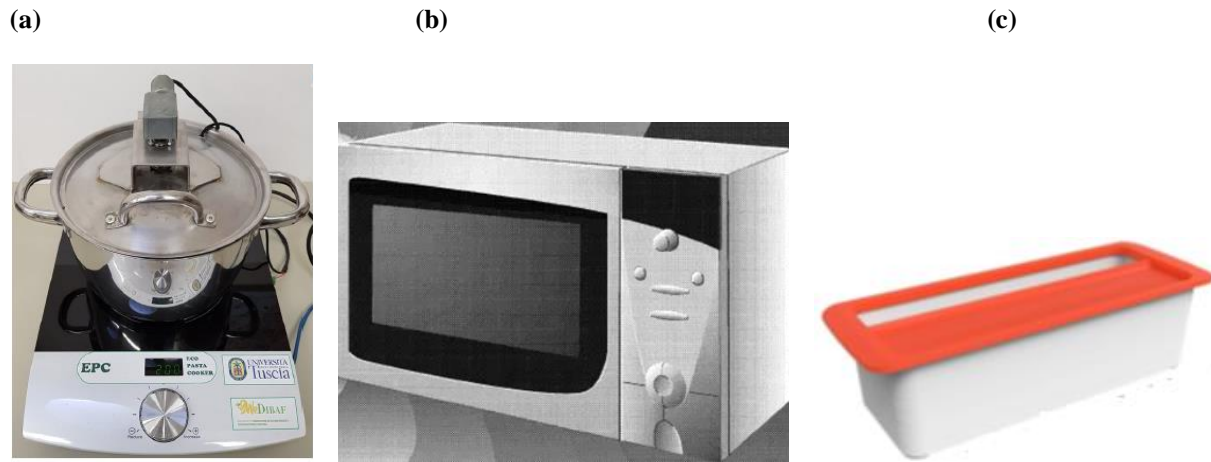


Figura 1. Immagini dei sistemi di cottura utilizzati in queste prove: (a) cuocitore ecosostenibile, (b) forno a microonde e cuoci-pasta con coperchio (c).

Nei test di cottura, si è saggiato un campione di pasta secca (125 g) con un rapporto acqua di cottura/pasta pari a 10 o 5 L/kg. Quest'ultimo rapporto era il minimo sufficiente a sommergere *in toto* il campione di pasta nel cuoci-pasta in PP. Regolando il forno a MW al livello di potenza di 650 W, sono state effettuate prove di riscaldamento con il contenitore riempito con sola acqua e prove di cottura con il contenitore riempito con pasta secca ed acqua nei rapporti anzidetti. Al variare del tempo di cottura (t_c), si è monitorata la temperatura dell'acqua di cottura e l'energia (E_s) erogata dall'EPC o dal forno a MW tramite il misuratore di energia RCE MP600 (RCE Srl, Salerno). La qualità della pasta cotta è stata valutata rilevando: il tempo di cottura ottimale (OCT), ossia il tempo a cui è ancora visibile una linea bianca centrale tratteggiata (ISO, 2016); l'umidità (x_w) della pasta in cottura; l'acqua assorbita (WU) e la quantità di solidi dispersi nell'acqua di cottura (*cooking loss*, CL: D'Egidio *et al.*, 1990) per unità di pasta secca; la consistenza della pasta cotta sottoposta a 2 cicli consecutivi di compressione al 30 ed al 70% dello spessore medio del campione tramite l'Universal Testing Machine UTM mod. 3342 (Instron Int. Ltd., High Wycombe, UK), come descritto da Cimini *et al.* (2019abc). I test di Texture Analysis sono stati ripetuti almeno 5 volte. L'energia teorica (E_{th}) assorbita dal sistema contenitore-acqua-pasta è stata stimata nel modo seguente:

$$E_{th} = (m_{w0} c_{pw} + m_C c_{pC} + m_{pA} c_{pPA}) (T_w - T_0) + m_S \Delta H_{gel} \quad (1)$$

dove m_{w0} , m_C e m_{pA} sono le masse dell'acqua di cottura (1,25 o 0,625 kg), del contenitore in PP (0,155 kg) o acciaio inox (1,24 kg) e della pasta secca (0,125 kg); c_{pw} , c_{pC} e c_{pPA} i rispettivi calori specifici pari, rispettivamente, a 4,186, 1,8 o 0,837, e 1,84 kJ kg⁻¹ K⁻¹; T_w e T_0 le temperature istantanea ed iniziale del sistema in esame; ΔH_{gel} (=11,9 J/g) è la variazione di entalpia associata alla gelatinizzazione dell'amido; m_S è la quantità di amido presente nella pasta. Il termine inerente alla reazione di gelatinizzazione dell'amido è stato considerato solo nel caso della cottura della pasta. Per contro, il rendimento del processo di riscaldamento o di cottura (η) è stato calcolato come segue:

$$\eta = E_{th}/E_s \quad (2)$$

L'impronta del carbonio della cottura della pasta (CF_{pC}) è stata stimata in base alle Linee Guida del metodo standard *Product Environmental Footprint* (UNAFPA, 2018):

$$CF_{PC} = E_{PC} GWP_{EE} \quad (3)$$

con

$$E_{PC} = \frac{e_{pA}}{(1-\eta_{IG})} \quad (4)$$

dove E_{PC} indica il consumo energetico effettivo, GWP_{EE} ($=0.382 \text{ kg CO}_{2e} \text{ kWh}^{-1}$) il Potenziale di Riscaldamento Globale su un orizzonte temporale di 100 anni della produzione media italiana di elettricità a bassa tensione (banca dati Ecoinvent v. 3.9.1) e η_{IG} ($\approx 6.1 \%$) le perdite della rete elettrica italiana nel 2022 (Terna Driving Energy, 2022).

Risultati e discussione

Test di riscaldamento e di cottura della pasta nel forno a MW

Si illustra in Fig. 2 l'evoluzione temporale del processo di riscaldamento a MW del contenitore riempito di sola acqua o di acqua e pasta secca unitamente all'energia erogata (E_S in kJ) dal forno a MW. E_S è risultata indipendente dal carico immesso nel forno; una volta espressa in kJ, E_S è stata correlata linearmente al tempo (t_c in min) con il metodo dei minimi quadrati:

$$E_{Scalc} = (62.7 \pm 0.3) t_c \quad (r^2 = 0.9996) \quad (5)$$

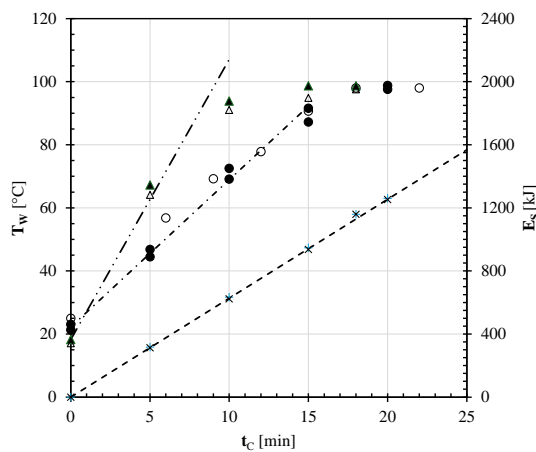


Figura 2. Evoluzione del processo di riscaldamento a MW del contenitore riempito con sola acqua (simboli pieni) o con acqua e pasta secca (simboli vuoti) a due diversi rapporti acqua/pasta (\blacktriangle , \triangle , 5 L/kg; \bullet , \circ , 10 L/kg): Energia erogata dal forno a MW (E_S : *) e temperatura dell'acqua (T_w) in funzione del tempo di cottura (t_c). Le linee sono riferite ai valori calcolati di E_S (- -) e T_w per WPR pari a 5 (- · · -) o 10 (- · -) L/kg.

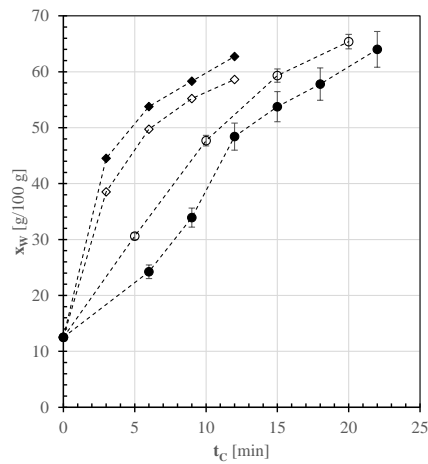


Figura 3. Evoluzione del tenore di umidità (x_w) degli spaghetti in funzione del tempo di cottura (t_c) durante la cottura con l'EPC (\blacklozenge , \diamond) o con il forno a MW (\bullet , \circ) a due livelli del rapporto acqua/pasta: 10 L/kg (simboli pieni); 5 L/kg (simboli vuoti).

L'energia teorica E_{th} , stimata in base all'Eq. (1), è stata riferita all'energia erogata E_S e ciò ha permesso di rilevare che il rendimento energetico decresceva dal 41-48% al 30-33% o al 20-22% a fine di cottura, rispettivamente, per WPR di 10 o 5 L/kg.

In entrambe le condizioni, si nota un iniziale incremento lineare della temperatura dell'acqua (T_w). Detta variazione termica può essere ricostruita in base al bilancio termico assumendo un rendimento energetico medio del forno a MW dell'ordine del 41%, come si evince dalle linee tratto e punto indicate in Fig. 2. La derivata prima di T_w rispetto a t_c è inversamente proporzionale alla massa del sistema in esame: si riduce da $8,0 \pm 0,6$ ($r^2 = 0.988$) a $4,6 \pm 0,1$ ($r^2 = 0.998$) $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ all'aumentare di m_{w0} da 0,625 a 1,250 kg. L'acqua di cottura raggiungeva i $98 \text{ }^{\circ}\text{C}$ in 15 o 18 min e l'umidità della pasta arrivava al 58-62% (Fig. 3).

Tabella 1. Parametri caratteristici del processo di cottura della pasta variando il tipo di fornello ed il rapporto acqua/pasta (WPR): tempo ottimale di cottura, OCT; consistenza al 1° picco, F_{30} ; *water uptake* specifico, WU; *cooking loss*, CL; tempo per cuocere la pasta, t_c ; consumo energetico specifico, e_{PA} ; rendimento complessivo del processo di cottura, η_c ; impronta del carbonio del processo di cottura, CF_{PC} .

Sistema	WPR	OCT	F_{30}	WU	CL	t_c	e_{PA}	η_c	CF_{PC}
	L/kg	min	[N]	g/g	g/g	min	kWh/kg	%	kg CO _{2e} /kg
EPC	10	9	19,1±1,3 ^a	1,19±0,01 ^a	0,033±0,002 ^b	14,1±0,1	1,53±0,02 ^c	77,0±0,5 ^a	0,62±0,01 ^c
	5	9	19,4±0,7 ^a	1,15±0,02 ^a	0,034±0,002 ^b	11,7±0,1	0,92±0,01 ^d	76,2±0,9 ^a	0,37±0,01 ^d
MW	10	18	19,0±1,7 ^a	1,17±0,02 ^a	0,038±0,011 ^{a,b}	18	2,59±0,03 ^a	44,3±0,6 ^b	1,05±0,01 ^a
	5	15	19,0±0,8 ^a	1,18±0,01 ^a	0,036±0,001 ^b	15	2,14±0,01 ^b	30,9±0,4 ^c	0,87±0,04 ^b

In ogni colonna, i valori con la stessa lettera minuscola non hanno differenze statisticamente significative a $p < 0,05$.

Qualità della pasta cotta

In Tabella 1 sono riepilogati i parametri caratteristici del processo di cottura della pasta variando il tipo fornello ed il rapporto acqua/pasta (WPR). La consistenza degli spaghetti al 30% di deformazione (F_{30}) in corrispondenza dell'OCT era di $19,3 \pm 0,2$ N nell'EPC indipendentemente dal rapporto acqua/pasta utilizzato. La stessa consistenza si riscontrava anche negli spaghetti cotti nel forno a MW per 15 o 18 min se WPR era pari a 5 o 10 L/kg. È da notare in Fig. 3 che la pasta cotta presentava un'umidità intorno al 60% (p/p). L'assorbimento relativo di acqua (WU) era circa 1,18 g per g di spaghetti crudi indipendentemente dal fornello (EPC o forno a MW) e dal rapporto WPR (5 o 10 L/kg) utilizzati: un valore in linea con quello tipico della pasta di buona qualità (Cimini et al., 2019a). La perdita in cottura (CL) degli spaghetti cotti ai due livelli WPR saggiati sia nell'EPC che nel forno a MW era sostanzialmente costante e pari a 0,034-0,038 g/g. Occorre tuttavia rilevare che al ridursi di WPR da 10 a 5 L/kg, era attesa una minore dissoluzione di materia solida nell'acqua di cottura (Cimini et al. 2019a, b, c, 2020b; de la Peña et al., 2014). L'energia specifica (e_{PA}) consumata nell'EPC si riduceva da ca. 1,5 a 0,9 kWh per kg di pasta secca al ridursi di WPR da 10 a 5 L/kg, mentre nel forno a MW si riduceva da 2,6 a 2,1 kWh/kg per il fatto che il tempo di cottura si riduceva da 18 a 15 min (Tabella 1). Nell'EPC l'efficienza energetica complessiva di cottura (η_c) era piuttosto elevata (ca. 77%) ed in linea con quella valutata in precedenza (Cimini et al., 2020b). Nel forno a MW, η_c si riduceva al 44% o al 31% per WPR pari a 10 o 5 L/kg. Secondo i dati di riferimento (EPD[®], 2022; UNAFTA, 2018), la cottura della pasta secca comporta un fabbisogno energetico di 2,25 kWh/kg, cui corrisponde un'impronta di carbonio (CF_{PC}) di 0,915 kg CO_{2e}/kg. Pertanto, il fabbisogno energetico per la cottura degli spaghetti nel forno a MW era addirittura superiore a quello di riferimento per WPR=10 L/kg con un incremento di emissioni di gas climalteranti (GHG) del 15% (Tabella 1). Solo per WPR=5 L/kg, CF_{PC} si ridurrebbe del 5%. L'uso del cuocipasta ecosostenibile diminuirebbe le emissioni di gas-serra del 32% se si adoperasse il rapporto acqua/pasta convenzionale in virtù della più oculata gestione dell'energia erogata dal fornello ad induzione durante la cottura della pasta. Le emissioni GHG si limiterebbero del 59% riducendo l'uso di acqua a 5 L/kg. Questa diminuzione potrebbe arrivare al 72% qualora si adottasse il rapporto acqua/pasta di 2,7 L/kg, grazie ad un consumo specifico e_{PA} di $0,63 \pm 0,09$ kWh/kg (Cimini et al., 2020b).

Conclusioni

Per minimizzare l'impatto ambientale della cottura casalinga della pasta occorrerebbe sostituire i sistemi di cottura a gas od elettrici di uso corrente con sistemi a maggiore efficienza energetica, come il cuoci-pasta ecosostenibile qui utilizzato. Utilizzando un rapporto acqua/pasta di 5 L/kg, la cottura con il cuoci-pasta ecosostenibile, oltre a garantire la stessa qualità chimico-fisica di quella convenzionale, è risultata nettamente

più sostenibile non solo della cottura a microonde, ma anche di quella effettuata nelle condizioni operative suggerite dall'Unione Italiana Food.

Ringraziamenti

Questo lavoro è stato effettuato nell'ambito del progetto di ricerca INTEGRATI (ARS01_00188) finanziato dal MIUR.

Bibliografia

Barilla 2017. *Barilla durum wheat semolina pasta in paperboard box*. https://www.environdec.com/library/_?Epd=7699 (accesso 17.09.2024).

Cimini A., Cibelli M., Messia M.C., Marconi E., Moresi M. 2019a. Cooking quality of commercial spaghetti: Effect of the water-to-dried pasta ratio. *European Food Research and Technology*, 245(5): 1037-1045.

Cimini A., Cibelli M., Messia M.C., Moresi M. 2019b. Commercial short-cut extruded pasta: Cooking quality and carbon footprint vs. water-to-pasta ratio. *Food and Bioproducts Processing*, 116: 150-159.

Cimini A., Cibelli M., Moresi M. 2020°. Environmental impact of pasta. In Galanakis C (Ed.) *Environmental Impact of Agro-Food Industry and Food Consumption*. Chp. 5. Academic Press, San Diego, CA, USA, pp. 101-127. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821363-6.00005-9>

Cimini A., Cibelli M., Moresi M. 2020b. Development and assessment of a home eco-sustainable pasta cooker. *Food and Bioproducts Processing*, 122: 291-302.

Cimini A., Cibelli M., Moresi M. 2019c. Reducing the cooking water-to-dried pasta ratio and environmental impact of pasta cooking, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99: 1258-1266.

Corriere della Sera 2022. *Pasta, tre modi di cuocerla per risparmiare energia e ridurre l'impatto ambientale*. https://www.corriere.it/economia/aziende/cards/pasta-tre-modi-cuocerla-risparmiare-energia-ridurre-l-impatto-ambientale/cucinare-pasta-modo-sostenibile_principale.shtml (accesso 17.09.2024).

D'Egidio M.G., Mariani B.M., Nardi S., Novaro P., Cubadda R. 1990. Chemical and technological variables and their relationships: a predictive equation for pasta cooking quality. *Cereal Chemistry*, 67: 275-281.

de la Peña E., Wiesenborn D.P., Manthey F.A. 2014. Pasta-to-water ratio, hotplate surface temperature, and beaker material affect pasta cooking time and cooked quality. *Cereal Chemistry* 91(5): 489-495.

EPD® 2022. *Uncooked pasta, not stuffed or otherwise prepared*. Product Category Classification: UN CPC 2371. Vers. 4.0.3. <https://api.environdec.com/api/v1/EPDLibrary/Files/085f5d0d-0511-47f4-f744-08dae3459152/Data> (accesso 11.03.2024).

Horecanews 2024. *Senza coperchio, meno acqua e cottura passiva: i consigli dei pastai di Unione Italiana Food per una cottura più green*. <https://horecanews.it/senza-coperchio-meno-acqua-e-cottura-passiva-i-consigli-dei-pastai-di-unione-italiana-food-per-una-cottura-piu-green> (accesso 17.09.2024).

Terna Driving Energy 2022. *Dati statistici energia elettrica in Italia*. https://download.terna.it/terna/1%20-%20DATI%20GENERALI_8dbcf1727cec624.pdf (accesso 17.09.2024)

UNAFPA (Unions de Associations de Fabricants de Pâtes Alimentaires) 2018. *Product Environmental Footprint category rules (PEFCR) for dry pasta*. Vers. 3. <https://docslib.org/doc/6636089/product-environmental-footprint-category-rules-for-dry-pasta> (accesso 17.9.2024).

Problemi e sfide nella macinazione della farina integrale: il caso della pasta integrale

F. Pasini^{1,2}, S. Marzocchi¹, C. Ravagli¹, M.F. Caboni^{1,2}*

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari (DISTAL), Università di Bologna, P.zza Goidanich 60, 47521 Cesena (FC).

²Centro Interdipartimentale di Ricerca Industriale (CIRI Agro), Università di Bologna, Via Q. Bucci 336, 47521 Cesena (FC).

*E-mail: federica.pasini5@unibo.it

Abstract

The lack of a clear and consistent definition of whole grain food and of the legislation on the ingredients and the information to be reported on the label, determines great variability in the panorama of wholemeal products. Indeed, commercial products labelled as “whole grain” may actually contain a substantial fraction of refined wheat. In processed whole grain products, the grain tissue ratios cannot be traceably due to a lack of markers of different kernel fractions, such as germ. The data of this study on the quali-quantitative lipid characteristics of some commercial whole grain pasta, confirm the high variability in raw material which differs greatly from the original whole grain features.

Riassunto

L'assenza di una definizione univoca di alimento integrale e di regolamenti sui contenuti e sulle informazioni da riportare in etichetta, determinano una grande variabilità qualitativa nel panorama dei prodotti integrali. In effetti, i prodotti commerciali etichettati come “integrali” possono in realtà contenere una frazione sostanziale di grano raffinato. Nei prodotti integrali trasformati, i rapporti tissutali dei chicchi non possono essere tracciati a causa della mancanza di marcatori delle diverse frazioni della cariosside, come il germe. I dati ottenuti da questo studio sulle caratteristiche della frazione lipidica di alcune paste integrali commerciali confermano l'impiego in formulazione di una materia prima non omogenea che spesso si allontana molto dalle caratteristiche del cereale integrale originale.

Introduzione

Gli alimenti a base di cereali hanno un ruolo rilevante nella dieta umana, fornendo gran parte del fabbisogno energetico e nutrizionale, principalmente proteine e carboidrati. Molti studi epidemiologici confermano i benefici dati dal consumo di cereali integrali, poiché molti nutrienti importanti per la salute umana (fibra alimentare, composti fenolici, folati e altre sostanze fitochimiche) si trovano negli strati esterni della cariosside del grano (Barrett *et al.*, 2019). Al giorno d'oggi, la definizione di “cereale integrale”, come ingrediente, è abbastanza consolidata e molti enti internazionali concordano sul fatto che un cereale integrale deve includere la crusca, il germe e l'endosperma nelle proporzioni originali del chicco di grano (van der Kamp *et al.*, 2014); meno chiara e coerente è la definizione di alimento integrale. Esistono diverse opinioni e standard governativi su quando un alimento si qualifica come “integrale”. È importante definire dei livelli minimi, significativi dal punto di vista nutrizionale, di cereali integrali usati come ingredienti negli alimenti definiti integrali, fornendo informazioni chiare nella confezione del prodotto sulla quantità di tali ingredienti e/o sulla loro parziale sostituzione. Inoltre, nei mulini moderni, le varie frazioni di macinazione vengono separate per essere poi ricombinate in una fase successiva al fine di ottenere farina integrale con la stessa proporzione di crusca, germe ed endosperma presente nel chicco di grano originale. Tuttavia, la ricombinazione può avvenire tra frazioni di varietà e lotti diversi, causando inevitabili

fluttuazioni nei rapporti tra endosperma, crusca e germe nella farina e nei prodotti integrali finali.

Per questi motivi, lo scopo dello studio è stato quello di mostrare e dimostrare la grande variabilità quali-quantitativa della “pasta integrale” attualmente presente sul mercato italiano e, a differenza degli studi precedenti, i campioni di pasta integrale commerciale sono stati caratterizzati per la loro frazione lipidica, concentrata principalmente nel germe del chicco (Marzocchi *et al.*, 2022; 2023).

I dati ottenuti hanno mostrato una grande variabilità nella composizione lipidica e nello stato ossidativo dei campioni di pasta integrale analizzati, suggerendo una diversa quantità e qualità della farina integrale usata come ingrediente. Inoltre, i risultati supportano la necessità di fornire biomarcatori per una valutazione dei rapporti tissutali dei cereali nella farina ricombinata, al fine di fornire al consumatore informazioni chiare al riguardo.

Materiali e metodi

In diversi supermercati italiani sono stati acquistati 4 pacchi di pasta integrale (DCL, ML, DL, BL) e uno di pasta convenzionale (BL STD) ottenuta con semola raffinata (controllo), prodotte da diverse aziende italiane. Dopo aver macinato finemente i campioni, la frazione lipidica è stata estratta con metodo Folch *et al.* (1957) e analizzata sia per la sua composizione lipidica che per il suo stato ossidativo. Per il primo aspetto, le paste sono state caratterizzate sia per la composizione in acidi grassi che in steroli attraverso analisi GC-FID (Marzocchi *et al.*, 2028; Cardenia *et al.*, 2012), mentre il contenuto in tocoli con analisi HPLC-FLD (Ben Lajnef *et al.*, 2017). Per quanto riguarda la valutazione dello stato ossidativo dei campioni, è stato valutato il numero di perossido (Shantha e Decker, 1994) per via spettrofotometrica per i composti primari dell'ossidazione e gli acidi grassi ossidati (OFA) e il contenuto in esanale, rispettivamente tramite GC-FID e SPME-GC-MS, per i composti secondari dell'ossidazione.

Risultati e discussione

Il contenuto in grasso delle paste integrali era simile (~0.9%) e leggermente inferiore rispetto a quanto riportato in etichetta, mentre quello del controllo (BL STD) era circa 0,32%. La composizione acidica delle paste integrali era molto simile con un elevato contenuto in acidi grassi polinsaturi (PUFA) e un contenuto nettamente inferiore di saturi (SFA) e monoinsaturi (MUFA). Il campione di pasta convenzionale, a differenza di quelli integrali, mostrava una concentrazione inferiore di MUFA rispetto ai SFA (Fig. 1).

In tutti i campioni di pasta sono stati identificati sette steroli (campesterolo, campestanolo, β -sitosterol, sitostanolo, avenasterolo, stigmasterolo, Δ^7 -avenasterolo) e non si sono evidenziate differenze significative nel loro contenuto totale tra le varie paste integrali; al contrario significativamente inferiore era il contenuto totale in steroli nel campione BL STD, con una differenza più spiccata se calcolata sul prodotto finale (Fig. 2). Per i tocoferoli, invece, la pasta convenzionale mostrava i valori più alti se rapportati al grasso. Questo contenuto, invece, calava notevolmente se riportato al prodotto finito, per la più bassa % di grasso presente in BL STD. In generale, tutti i campioni presentavano gli stessi tocoli (α -, β -, γ -tocoferolo e α -, β -tocotrienolo) ma il loro contenuto variava molto anche tra le diverse paste integrali (Fig. 3).

Per quanto riguarda lo stato ossidativo delle paste studiate, in primis sono stati valutati i perossidi come prodotti primari dell'ossidazione. Come visibile dalla Figura 4, il valore di PV mostrava differenze significative tra i vari campioni e la pasta convenzionale BL STD presentava un contenuto in perossido superiore al limite legale stabilito per gli alimenti (20 meq O_2 /kg grasso), insieme al campione DL. Per quanto riguarda i prodotti secondari dell'ossidazione, il contenuto in OFA e in esanale mostrava un trend molto simile, dove il campione DL era quello con i valori più elevati (Fig. 5 e 6). Differenze significative non sono state registrate per le altre tre paste integrali e lo stesso campione convenzionale (BL STD) presentava valori del tutto simili a quelli della corrispettiva pasta integrale (BL).

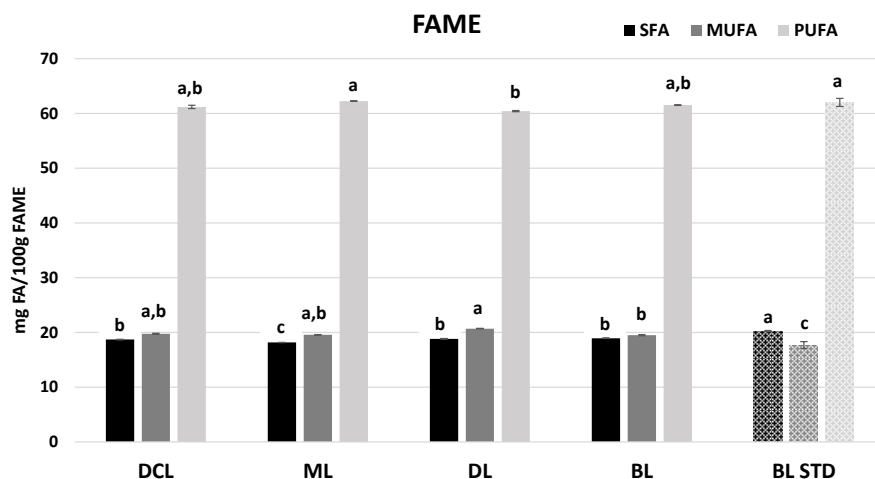


Figura 1. Contenuto in acidi grassi saturi (SFA), monoinsaturi (MUFA) e polinsaturi (PUFA) dei diversi campioni di pasta analizzati. Barre con lettere diverse all'interno di ogni tempo rappresentano valori significativamente diversi ($p \leq 0,05$).

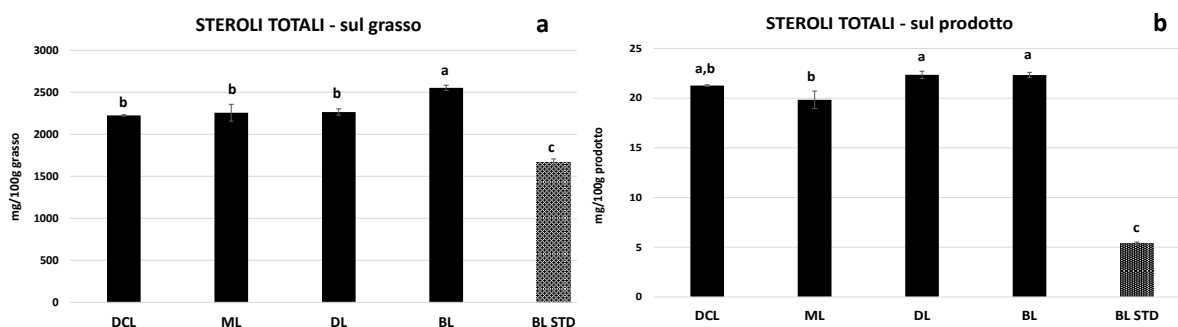


Figura 2. Contenuto in steroli totali, espressi sul grasso estratto (a) e sul prodotto (b). Barre con lettere diverse all'interno di ogni tempo rappresentano valori significativamente diversi ($p \leq 0,05$).

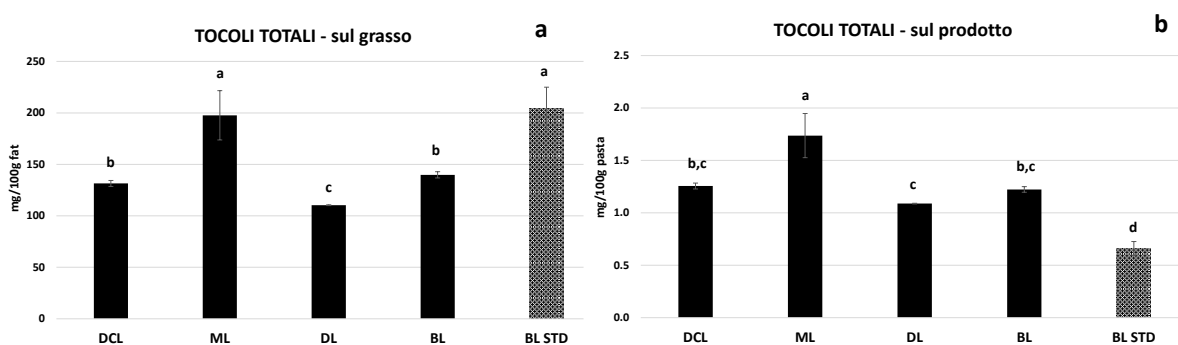


Figura 3. Contenuto in tocoli totali, espressi sul grasso estratto (a) e sul prodotto (b). Barre con lettere diverse all'interno di ogni tempo rappresentano valori significativamente diversi ($p \leq 0,05$).

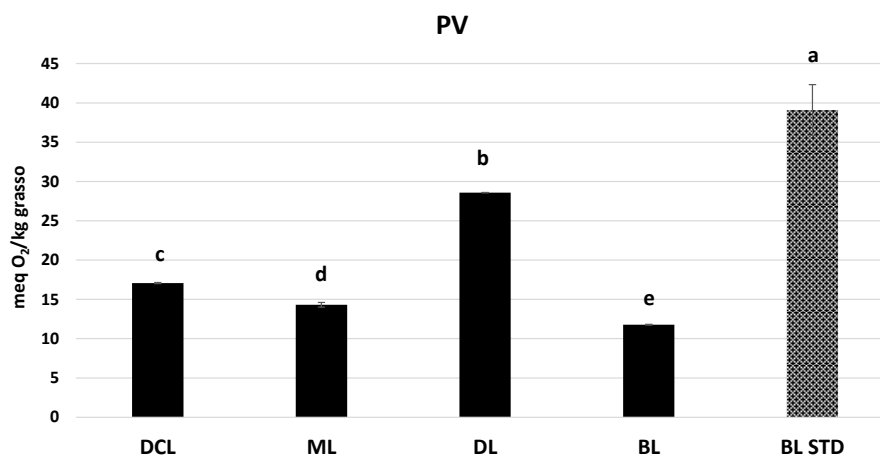


Figura 4. Valore di PV dei diversi campioni di pasta, espresso come meq O₂/kg di grasso.

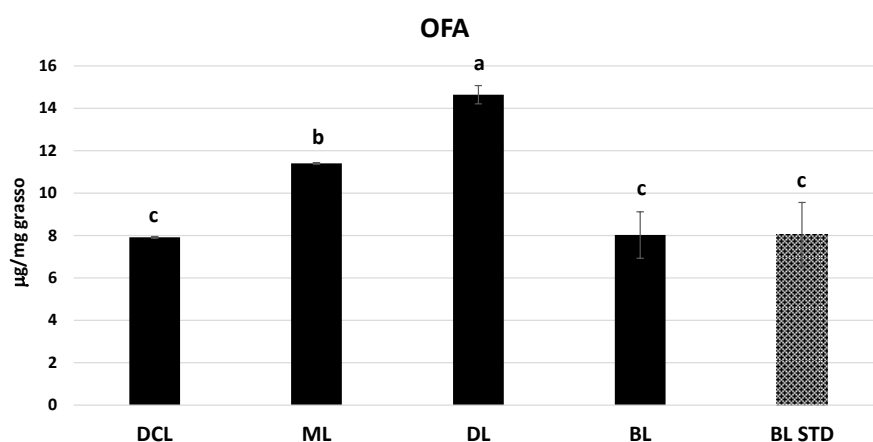


Figura 5. Contenuto in acidi grassi ossidati (OFA) dei diversi campioni di pasta, espresso come µg/mg di grasso.

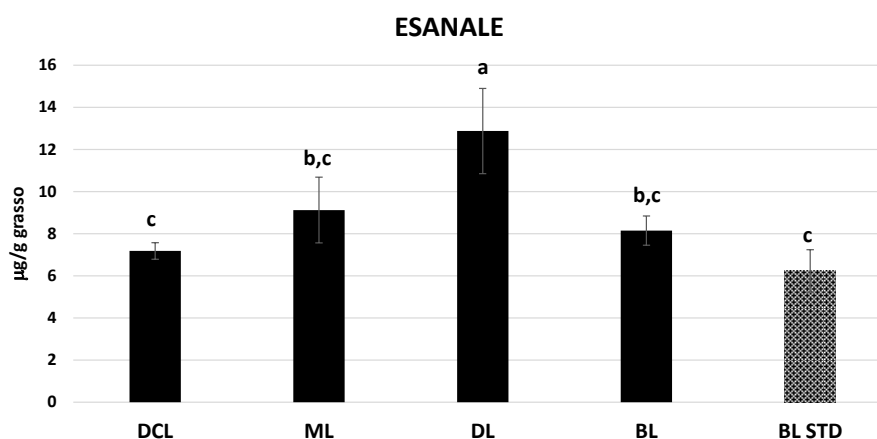


Figura 6. Contenuto in esanale dei diversi campioni di pasta, espresso come µg/g di grasso.

I dati ottenuti mostrano come le paste integrali riportassero una composizione acidica e in steroli simile ma un contenuto in tocoli e uno stato ossidativo molto variabile, dove però solo il campione DL mostrava valori elevati sia per i prodotti primari che secondari dell'ossidazione, oltre che il più basso contenuto in tocoli. Dall'altro lato, nonostante il contenuto inferiore dovuto all'assenza del germe, il campione BL STD riportava un buon livello in tocoli e steroli e uno stato ossidativo ancora contenuto. Questi risultati dimostrano appunto come ci sia un'ampia variabilità compositiva della frazione lipidica delle paste integrali attualmente sul

mercato, legata ad un'assenza di legislazione e definizione univoca che porti ad una standardizzazione di composizione e di processo in particolare per quel che riguarda la quantità di germe e crusca presente.

Bibliografia

- Barrett E.M., Batterham M.J., Ray S., Beck E.J. 2019. Whole grain, bran and cereal fibre consumption and CVD: A systematic review. *British Journal of Nutrition*, 121: 914-937.
- Ben Lajnef H., Pasini F., Politowicz J., Tlili N., Khaldi A., Caboni M.F., Nasri N. 2017. Lipid characterization of *Eryngium maritimum* seeds grown in Tunisia. *Industrial Crops and Products*, 105: 47-52.
- Cardenia V., Rodriguez-Estrada M.T., Baldacci E., Savioli S. & Lercker G. 2012. Analysis of cholesterol oxidation products by fast gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Separation Science*, 35: 424-430.
- Folch J., Lees M., Sloane Stanley G.H. 1957. A simple method for isolation and purification of total lipids for animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 226: 497-509.
- Marzocchi S., Pasini F., Baldinelli C. & Caboni M.F. 2018. Value-addition of beef meat byproducts: lipid characterization by chromatographic techniques. *Journal of Oleo Science*, 67, 143-150:
- Marzocchi S., Caboni M.F., Greco Miani, M., Pasini, F. 2022. Wheat Germ and Lipid Oxidation: An Open Issue. *Foods*, 11: 1032.
- Marzocchi S., Messia M.C., Marconi E., Caboni M.F., Pasini F. 2023. Lipid process markers of durum wheat debranning fractions. *Foods*, 12: 3036.
- Shanta N.C. e Decker E.A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2): 421-424.
- van der Kamp J.W., Poutanen K., Seal C.J., Richardson D.P. 2014. The HEALTHGRAIN definition of 'whole grain'. *Food & Nutrition Research*, 58: 22100.

Prodotti da forno ad elevata qualità nutrizionale e sostenibilità ambientale

V. Turfani¹, V. Narducci¹, M. Ritota¹, E. De Arcangelis², F. Antonazzi^{1*}, S. Lelli¹, P. Gabrielli¹, P. Buonocore¹, M.C. Trivisonno³, S. Ruggeri¹

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Alimenti e Nutrizione, Via Ardeatina 546, 00178 Roma (RM).

²Università Campus Bio-Medico di Roma, Via Álvaro del Portillo 21, 00128 Roma (RM).

³Università degli Studi del Molise, Via Francesco De Sanctis 1, 86100 Campobasso (CB).

*E-mail: francesca.antonazzi@crea.gov.it

Abstract

The project “Development of BAKED PRODUCTS with high health, environmental and safety value for the enhancement of the Lazio cereal supply chain” (PRO-FORNO) aims to design cereal-based products with a low FODMAP content (<0.3 g per serving), suitable for the diet of patients with Irritable Bowel Syndrome (IBS), as well as products with a folate content close to the recommended value of 60 µg/100g, characterized by the use of milling by-products. Starting from the whole grain the 12% dehulled flour and the relative milling by-product were used to produce, respectively, a bread and a “maritozzo” (a traditional dessert of the Lazio region). The bread obtained with a natural leavening process after 24 hour fermentation showed a reduction in fructans content of 83% compared to the starting flour. The maritozzo obtained from a mixture of Manitoba flour with the addition of 30% milling by-product showed an excellent folate content.

Riassunto

Il progetto “Sviluppo di PROdotti da FORNO ad alta valenza salutistica, ambientale e di sicurezza d’uso per la valorizzazione della filiera cerealicola laziale” (PRO-FORNO) ha come scopo il design di prodotti a base di cereali a ridotto contenuto di FODMAPs (<0,3 g/porzione), adatti alla dieta dei pazienti con Sindrome dell’Intestino Irritabile (IBS), oltre a prodotti con un contenuto di folati vicino al valore raccomandato di 60 µg/100g, caratterizzati dall’utilizzo di sottoprodotti della macinazione. A partire dalla granella intera sono stati utilizzati sia lo sfarinato decorticato al 12% che il relativo sottoprodotto di macinazione, per produrre, rispettivamente, un pane e un maritozzo, dolce tradizionale della regione Lazio. Il pane ottenuto con un processo di lievitazione naturale a 24 ore di fermentazione ha mostrato una riduzione del contenuto di fruttani dell'83% rispetto alla farina di partenza. Il maritozzo ottenuto da una miscela di farina Manitoba con un’aggiunta del 30% di sottoprodotto di macinazione ha mostrato un eccellente contenuto di folati.

Introduzione

Gli strati cruscali della cariosside, in particolare lo strato aleuronico (Longin *et al.*, 2020) contengono composti come i FODMAPs, carboidrati non digeribili che possono causare un aumento dei sintomi in soggetti affetti da sindrome dell'intestino irritabile (*Irritable Bowel Syndrome, IBS*), per i quali è consigliato consumare prodotti a basso contenuto di FODMAPs (< 0.3 g/porzione). Non solo, gli strati cruscali sono anche ricchi di asparagina libera (Žilić *et al.*, 2020), aminoacido precursore della formazione dell’acrilammide, composto classificato come potenzialmente cancerogeno per l’uomo (EFSA, 2015). La decorticazione delle granelle è una tecnica che permette di ottenere granelle decorticate con un ridotto contenuto di queste sostanze oltreché, sottoprodotti di macinazione naturalmente arricchiti in nutrienti e composti bioattivi, tra cui gli acidi fenolici e i folati. I composti fenolici sono metaboliti secondari delle piante con numerosi effetti benefici per la salute dell’uomo, tra questi l’acido ferulico risulta essere il più abbondante nei cereali (Boudaoud *et al.*, 2021). I folati sono vitamine essenziali

per la sintesi di DNA, RNA e proteine, con un ruolo nella prevenzione di malattie cardiovascolari, neurodegenerative e congenite (Ricardo *et al.*, 2015).

In questo lavoro è stato utilizzato uno sfarinato da granella decorticata abbinato alla lunga lievitazione con lievito madre per produrre un pane a basso contenuto di FODMAPs, mentre il sottoprodotto di macinazione è stato utilizzato per realizzare un prodotto tipico della regione Lazio, il maritozzo, al fine di aumentarne il contenuto di folati.

Materiali e metodi

La granella Providence di frumento tenero (azienda Florimond Desprez), è stata decorticata a quattro livelli (6%, 9%, 12%, 15%) (Decorticatore Taka Yama). Le granelle decorticate (D6-D15) e i relativi sottoprodotti di decorticazione (S6 a S15), sono stati macinati e analizzati per determinare il contenuto di asparagina libera (Curtis *et al.*, 2009), fruttani (Verspreet *et al.*, 2012), folati totali (Kariluoto *et al.*, 2001), e acidi fenolici totali (Bueno-Herrera *et al.*, 2020). Per le panificazioni è stata utilizzata la granella decorticata al 12% macinata utilizzando un mulino a martelli (Invincibile, Beccaria srl) per ottenere 50 Kg di farina integrale. La pasta madre è stata prodotta partendo da 48g di farina Manitoba 00, 12g di farina tipo 2. Per il pane lievitato 24h sono stati usati, 1kg di farina integrale, 250 g di pasta madre, 650 mL di acqua e 10 g di sale. Per il pane a impasto diretto, 1,3 kg di farina integrale, 50 g di lievito di birra fresco e 20 g di sale, lievitazione 40'. Per il maritozzo alto-folati, è stata utilizzata una miscela di farina Manitoba a cui è stato aggiunto il 30% di S12, lievito di birra, latte e uova. Il maritozzo di controllo è stato realizzato esclusivamente con farina Manitoba e gli ingredienti descritti in precedenza.

Risultati e discussione

In Figura 1 sono riportate le variazioni percentuali rispetto alla granella intera di ciascuno dei parametri nutrizionali analizzati nei diversi sfarinati.

La quantità di fruttani maggiore rispetto alla granella intera è stata trovata nel sottoprodotto di macinazione S15 (+40%) e il contenuto più basso (-9%) nella corrispondente granella decorticata (D15). Dai dati ottenuti è possibile notare che all'aumentare del livello di decorticazione aumenta il contenuto dei fruttani nei relativi sottoprodotti confermando la più o meno omogenea distribuzione dei fruttani negli strati cruscali.

Relativamente agli sfarinati considerati, è stato riscontrato un netto aumento di asparagina libera negli scarti di decorticazione, da +94% in S6 fino a +226% in S15, parallelamente a un depauperamento nella granella decorticata del 34% in D12, fino al 43% in D15.

Per quanto concerne i folati, si è evidenziato che S9 risulta essere notevolmente arricchito per contenuto in folati come anche in acidi fenolici totali.

Sulla base dei risultati ottenuti, si è deciso di utilizzare lo sfarinato ottenuto dalla decorticazione al 12% (D12) in quanto, rispetto alla granella intera, presentava un ridotto contenuto di fruttani (-9%) e di asparagina (-34%), pur mantenendo una variazione contenuta nei livelli di folati ed acidi fenolici totali. Il relativo sottoprodotto di macinazione (S12) risultava arricchito in folati più del doppio rispetto alla granella intera, così come anche in acidi fenolici totali (Fig. 1).

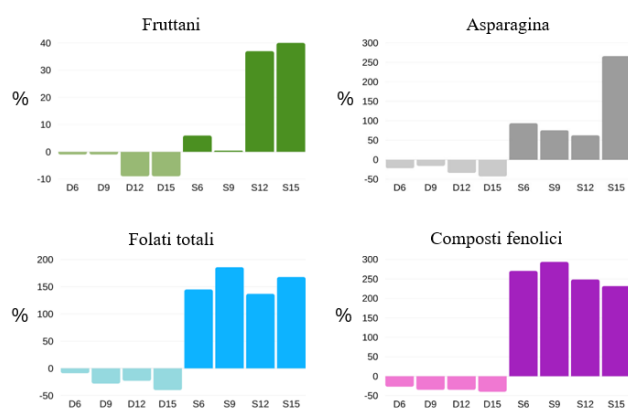


Figura 1. Variazione % rispetto alla granello del contenuto in fruttani, folati, asparagina libera e acidi fenolici totali gli sfarinati ottenuti dal processo di decorticazione.

Da queste due tipologie di sfarinati si sono sviluppati 2 prodotti: un pane a ridotto contenuto in FODMAPs utilizzando D12, e una versione del maritozzo laziale ad alto contenuto in folati, utilizzando il relativo scarto di decorticazione S12.

Dai dati riportati in Tabella 1, si evince che la panificazione con lievitazione naturale ha causato una significativa riduzione del livello dei fruttani dallo sfarinato al prodotto finito (Pane PrD12), da 1,76 a 0,31 g/100 s.s., degradazione da attribuire alla fase di lievitazione. Relativamente alla panificazione eseguita con metodo diretto, le analisi hanno evidenziato altresì una sostanziale riduzione dei fruttani rispetto allo sfarinato (0,44% s.s.), ma in misura inferiore. Dai risultati ottenuti, è possibile evidenziare una netta differenza nell'attività metabolica dell'ecosistema microbico caratterizzante il lievito naturale e quella esplicita dal solo *Saccharomyces cerevisiae* (lievito secco). Durante la panificazione con metodo indiretto, infatti, è stata evidenziata una riduzione del contenuto in fruttani >80%86%, mentre la panificazione con lievito di birra (*Saccharomyces cerevisiae*) li ha ridotti del 75%. I dati indicano la validità della tecnologia di panificazione con lievito naturale per la produzione di prodotti adatti a soggetti affetti da IBS a partire da sfarinati integrali, che quindi permettono un parallelo apporto di fibra nella dieta di questi soggetti.

Dai risultati ottenuti, la panificazione con metodo diretto sembra diminuire, seppur non significativamente, il contenuto di asparagina libera, passando da un contenuto di 296 µg/g a 269 µg/g. Diversamente, durante la lievitazione naturale, si assiste ad un progressivo incremento nel tenore di asparagina libera, passando da 267 µg/g a 329 µg/g. Il dato è ipoteticamente ascrivibile alla maggiore attività proteolitica riscontrata in questo tipo di lievitazione (Shewry *et al.*, 2022).

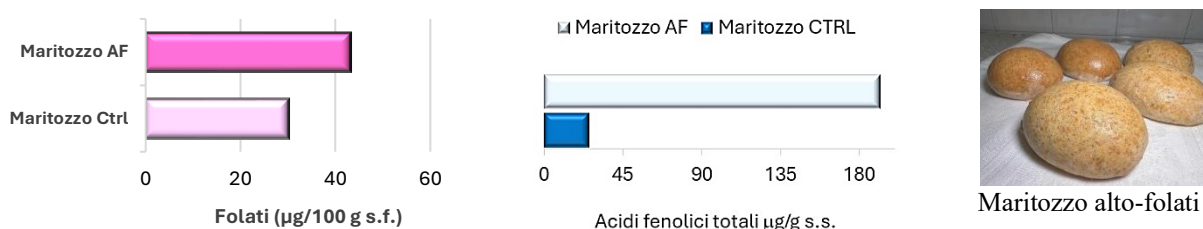
Per quanto riguarda il contenuto di folati, si registra in entrambi i processi di panificazione un aumento durante il tempo di lievitazione compreso tra il 15 e il 27%, che viene annullato durante la cottura a causa della termolabilità di questi composti, con una perdita dal 25 al 30%. Per quanto riguarda gli acidi fenolici, il loro contenuto nel pane sembra leggermente diminuire rispetto all'impasto a seguito della cottura, ma tale diminuzione è statisticamente significativa soltanto nella lievitazione naturale. La cottura, infatti, agisce fondamentalmente sulla frazione libera dei composti fenolici (Carcea *et al.*, 2017), lasciandone pressoché inalterato il contenuto totale. Gli acidi fenolici totali nel prodotto trasformato, inoltre, non sembrano essere influenzati dalla tipologia di panificazione, poiché i due pani mostrano un contenuto di acidi fenolici totali pressoché simile (Tabella 1). Anche Boudaoud *et al.* (2021) non avevano registrato differenze significative dovute al tipo di fermentazione (lievito madre vs lievito commerciale) nel contenuto di acido ferulico (il più abbondante acido fenolico) del pane prodotto con le due lievitazioni.

Tabella 1. Contenuto di fruttani, asparagina, folati e acidi fenolici totali nel pane con lievito madre rispetto al pane con lievito di birra

<i>Prodotti</i>	<i>Fruttani g/100 s.s.</i>	<i>Asparagina µg/g s.s.</i>	<i>Folati µg/100 g s.f.</i>	<i>Acidi fenolici tot µg/g s.s.</i>
<i>Granella intera</i>	1,24 ± 0,03	379 ± 28	29,1 ± 3,6	807 ± 29
<i>Granella decorticata 12%</i>	1,76 ± 0,05	259 ± 11	22,2 ± 3,3	522 ± 29
<i>Lievito madre (LN)</i>	0,31 ± 0,02	273 ± 8	51,9 ± 10,8	-
<i>Impasto</i>	1,94 ± 0,16 ^a	267 ± 30 ^b	38,5 ± 6,4 ^b	1048 ± 28 ^a
<i>Impasto LN-t24h</i>	-	329 ± 36 ^a	49,1 ± 2,0 ^a	1043 ± 73 ^a
<i>Pane PrD12</i>	0,31 ± 0,06 ^b	-	28,7 ± 1,4 ^c	907 ± 14 ^b
<i>Impasto Ctrl-t0</i>	0,68 ± 0,01 ^x	296 ± 20 ^x	94,1 ± 6,6 ^y	983 ± 57 ^x
<i>Impasto Ctrl-tf</i>	-	269 ± 21 ^x	108,8 ± 16,8 ^x	1078 ± 59 ^x
<i>Pane Ctrl</i>	0,44 ± 0,03 ^y	-	65,6 ± 3,2 ^z	949 ± 41 ^x

LN=lievitazione naturale con lievito madre; Ctrl=controllo con lievito di birra; t0=inizio della lievitazione; t24=lievitato 24h; tf=lievitato 3h (metodo standard). Nella stessa colonna, e per ciascuna panificazione, valori seguiti da lettere diverse sono significativamente diversi ($p < 0,05$).

Per valorizzare i prodotti tipici della Regione Lazio è stato messo a punto un protocollo per la produzione di una versione del maritozzo laziale naturalmente arricchito in folati. L'aggiunta del 30% del sottoprodotto di macinazione S12 nella produzione del maritozzo ha determinato un aumento di quasi il 50% del contenuto in folati rispetto al controllo (Figura 2), così come il contenuto di acidi fenolici totali nel maritozzo sperimentale ha registrato un incremento di oltre 7 volte rispetto al maritozzo di controllo.



AF= Maritozzo alto-folati;Ctrl= Maritozzo ricetta tradizionale

Figura 2. Contenuto di folati e acidi fenolici totali nel Maritozzo AF e nel Maritozzo Ctrl

Conclusioni

La decorticazione pre-macinazione delle granelle influisce positivamente sulla riduzione del contenuto di fruttani e di asparagina e, quindi, sulla formazione di acrilammide nel prodotto finale. Inoltre, il recupero dei sottoprodotti di macinazione permette di avere a disposizione sfarinati arricchiti in folati, oltre che in acidi fenolici totali. Per quanto riguarda i prodotti, possiamo concludere che l'utilizzo del lievito naturale si è dimostrato più efficace per ridurre il contenuto in fruttani nel pane al valore raccomandato, inferiore a 0,3 g/porzione (50g), per pazienti affetti da sindrome dell'intestino irritabile. Il maritozzo, se pur arricchito in acidi fenolici e folati grazie all'utilizzo del sottoprodotto di macinazione, non rispetta ancora il valore raccomandato di 60 µg/100 g di folati. Tuttavia, nel contesto di una dieta ricca di folati, il contenuto attuale permette comunque di coprire il 10% del fabbisogno giornaliero di questa vitamina. I risultati ottenuti in questo lavoro potranno contribuire a immettere sul mercato prodotti distintivi dal punto di vista commerciale-nutrizionale (*tailor-made, functional foods*). Sono attualmente in corso ulteriori esperimenti per soddisfare il requisito nutrizionale legato ai folati.

Bibliografia

- Boudaoud S., Sicard D., Suc L., Conéjéro G., Segond D., Aouf C. 2021. Ferulic acid content variation from wheat to bread. *Food Science & Nutrition*, 9(5): 2446-2457.
- Bueno-Herrera M., Pérez-Magariño S. 2020. Validation of an extraction method for the quantification of soluble free and insoluble bound phenolic compounds in wheat by HPLC-DAD. *Journal of Cereal Science*, 93: 102984.
- Carcea M., Narducci V., Turfani V., Giannini V. 2017. Polyphenols in raw and cooked cereals/pseudocereals/legume pasta and couscous. *Foods*, 6(9): 80.
- Curtis T.Y., Muttucumar N., Shewry P.R., Parry M.A.J., Powers S.J., Elmore J. S., Mottram D.S., Hook S., Halford N.G. 2009. Effects of genotype and environment on free amino acid levels in wheat grain: implications for acrylamide formation during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(3): 1013-1021.
- EFSA 2015. Scientific Opinion on Acrylamide in food. *EFSA Journal*, 13: 4104.
- Giordano D, Reyneri A, Blandino M. Folate distribution in barley (*Hordeum vulgare L.*), common wheat (*Triticum aestivum L.*) and durum wheat (*Triticum turgidum durum Desf.*) pearled fractions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(5): 1709-115.
- Kariluoto M.S., Vahteristo L.T., Pironen V.I. 2001. Applicability of microbiological assay and affinity chromatography purification followed by high-performance liquid chromatography (HPLC) in studying folate contents in rye. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9): 938-942.
- Li K., Wahlqvist M.L., Li D. 2016. Nutrition, One-Carbon Metabolism and Neural Tube defects: A review. *Nutrients*, 8: 741.
- Longin C. F. H., Beck H., Gütler A., Gütler H., Heilig W., Zimmermann J., Bischoff S. C., Würschum T. 2020. Influence of wheat variety and dough preparation on FODMAP content in yeast-leavened wheat breads. *Journal of Cereal Science*, 95: 103021.
- Ricardo J., Martel F., Borges N., Manuel J., Keating E. 2015. Folates and aging: role in mild cognitive impairment, dementia and depression. *Ageing Research Reviews*, 22: 9-19.
- Shewry P.R., America A.H.P., Lovegrove A., Wood A.J., Plummer A., Evans J., Van Den Broeck H.C., Gilissen L., Mumm R., Ward J.L., Proos Z., Kuiper P., Longin C.F.H., Andersson A.A.M., Philip van Straaten J., Jonkers D., Brouns F. 2022. Comparative compositions of metabolites and dietary fibre components in doughs and breads produced from bread wheat, emmer and spelt and using yeast and sourdough processes. *Food Chemistry*, 374: 131710.
- Verspreet J., Pollet A., Cuyvers S., Vergauwen R., Van den Ende W., Delcour J., Courtin C. 2012. A simple and accurate method for determining wheat grain fructan content and average degree of polymerization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60: 2102-2107.
- Žilić S., Aktağ I. G., Dodig D., Filipović M., Gokmen V. 2020. Acrylamide formation in biscuits made of different wholegrain flours depending on their free asparagine content and baking conditions. *Food Research International*, 132: 109109.

Caratterizzazione di impasti da sfarinati di frumento tenero con diverso grado di raffinazione mediante metodi reologici empirici e fondamentali

S. Iacovino^{1}, F. Cuomo¹, M.C. Trivisonno¹, M.C. Messia¹, E. Marconi^{2,3}*

¹Dipartimento di Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Via De Sanctis, 86100 Campobasso (CB).

²Dipartimento di Scienze e Tecnologie per lo Sviluppo Sostenibile e One Health, Università Campus-Bio-Medico di Roma, Via Álvaro del Portillo 21, 00128 Roma (RM).

³Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Alimenti e Nutrizione, Via Ardeatina 546, 00178 Roma (RM).

*E-mail: silvio.iacovino@unimol.it

Abstract

Empirical rheological methods, which are commonly used to evaluate wheat flour dough, can be coupled with fundamental rheology, especially when the dough properties cannot be investigated with empirical rheology alone (e.g. dough with a high bran content). In this study, the correlations between the two types of rheology were evaluated considering flours with different refining degree. The empirical tests showed that flours with higher protein and fibre contents required more water to be optimally hydrated, and were characterized by longer dough development time. Higher tenacity and lower extensibility were also observed. Using the fundamental rheology, the viscoelastic properties of dough were evaluated, and a direct correlation was found between the refining degree and the dough consistency. Dough made from less refined flours were less deformable and showed a more elastic recovery ability. In addition, the gelatinisation temperature of the starch and process rate, increased and decreased, respectively, with the refining degree. The existing correlations between empirical and fundamental rheology were used to estimate the alveograph parameters of blends of a refined soft wheat flour enriched with 15 % and 20 % ground soft wheat bran. Overall, the study showed that the combination of the two rheological approaches is useful to determine the best use of high-fibre flours, which the official empirical methods could not determine.

Riassunto

La reologia empirica, comunemente utilizzata per valutare gli impasti di farina di frumento, può essere abbinata alla reologia fondamentale, soprattutto quando le proprietà dell'impasto non possono essere studiate con la sola reologia empirica (ad esempio in impasti ricchi di crusca). In questo studio, le correlazioni tra i due tipi di reologia sono state valutate considerando farine con diverso grado di raffinazione. I test empirici hanno mostrato che le farine con più elevato tenore in proteine e fibre richiedevano più acqua per essere idratate in modo ottimale, avevano tempi di sviluppo dell'impasto più lunghi, maggiore tenacità e una minore estensibilità. Utilizzando la reologia fondamentale, sono state valutate le proprietà viscoelastiche dell'impasto ed è stata trovata una correlazione diretta tra il grado di raffinazione e la consistenza dell'impasto. Gli impasti realizzati con farine meno raffinate erano meno deformabili e mostravano una maggiore capacità di recupero elastico. Inoltre, la temperatura e la velocità di gelatinizzazione dell'amido aumentavano e diminuivano, rispettivamente, con il grado di raffinazione. Le correlazioni esistenti tra reologia empirica e fondamentale hanno permesso di stimare i parametri alveografici di miscele di farina di grano tenero 00 arricchite con il 15% e il 20% di crusca di grano tenero macinata, non determinabili con i metodi empirici ufficiali.

Introduzione

Gli impasti da farina di frumento rappresentano un importante prodotto intermedio nella trasformazione dei cereali in diversi prodotti e il loro comportamento meccanico influenza le varie fasi di lavorazione. La caratterizzazione reologica degli impasti è solitamente realizzata

tramite test farinografici e alveografici (reologia empirica) e può essere combinata con la reologia fondamentale per avere informazioni più dettagliate sulle caratteristiche viscoelastiche di tali impasti. La possibilità di utilizzare un approccio combinato tra i due tipi di reologia rappresenta una buona opportunità per una più completa caratterizzazione, soprattutto quando la reologia empirica richiede adattamenti o modifiche delle procedure ufficiali, come nel caso di farine che contengono grandi quantità di crusca/fibra (Tietze *et al.*, 2016; De Arcangelis *et al.*, 2021).

Gli sfarinati ricchi in crusca e quindi di fibra, proteine, minerali e vitamine, apportano molteplici benefici nutrizionali, motivo per cui i prodotti derivanti da sfarinati integrali o poco raffinati risultano essere molto richiesti da alcune categorie di consumatori (Navrotskyi *et al.*, 2019; Vignola *et al.*, 2016).

Ad oggi sono state condotte numerose ricerche sulla valutazione delle proprietà di impasti e farine utilizzando sia la reologia fondamentale che quella empirica (Jenssen *et al.*, 1996; Ronda *et al.*, 2013; Sanchez *et al.*, 2014), senza però dare enfasi alla correlazione tra i due approcci. In questo studio sono stati analizzati impasti costituiti da varie tipologie di farine (da quelle più raffinate a quelle integrali) combinando i test dinamici della reologia fondamentale con le analisi condotte con la reologia empirica. Le correlazioni individuate sono poi state utilizzate per determinare gli indici tipici della reologia empirica di farine arricchite in crusca altrimenti non determinabili mediante i protocolli ufficiali dei metodi standardizzati (Iacovino *et al.*, 2024).

Materiali e metodi

Materiali

Gli sfarinati di grano tenero con diverso grado di raffinazione (Tipo 00, 0, 1, 2, integrale e 0 Manitoba, 0 M) sono stati acquistati presso un supermercato locale e conservati a 4 °C fino al loro utilizzo. La crusca di frumento è stata fornita dal Molino Casillo SPA (Corato, Italia).

Reologia empirica

L'analisi farinografica è stata condotta secondo il metodo internazionale AACC 54-21 (AACC 2000). I parametri ottenuti attraverso il farinogramma sono l'assorbimento di acqua (WA) necessaria per raggiungere la consistenza di 500 BU, il tempo di sviluppo (DDT) e la stabilità (DS) dell'impasto. L'analisi alveografica è stata condotta secondo il metodo internazionale AACC 54-30 (AACC 2000). I parametri ottenuti attraverso l'alveogramma sono la tenacità (P), l'estensibilità (L), il rapporto di configurazione della curva (P/L) e l'energia necessaria per espandere l'impasto (W), che rappresenta la forza della farina.

Reologia fondamentale

Gli impasti sono stati preparati con il farinografo nelle condizioni di WA e DDT ottimali. Le analisi reologiche sono state condotte seguendo il protocollo riportato da Iacovino *et al.* (2024). Il test oscillatorio *time sweep* è stato condotto applicando una *deformazione* $\gamma = 10^{-4}$ alla *frequenza* (f) di 1 Hz per individuare il tempo necessario al campione per recuperare la sua struttura dopo il caricamento tra i piatti del reometro. Tale intervallo di tempo è stato applicato prima di tutti i successivi test. Il test di *amplitude sweep* è stato condotto alla *frequenza* $f = 1$ Hz nel range di deformazione $10^{-4} < \gamma < 1$ al fine di individuare il *range di viscoelasticità lineare* (LVR) e la *regione non lineare* (NL) (Lynch *et al.*, 2009). I dati sono stati espressi attraverso il *modulo elastico* (G') e il *modulo viscoso* (G'').

Il test *frequency sweep* è stato condotto applicando un valore di *stress* (τ) all'interno dell'LVR e facendo variare la *frequenza* f da 0.5 a 50 Hz. Successivamente, i dati sono stati elaborati applicando la legge di potenza di Ostwald de Waele (Equazione 1) ai valori di G' (Dogan *et al.*, 2013):

$$G' = K \cdot (f)^n \quad (\text{Equazione 1})$$

Nell'Equazione 1, K ($\text{Pa} \cdot \text{s}^{1/n}$) ed n (-) rappresentano rispettivamente la *consistenza* e la *stabilità* dell'impasto.

Il test *temperature sweep* ha permesso di studiare il comportamento degli impasti al variare della temperatura e quindi alla gelatinizzazione dell'amido. Il test è stato condotto con $f = 1$ Hz e $\gamma = 1$, riscaldando il campione alla velocità di $2.5^\circ\text{C}/\text{min}$ da 25°C a 95°C e poi raffreddandolo fino a 25°C alla stessa velocità. Dalla curva $\text{Log } G' \text{ vs } T$ è stato ottenuto il parametro $\Delta \text{Log } G'$ ($\text{Log } G'_{\text{picco}} - \text{Log } G'_{\text{minimo}}$) utilizzato per valutare il *grado di gelificazione* dell'amido. Inoltre, dai valori di temperatura corrispondenti al punto in cui G' iniziava ad aumentare, è stato possibile determinare la *temperatura di inizio gelatinizzazione* (T_{Gel}). Il test *creep-recovery* è stato condotto applicando ai campioni alti valori di *stress* (τ), corrispondenti al range di deformazione non lineare (NL) per simulare le condizioni che possono concretizzarsi in un processo produttivo (Peressini, 2017). Uno *stress* $\tau = 250$ Pa è stato applicato per 5 minuti, registrando i valori della *compliance* (J (γ/τ_0)). Tale *stress* è stato poi rimosso, registrando i valori di J per 10 minuti. I parametri individuati sono stati J_{max} e J_r , rappresentanti rispettivamente la *deformazione massima* dell'impasto e la sua *capacità di recupero*.

Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il software SPSS 22.0 (IBM Statistics, Armonk, NY, USA). Per ogni campione di farina sono stati analizzati 3 prodotti commerciali di diversi produttori e ogni analisi è stata condotta in doppio. Tutti i valori tabulati sono stati riportati come medie \pm deviazione standard. Le differenze significative sono state valutate mediante test MANOVA con Scheffe's post-hoc test. Nelle tabelle, apici differenti indicano differenze significative ($p\text{-value} < 0.05$). I *coefficienti di Pearson* (-) sono stati determinati per esprimere la forza delle correlazioni bivariate tra i parametri individuati. Infine, gli indici tipici della reologia empirica non determinabili per le farine arricchite in crusca (*caso-studio*) sono stati determinati applicando ai risultati della reologia fondamentale un modello di regressione lineare semplice.

Risultati e discussione

La composizione centesimale delle farine utilizzate in questo studio è riportata in Tabella 1.

Tabella 1. Composizione centesimale degli sfarinati. Le lettere differenti nelle righe indicano differenze significative tra i valori medi. ss = sostanza secca.

	Tipo 00	Tipo 0	Tipo1	Tipo 2	Integrale	Tipo 0 M
<u>Composizione centesimale</u>						
Grassi (% ss)	0.92 ± 0.03^e	1.15 ± 0.02^d	2.32 ± 0.03^b	2.34 ± 0.04 ab	2.38 ± 0.02^a	1.25 ± 0.02^c
Ceneri (% ss)	0.39 ± 0.02^e	0.49 ± 0.01^d	0.77 ± 0.03^c	0.89 ± 0.02^b	1.65 ± 0.04^a	0.50 ± 0.03^d
Carboidrati (% ss)	86.22 ^a	84.26 ^b	79.54 ^d	78.09 ^e	72.72 ^f	81.33 ^c
Proteine (N · 5.70, % ss)	10.35 ± 0.01 f	11.79 ± 0.02 e	13.29 ± 0.03 d	14.01 ± 0.01 c	14.52 ± 0.01 b	14.87 ± 0.02 a
Fibra (% ss)	2.12 ± 0.20^d	2.31 ± 0.20^d	4.08 ± 0.20^c	4.67 ± 0.15^b	8.73 ± 0.20^a	2.05 ± 0.10^d

I risultati del test farinografico (Tab. 2) hanno evidenziato che gli sfarinati meno raffinati hanno richiesto più acqua (WA) e *tempi di sviluppo* più lunghi (DDT) per la formazione dell'impasto, principalmente per via delle grandi quantità di crusca e proteine in grado di legare l'acqua disponibile. Anche la *stabilità* (DS) è risultata essere maggiore, con i valori più alti rilevati nella farina Tipo 0 Manitoba. Dal test alveografico (Tab. 2) risulta che la tenacità (P) aumentava nei campioni meno raffinati, mentre *estensibilità* (L) e *forza* (W) mostravano andamenti opposti. La farina Tipo 0 Manitoba non seguiva l'andamento descritto, evidenziando i maggiori valori di L e W . Lo studio delle proprietà meccaniche degli impasti è stato approfondito con la reologia fondamentale, i cui parametri derivati sono mostrati in Tabella 2. Dall'osservazione dei range di risposta lineare (LVR) dei moduli *elastico* (G') e *viscoso* (G'') determinati con l'*amplitude*

sweep risulta che può essere applicato un valore di deformazione fino $\gamma = 10^{-3}$, rimanendo nell'*LVR*. L'applicazione dell'Equazione 1 ai valori di G' derivanti dal *frequency sweep* ha evidenziato maggiori valori di *consistenza* (K) e *stabilità* negli impasti prodotti con sfarinati meno raffinati (Tab. 2). Invece, la *temperatura* (T_{Gel}) e il *grado di gelatinizzazione* ($\Delta \text{Log } G'$) erano rispettivamente maggiori e minori nei campioni meno raffinati. Infine, la *deformazione massima* (J_{max}) e la *capacità di recupero* (J_r), rispettivamente diminuivano e aumentavano, evidenziando che al diminuire del grado di raffinazione gli impasti presentavano un maggiore comportamento *solid-like* (Peressini, 2017).

Tabella 2. Parametri derivati dai test reologici. Le lettere differenti nelle righe indicano differenze significative tra i valori medi.

	Tipo 00	Tipo 0	Tipo1	Tipo 2	Integrale	Tipo 0 M
Reologia empirica						
Farinografo						
WA (%)	53.70 ± 0.10 ^a	54.10 ± 0.20 ^b	57.00 ± 0.10 ^c	57.40 ± 0.10 ^d	63.90 ± 0.10 ^e	59.50 ±
DDT (min)	1.50 ± 0.10 ^c	1.60 ± 0.10 ^c	1.90 ± 0.10 ^b	2.10 ± 0.20 ^b	8.10 ± 0.10 ^a	2.10 ± 0.10 ^b
DS (min)	8.30 ± 0.10 ^f	8.80 ± 0.15 ^e	10.10 ± 0.20 ^d	12.30 ± 0.10 ^c	13.40 ± 0.10 ^b	18.70 ±
Alveografo						
P (mm H₂O)	69.00 ± 2.10 ^e	72.90 ± 1.50 ^d	78.00 ± 3.14 ^c	162.0 ± 1.40 ^b	200.0 ± 1.20 ^a	65.00 ± 2.40
L (mm)	80.00 ± 0.70 ^b	77.00 ± 0.80 ^c	55.70 ± 0.95 ^d	30.50 ± 0.60 ^e	21.7 ± 0.85 ^f	118.0 ±
P/L (-)	0.86 ± 0.20 ^d	0.93 ± 0.15 ^d	1.40 ± 0.25 ^c	5.31 ± 0.10 ^b	9.21 ± 0.15 ^a	0.55 ± 0.10 ^f
W (10⁻⁴ J)	227.0 ± 6.80 ^b	199.0 ± 3.10 ^c	191.0 ± 2.40 ^d	189.0 ± 4.20 ^d	164.0 ± 6.50 ^e	246.0 ±
Reologia fondamentale						
Amplitude sweep						
G' LVE (10³ Pa)	12.40 ± 0.12 ^d	12.52 ± 0.10 ^d	13.40 ± 0.14 ^c	18.00 ± 0.18 ^b	20.10 ± 0.10 ^a	10.13 ± 0.10
Frequency sweep						
K (10³ Pa · sⁿ)	12.17 ± 0.10 ^d	12.10 ± 0.04 ^d	13.31 ± 0.02 ^c	17.80 ± 0.12 ^b	19.77 ± 0.08 ^a	9.88 ± 0.09 ^e
n (-)	0.19 ± 0.03 ^a	0.20 ± 0.01 ^a	0.17 ± 0.02 ^{ab}	0.16 ± 0.02 ^b	0.15 ± 0.01 ^b	0.11 ± 0.02
Temperature sweep						
T Gel (° C)	56.40 ± 0.50 ^e	58.30 ± 0.40 ^c	58.90 ± 0.50 ^c	60.50 ± 0.70 ^b	63.50 ± 0.50 ^a	57.70 ± 0.40
Δ Log G' (Pa)	0.90 ± 0.02 ^a	0.88 ± 0.03 ^a	0.82 ± 0.01 ^b	0.70 ± 0.01 ^c	0.66 ± 0.02 ^d	0.86 ± 0.01 ^a
Creep and recovery						
J_{max} (10⁻⁴ Pa⁻¹)	11.10 ± 0.09 ^b	10.55 ± 0.07 ^c	9.30 ± 0.11 ^d	8.15 ± 0.10 ^e	7.24 ± 0.08 ^f	15.71 ± 0.14
J_r (%)	37.2 ± 0.10 ^d	37.7 ± 0.15 ^d	41.8 ± 0.18 ^c	43.2 ± 0.13 ^b	44.5 ± 0.10 ^a	37.4 ± 0.14 ^d

La reologia fondamentale è risultata essere fortemente correlata con quella empirica e, mediante regressione lineare (Fig. 1), tali correlazioni sono state utilizzate per caratterizzare miscele di farina raffinata arricchita con il 15% e il 20% di crusca (*caso-studio*: campioni *M-15%* e *M-20%*), riuscendo a ricavare gli indici alveografici altrimenti non determinabili (Tab. 3).

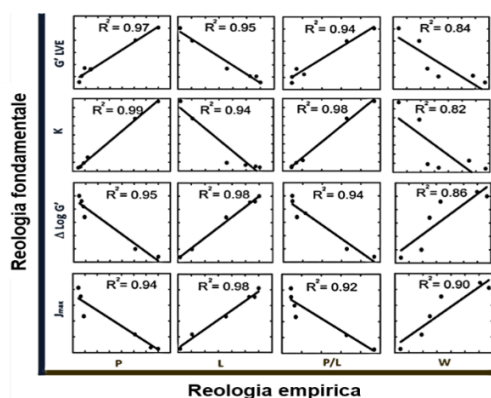


Figura 1. correlazioni tra i parametri ottenuti attraverso la reologia fondamentale e quella empirica.

Tabella 3. Caratterizzazione reologica delle miscele di farina Tipo 00 arricchite con 15% e 20% di crusca

<i>Reologia fondamentale</i>	G' LVE (10⁴ Pa)	K (10⁴ Pa · sⁿ)	n (-)	T Gel (° C)	Δ Log G' (Pa)	J_{max} (10⁻⁴ Pa⁻¹)	J_r (%)
<i>M-15%</i>	2.59 ^b ± 0.14	2.10 ^b ± 0.10	0.16 ^a ± 0.01	68.2 ^b ± 0.2	0.65 ^a ± 0.01	6.91 ^a ± 0.17	36.10 ^b ± 0.20
<i>M-20%</i>	3.62 ^a ± 0.30	3.41 ^a ± 0.20	0.15 ^a ± 0.02	70.4 ^a ± 0.3	0.60 ^b ± 0.02	5.30 ^b ± 0.15	44.03 ^a ± 0.13
<i>Reologia empirica</i>	WA (%)	DDT (min)	DS (min)	P (mm H₂O)	L (mm)	P/L (-)	W (10⁻⁴ J)
<i>M-15%</i>	64.5 ^b ± 0.10	9.4 ^b ± 0.20	10.70 ^b ± 0.20	212.4 ^b ± 3.40	19.4 ^a ± 1.90	11.1 ^b ± 1.20	116.5 ^a ± 2.30
<i>M-20%</i>	66.2 ^a ± 0.20	12.10 ^a ± 0.15	11.20 ^a ± 0.20	237.9 ^a ± 4.20	15.9 ^b ± 2.10	15.4 ^a ± 2.10	89.5 ^b ± 2.60

In conclusione, combinando i metodi empirici basati sui protocolli ufficiali con la reologia fondamentale è possibile caratterizzare in maniera più dettagliata le proprietà reologiche degli sfarinati. Inoltre, essendo i due approcci fortemente correlati, grazie alla reologia fondamentale è stato possibile superare i limiti analitici che i metodi convenzionali hanno presentato con gli impasti arricchiti di crusca.

Bibliografia

- AACC, International. 2000. 'Approved Methods of Analysis'. in *Method 22-0201 measurement of alphaamylase in plant and microbial materials using the Ceralpha method, 11th ed.* St. Paul, MN: AACC International.
- De Arcangelis E., Trivisonno M. C., Angelicola M., Quiquero M., Di Nardo V., Falasca L., Sestili F., Messia M.C., Marconi E. 2021. Milling and Rheological Properties of High Amylose Wheat. *Journal of Cereal Science*, 102: 103335.
- Dogan M., Kayacier, A., Toker Ö.S., Yilmaz M.T., Karaman S. 2013. Steady, Dynamic, Creep, and Recovery Analysis of Ice Cream Mixes Added with Different Concentrations of Xanthan Gum'. *Food and Bioprocess Technology*, 6: 1420-33.
- Iacovino S., Trivisonno M.C., Messia M.C., Cuomo F., Lopez F., Marconi E. 2024. Combination of Empirical and Fundamental Rheology for the Characterization of Dough from Wheat Flours with Different Extraction Rate. *Food Hydrocolloids*, 148: 109446.
- Janssen A., Van Vliet T., Vereijken J. 1996. Fundamental and empirical rheological behavior of wheat flour doughs and comparison with bread making performance. *Journal of Cereal Science*, 23(1): 43-54.
- Navrotskyi S., Guo G., Baenziger P.S., Xu L., Rose D.J. 2019. Impact of Wheat Bran Physical Properties and Chemical Composition on Whole Grain Flour Mixing and Baking Properties. *Journal of Cereal Science*, 89: 102790.
- Ronda F., Perez-Quirce S., Angioloni A., Collar C. 2013. Impact of viscous dietary fibres on the viscoelastic behavior of gluten-free formulated rice doughs: A fundamental and empirical rheological approach. *Food Hydrocolloids*, 32(2): 252-262.
- Sanchez D.B., Puppo M.C., Anon M.C., Ribotta P.D., León A.E., Tadin C.C. 2014. Effect of maize resistant starch and transglutaminase: A study of fundamental and empirical rheology properties of pan bread dough. *Food and Bioprocess Technology*, 7(10): 2865-2876.
- Tietze S., Jekle M., Becker T. 2016. Possibilities to Derive Empirical Dough Characteristics from Fundamental Rheology. *Trends in Food Science & Technology*, 57: 1-10.
- Vignola M.B., Moiraghi M., Salvucci E., Baroni V., Pérez G.T. 2016. Whole Meal and White Flour from Argentine Wheat Genotypes: Mineral and Arabinoxylan Differences. *Journal of Cereal Science*, 71: 217-23.

Ruolo della stabilizzazione termica delle frazioni cruscali di frumento tenero sul contenuto in acrilammide

V. Guarino, V. Scarpino, F. Vanara, M. Blandino*

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO).

*E-mail: valentina.guarino@unito.it

Abstract

Bran, middlings, and germ are by-products of wheat milling used in wholemeal flour formulation, valued for their nutritional value but with high asparagine (ASN) content, the main precursor of acrylamide (AA). They are also unstable due to high levels of unsaturated fatty acids and enzymes, so a thermal treatment is often applied to stabilize these products. This study examines the effects of radiofrequency (RF) heat treatment at 110°C (TCS1) and 125°C (TCS2) on AA formation and wheat by-products and the impact on AA accumulation in biscuits. Results show germ had the highest ASN content (3424 mg/kg), while AA levels increased more in TCS2, with the highest concentration in middlings (418 µg/kg). Biscuits made with TSC2 middlings had the highest AA content. There is therefore an additive effect in the accumulation of AA when using thermized by-products for the production of wholemeal biscuits. By-products selection and the control of heat treatment conditions are strategic activities to increase shelf-life by limiting the accumulation of AA.

Riassunto

Crusca, cruschetto e germe sono sottoprodotti della molitura del frumento tenero impiegati per la formulazione di farine integrali ricombinate. Seppur di interesse per il loro profilo nutrizionale, queste frazioni sono ricche in asparagina (ASN), il principale precursore dell'acrilammide (AA). Risultano inoltre instabili per l'elevato contenuto di acidi grassi insaturi ed enzimi; quindi, è spesso richiesto un trattamento termico per aumentarne la conservabilità. Questo studio esamina gli effetti del trattamento termico a radiofrequenza (RF) alle temperature di 110°C (TCS1) e 125°C (TCS2) sull'attività lipasica e sulla formazione di AA nelle frazioni molitorie e nei biscotti prodotti con farine integrali ricombinate. I risultati mostrano che il germe ha il contenuto più elevato di ASN (3424 mg/kg) e che i livelli di AA aumentano maggiormente con il TSC2 rispetto al TSC1, con la concentrazione più elevata nel cruschetto (418 µg/kg). I biscotti prodotti con il cruschetto TSC2 hanno anche il contenuto di AA più elevato. Si è quindi notato un effetto additivo nell'accumulo di AA quando vengono usate le frazioni stabilizzate tramite trattamento termico per la produzione di biscotti integrali. La selezione delle frazioni molitorie ed il controllo delle condizioni di trattamento termico sono quindi attività rilevanti per limitare l'accumulo di AA.

Introduzione

L'impiego di farina di frumento integrale nei prodotti da forno è interessante per il suo contenuto in fibre alimentari e componenti con benefici nutrizionali. Tuttavia, le frazioni come crusca, cruschetto e germe contengono livelli elevati di asparagina (ASN), il principale precursore dell'acrilammide (AA). Questi sottoprodotti presentano inoltre instabilità dovuta all'alto contenuto di acidi grassi insaturi e enzimi come lipasi e perossidasi. Per aumentarne la stabilità, vengono sottoposti a trattamenti termici, i quali, però, possono indurre la formazione di AA. Questo lavoro vuole studiare gli effetti del trattamento termico a radiofrequenze (RF) su crusca, cruschetto e germe, valutando l'accumulo di AA sulle materie prime trattate e l'effetto della loro inclusione in prodotti da forno. L'obiettivo è quello di determinare la possibilità di

selezionare frazioni molitorie e strategie di trattamento, che possano minimizzare nei prodotti integrali il rischio sanitario.

Materiali e metodi

I campioni di granella di frumento tenero, farina 00 e sottoprodotti della molitura (crusca, cruschetto e germe) sono stati campionati dalla lavorazione di un lotto di frumento in un impianto industriale di molitura a cilindri seguendo le indicazioni del Regolamento CE N. 401/2006. Il campionamento dinamico ha comportato la raccolta di un campione da 100 g ogni 1.5 minuti per 60 minuti (40 campioni all'ora), per un totale di 3 cicli di molitura e 3 ripetizioni per ciascun ciclo. Sono stati ottenuti 15 campioni da ciascun ciclo. La crusca, il cruschetto e il germe sono stati trattati in un impianto a RF (modello RFA 1 x 85 kW Stalam S.p.a.) a 110°C (TCS1) e 125°C (TCS2). Il campionamento è avvenuto ogni 10 minuti prelevando aliquote da 200-300 g. È stata inoltre eseguita una rimacinazione della crusca termotrattata con un passaggio nel molino da laboratorio al fine di ottenere una granulometria inferiore ai 530 µm. Le frazioni ottenute sono state impiegate per formulare 10 sfarinati riportati in Tabella 6 per la produzione di biscotti, con una ricetta di controllo composta da sola farina raffinata. Per ogni ricetta, 3 repliche di impasto da 300 g sono state preparate utilizzando un'impastatrice con organo a foglia, e mescolando prima olio di girasole alto oleico (80 g), zucchero (100 g), sale (1.3 g) e vanillina (0.3 g), poi aggiungendo acqua (80 g per i biscotti composti da farina integrale e 67 g per quelli con farina raffinata) farina e agenti lievitanti (4.5 g di bicarbonato d'ammonio e 2.3 g bicarbonato di sodio). L'impasto è stato steso a uno spessore di 5-6 mm, i biscotti formati e cotti in forno ventilato a 180°C (parte alta) e 165°C (parte bassa) per 27 minuti.

Tabella 6. Differenti formulazioni di biscotti a confronto, ottenuti dall'aggiunta di germe, cruschetto e crusca, crudi o termotrattati con differenti temperature (110°C TSC1 e 125°C TSC2). Per ogni formulazione è riportata la ricetta e il contenuto in ceneri finale nello sfarinato ottenuto. Nell'ambito di ciascun fattore, lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per $p(F) < 0.05$.

Ricetta biscotti	Contenuto in ceneri (%)	Ingredienti (%)	
		Farina	Sottoprodotti molitori
Farina Raffinata	0.6	100	
Raffinata + germe	0.8	95	5
Raffinata + germe TSC 1	0.8	95	5
Raffinata + cruschetto	1.3	85	15
Raffinata + cruschetto TSC 1	1.3	85	15
Raffinata + cruschetto TSC 2	1.3	85	15
Raffinata + crusca	1.3	88	12
Raffinata + crusca TSC 1	1.3	88	12
Raffinata + crusca TSC 2	1.3	88	12
Raffinata + crusca TSC 1 fine	1.3	88	12
Raffinata + crusca TSC 2 fine	1.3	88	12

Le frazioni crude e termotrattate sono state analizzate per il contenuto di ceneri, ASN, l'attività lipasica e l'umidità. In quelle termotrattate e nei biscotti si è determinato l'attività lipasica residua ed il contenuto di AA sviluppato.

Il contenuto di ceneri è stato determinato con il metodo gravimetrico ufficiale, ponendo quindi un'aliquota di campione alla temperatura di $550 \pm 10^\circ\text{C}$, fino a completa combustione della sostanza organica ed al raggiungimento di una massa costante. L'analisi del contenuto di ASN è stata eseguita utilizzando il kit "L-asparagine/ L-glutamine/ Ammonia (rapid)" della Megazyme International Ireland Ltd eseguendo la lettura spettrofotometrica finale con lo spettrofotometro Cary 60 UV-Vis, Agilent.

Sui medesimi campioni è stata determinata l'attività lipasica residua come variazione di acidità in g di acido oleico per 100 g di prodotto determinata tramite titolazione del campione e del

bianco con idrossido di potassio in presenza di fenoltaleina (Hutchinson *et al.*, 1952). L'umidità è stata determinata pesando circa 3.00 di campione in appositi crogioli che sono stati posizionati in una stufa da laboratorio (MEMMERT GmbH + Co. KG) a 105°C per 24 ore ed il valore finale calcolato come differenza di peso del campione prima e dopo il riscaldamento. Le analisi per determinare il contenuto di AA sono state effettuate eseguendo l'estrazione con il metodo QuEChERS e successiva quantificazione mediante UHPLC-MS, utilizzando la colonna Luna® Omega Polar e ionizzazione APCI.

Risultati e Discussione

Per tutti i prodotti della molitura non termotrattati è stato possibile evidenziare differenze significative ($P < 0.05$) nel contenuto di ASN in base alle frazioni molitorie considerate, come evidenziato in Tabella 7:

Tabella 7. Ripartizione dei contenuti di asparagina nelle frazioni molitorie analizzate e contenuti di acrilammide nelle frazioni molitore sottoposte a termotrattamento a radiofrequenza a 110°C (TSC1) e 125°C (TSC2), attività lipasica residua ed umidità delle frazioni crude e termizzate. Nell'ambito di ciascun fattore, lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per p (F) < 0.05.

Frazione Molitoria	Asparagina	Acrilammide	Attività lipasica	Umidità
	(mg/Kg s.s)	(µg/Kg s.s)	(mg acido oleico / 100 g)	%
Granella	342 c	/	/	/
Farina raffinata	190 c	/	/	/
Crusca	973 b	/	25 b	12 b
Crusca TSC1	/	37 c	13 b	7 e
Crusca TSC2	/	144 b	9 b	5 f
Cruschello	1216 b	/	54 a	13 a
Cruschello TSC1	/	43 c	7 b	7 d
Cruschello TSC2	/	418 a	10 b	5 f
Germe	3424 a	/	13 b	9 c
Germe TSC1	/	101 b	9 b	6 e

La ripartizione dell'ASN non è risultata essere omogenea nella cariosside, con il germe che ha riportato il contenuto più elevato (3424 mg/kg s.s.) con un valore 10 volte superiore a quello della granella. Seguono cruschello e crusca che non si differenziano in maniera significativa tra di loro.

In Tabella 7 sono riportati i valori di AA sviluppata nelle frazioni molitorie a seguito del TSC1 (110°C) e del TSC2 (125°C). È stato possibile evidenziare come il TSC2 abbia portato a sviluppare sempre contenuti più elevati di AA rispetto al TSC1, in particolare il cruschello TSC2 ha accumulato circa 10 volte il contenuto di AA del cruschello TSC1 (43 e 418 µg/kg s.s. rispettivamente), distinguendosi inoltre significativamente da tutte le altre frazioni per il contenuto più elevato.

I trattamenti termici hanno ridotto l'attività lipasica, in particolare per il TSC1 il cruschello ha subito una riduzione dell'81%, mentre la crusca del 64% e infine il germe del 30% e non sono state rilevate differenze significative tra il TSC1 ed il TSC2.

In Figura 5 sono riportati i contenuti di AA sviluppati nei biscotti formulati e si può notare come i biscotti con cruschello TSC2 siano risultati quelli con il contenuto di AA più alto (719 µg/kg s.s.).

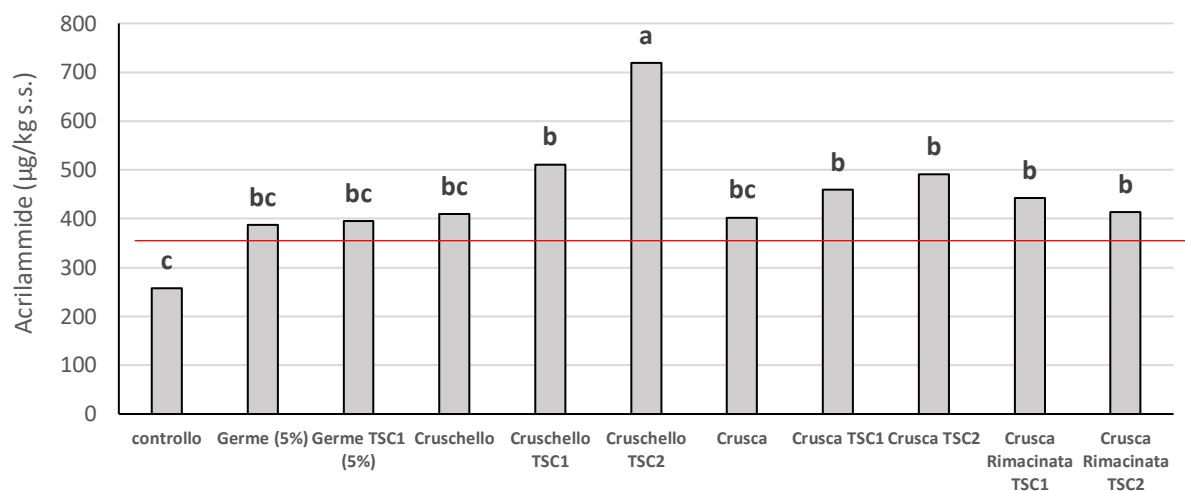


Figura 5. Contenuti di acrilammide nei biscotti formulati con le frazioni molitorie crude e termotrattate. La linea orizzontale segnala il valore di riferimento di AA secondo il Reg. (UE) 2158/2017 nei biscotti integrali, pari a 350 µg/kg. Lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per p (F) < 0.05.

Il germe, anche quando termizzato, non ha comportato un aumento significativo nello sviluppo di AA, nonostante fosse la componente della cariosside maggiormente ricca in ASN. L'utilizzo di crusca rimacinata (< 530 µm) non ha comportato differenze significative rispetto alla crusca per entrambi i trattamenti termici. Non è stato quindi evidenziata un'influenza della granulometria sullo sviluppo di AA. I risultati sulla distribuzione non omogenea dell'ASN sono confermati anche da precedenti studi come quello di Fredriksson *et al.* (2004) che ha evidenziato come sia nel frumento sia nella segale, il germe contiene le concentrazioni maggiori mentre le frazioni cruscali presentano i valori intermedi. Questo conferma l'ipotesi di poter attuare un processo di selezione dei prodotti della molitura per minimizzare la presenza dell'amminoacido. Il consumo di farine e cereali integrali è associato a benefici salutistici (Prückler *et al.*, 2014) ed il germe è un ingrediente di interesse perché ricco in tocoferolo e ad altre sostanze fitochimiche funzionali (Gili *et al.*, 2017). Tali componenti industrialmente vengono però spesso stabilizzate tramite trattamenti termici. Dalle nostre analisi si è visto come il termotrattamento a RF abbia ridotto notevolmente l'attività della lipasi, in linea con i risultati di Boukid *et al.*, (2018) che ha utilizzato la RF per inibire l'attività della lipasi e della lipossigenasi nel germe ottenendo rispettivamente una riduzione del 18% e del 19%, con una contemporanea riduzione dell'umidità, mentre il 96% dei tocoferoli risultava rimanere preservato. Il trattamento termico però comporta lo sviluppo di AA, che può quindi già accumularsi nelle frazioni molitorie termotrattate comportando una prima fonte di contaminazione per i prodotti da forno; infatti, l'impiego dei sottoprodotti termotrattati ha comportato un aumento del contenuto di acrilammide finale, soprattutto per il cruschello (75%) e la crusca (19%) sottoposti al TSC2. Molti studi come quello di Bråthen & Knusten (2005) hanno dimostrato come la formazione di AA nei prodotti a base di cereali sia fortemente dipendente dalla temperatura del processo, dall'umidità del prodotto e dalla concentrazione di ASN libera. Questo conferma che il cruschello, contenendo livelli più elevati di ASN rispetto alla crusca, sia una materia prima maggiormente a rischio per la formazione di AA. Anche il germe è risultato contenere alte concentrazioni di ASN, ma la corrispettiva formazione di AA non è risultata essere particolarmente elevata. Tale dinamica lascia spazio ad un ulteriore approfondimento perché come evidenziato da Kim *et al.* (2003) crusca, germe e cruschello hanno valori diversi di calore specifico, di umidità iniziale e di granulometria comportando quindi differenze nel profilo termico quando sottoposti ad una fonte di calore oltre che differenze nella superficie disponibile per la reazione di formazione dell'AA (Hitlamani & Inamdar, 2024). Lo studio mette quindi in evidenza come il controllo dei livelli di AA nei

biscotti integrali formulati con farina ricombinata possa basarsi sulla selezione dei prodotti della molitura. Questi, presentando granulometrie e composizioni diverse, possono essere separati in fase di molitura e selezionati per le successive applicazioni. Il termotrattamento a radiofrequenze è risultato efficace per la stabilizzazione di tali prodotti e il trattamento condotto a 110°C (TSC1) risulta interessante perchè permette di ridurre efficacemente l'attività lipasica, ma limitando la formazione di AA. Nella scelta delle frazioni molitorie per la produzione di biscotti integrali, l'impiego della crusca e del germe, anche quando termotrattati, sembra preferibile all'impiego del cruschetto, per limitare la presenza di AA nel prodotto finale garantendo però un buon profilo nutrizionale.

Bibliografia

- Bråthen E., Knutsen S.H. 2005. Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. *Food Chemistry*, 92(4): 693-700.
- Boukid F., Folloni S., Ranieri R., Vittadini E. 2018. A compendium of wheat germ: Separation, stabilization and food applications. *Trends in Food Science & Technology*, 78: 120-133.
- Fredriksson H., Tallving J., Rosén J., Åman P. 2004. Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. *Cereal Chemistry*, 81: 650-653.
- Gili R.D., Palavecino P.M., Penci M.C., Martinez M.L., Ribotta P.D. 2017. Wheat germ stabilization by infrared radiation. *Journal of Food Science and Technology*, 54(1): 71-81.
- Hitlamani V. and Inamdar A.A. (2024). Technology processing strategies to reduce the Acrylamide formation in wheat-based bakery products and future prospects: A review. *Food Control*, 162: 10437.
- Hutchinson J. B., Martin H. F. 1952. The measurement of lipase activity in Oat Products. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 3(7): 312-315.
- Kim Y.S., Flores R.A., Chung O.K., Bechtel D.B. 2003. Physical, Chemical, and thermal characterization of wheat flour milling coproducts. *Journal of Food Process Engineering*, 26: 469-488.
- Megazyme. 2018. L-Asparagine/L-glutamine/Ammonia (rapid) Assay Procedure, 10-12.
- Prückler M., Siebenhandl-Ehn S., Apprich S., Höltinger S., Haas C., Schmid E., Kneifel W. 2014. Wheat Bran-based Biorefinery 1: Composition of Wheat Bran and strategies of functionalization, *Food Science and Technology*, 56(2): 211-221.

Studio delle caratteristiche tecnologiche di FLAB per l'impiego nella preparazione di prodotti da forno

S.J. Lombardi¹, B. Testa¹, S. Rosati^{1,2*}, S. Giorgione¹, F. Vergalito¹

¹Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Via De Sanctis, 86100 Campobasso (CB).

²Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO).

*E-mail: sebastiano.rosati@unito.it

Abstract

Bakery products are a major source of FODMAPs, poorly digestible compounds that can exert both positive and negative effects on the gastrointestinal system. The ability of fructophilic lactic acid bacteria (FLAB) to hydrolyze fructans and reduce fructose during fermentation causes the reduction of FODMAPs in this type of products. Among FLAB, there is evidence that the species *Apilactobacillus kunkeei* is able to hydrolyze fructans present in flours.

The aim of this study was the technological and safety characterization of *A. kunkeei* strains for their possible use in the production of bakery products.

The results showed that the *A. kunkeei* strains tested possess characteristics of technological interest compatible with the bread-making process, showing a higher rate of fructose consumption compared to the strains of *Lactiplantibacillus plantarum* and *Limosilactibacillus fermentum*, species often isolated from sourdoughs.

Riassunto

I prodotti da forno rappresentano una delle principali fonti di FODMAP composti scarsamente digeribili che possono esercitare effetti sia positivi sia negativi sul sistema gastrointestinale. La capacità dei batteri lattici fruttofilici (FLAB) di idrolizzare i fruttani e ridurre il fruttosio durante la fermentazione provoca la diminuzione dei FODMAP in questa tipologia di prodotti. Tra gli FLAB ci sono evidenze che la specie *Apilactobacillus kunkeei* è in grado di idrolizzare i fruttani presenti nelle farine.

Scopo di questo studio è stata la caratterizzazione tecnologica e di sicurezza di ceppi *A. kunkeei* per un loro possibile impiego nella produzione di prodotti da forno.

I risultati hanno evidenziato che i ceppi di *A. kunkeei* saggiati, sono in possesso di caratteristiche di interesse tecnologico compatibili con il loro impiego nella produzione di prodotti da forno mostrando un maggiore tasso di consumo di fruttosio rispetto ai ceppi di *Lactiplantibacillus plantarum* e di *Limosilactibacillus fermentum* specie spesso isolate da impasti acidi.

Introduzione

I prodotti da forno rappresentano una delle principali fonti di FODMAP (oligosaccaridi, disaccaridi, monosaccaridi e polioli fermentabili) composti scarsamente digeribili che possono esercitare effetti sia positivi sia negativi sul sistema gastrointestinale (Gibson *et al.*, 2020). Infatti, se da un lato sono considerati prebiotici favorendo l'eubiosi del microbiota intestinale, dall'altro canto, l'assunzione di FODMAP è stata associata all'insorgenza dei sintomi dell'IBS (Sindrome dell'Intestino Irritabile) e di altri disturbi intestinali funzionali. La capacità dei batteri lattici fruttofilici (FLAB) di idrolizzare i fruttani e ridurre il fruttosio durante la fermentazione potrebbe consentire la diminuzione dei livelli di FODMAP (Acin Albiac *et al.*, 2020), ma la riduzione dipenderà dalle specie microbiche presenti.

Apilactobacillus kunkeei appartenente al gruppo dei batteri lattici (LAB) noto per la sua presenza in ambienti associati alle api e ai loro prodotti, come il miele e il polline (Iorizzo *et*

al., 2020), recentemente, ha attirato l'attenzione per le sue potenziali applicazioni nell'industria alimentare, in particolare nella produzione di prodotti da forno. La capacità di *A. kunkeei* di idrolizzare i fruttani presenti nelle farine offre nuove opportunità per migliorare la qualità dei prodotti da forno. Pertanto, obiettivo di questo studio è stata la caratterizzazione e la selezione di ceppi di *A. kunkeei* idonei alla preparazione di prodotti da forno

Materiali e metodi

I ceppi di LAB oggetto di studio sono riportati in tabella 1, in dettaglio: 5 ceppi appartenenti alla specie *Apilactobacillus kunkeei*, 4 ceppi appartenenti alla collezione del DiAAA-Unimol e il ceppo tipo *Apilactobacillus kunkeei* DSMZ12361 (German Collection of Microorganisms and Cell Culture), 3 ceppi di *Lactiplantibacillus plantarum* (Lp_31, Lp_46, M_19) e 2 di *Limosilactobacillus fermentum* (21M1, 21M2) tutti appartenenti alla collezione del DiAAA-Unimol.

Tabella 1. Elenco dei ceppi microbici utilizzati, specie di appartenenza e matrice di isolamento

Sigla ceppo	Specie	Matrice di isolamento
ALK_181	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	Api
Lk_51	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	Api
Lk_112	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	Api
Lk_64	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	Api
DSMZ12361	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	Uva
21M1	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Feci di neonato
21M2	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	Feci di neonato
Lp_31	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Api
Lp_46	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Api
M_19	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Vino

Valutazione caratteristiche tecnologiche

Il potere acidificante dei ceppi è stato determinato misurando la variazione del pH ad intervalli stabiliti per 24 h, utilizzando un pHmetro (XS instruments pH50).

L'attività proteolitica e quella lipolitica sono state entrambe valutate mediante la tecnica «spot on lawn», su terreno colturale Skim Milk (Sigma-Aldrich, Italia) e su Tributyrin agar (Sigma-Aldrich), rispettivamente, valutando la presenza di aloni di chiarificazione (espressi in mm di diametro).

La resistenza allo stress osmotico è stata valutata in soluzioni a concentrazioni crescenti di NaCl (8%, 10%, 12% e 15%), determinando ad intervalli di 60 min. fino a 180 min. di incubazione (t_0 , $t_{60\text{min}}$, $t_{120\text{min}}$, $t_{180\text{min}}$) la sopravvivenza mediante conteggio vitale in MRS agar (Oxoid).

Per valutare la capacità di utilizzare fruttosio e glucosio i ceppi sono stati inoculati, in fase esponenziale, in brodo colturale contenente fruttosio e glucosio (1% glucosio, 1% fruttosio, 1% estratto di lievito, 2% peptone) e incubati a 30 °C per 24 ore. La concentrazione degli zuccheri è stata determinata mediante kit enzimatico (Megazyme, Ireland Ltd.) a 0, 12 e 24 ore.

Valutazione delle caratteristiche di sicurezza

È stata valutata la suscettibilità agli antibiotici dei ceppi utilizzando la tecnica del gradiente Epsilometer test (E-test) (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, Francia) per determinare la concentrazione minima inibente (MIC) di diversi agenti antimicrobici. In dettaglio, sono stati utilizzati cloramfenicolo (CHL), clindamicina (CLI), ampicillina (AMP), gentamicina (GEN), tetraciclina (TETRA), streptomycin (STREP), kanamicina (KAN) ed eritromicina (ERY) in un intervallo di concentrazione compreso tra 0,016 e 256 µg/mL. La capacità di produrre ammine biogene è stata valutata con il metodo qualitativo descritto da Bover-Cid e Holzappel (1999).

L'attività antimicrobica espressa dai ceppi oggetto di studio nei confronti di *Listeria innocua* e *Pseudomonas fragi* è stata determinata utilizzando la tecnica dello *spot on the law*, come descritto da Tremonte *et al.* (2017).

Risultati e discussione

Per quanto riguarda le caratteristiche tecnologiche dei ceppi oggetto di studio relativamente alla capacità acidificante tutti i ceppi hanno mostrato un andamento piuttosto simile nelle prime fasi di sviluppo, differenziandosi in maniera più significativa a partire dalle sei ore dall'inoculo quando inizia a delinearasi una suddivisione in due gruppi. Il pH registrato a 24 ore è risultato in media al di sotto di 4.0 per i ceppi appartenenti alle specie *A. kunkeei* e *Lp. plantarum*, mentre i ceppi appartenenti alla specie *Lim. fermentum* hanno mostrato un più basso potere acidificante abbassando dopo le 24 h il pH a un valore di poco inferiore a 4.5 (dati non mostrati).

L'attività acidificante dei batteri lattici modifica il glutine, influenzando la consistenza dell'impasto durante la lievitazione. Queste variazioni impattano sulla qualità del prodotto finito, determinando caratteristiche come morbidezza e capacità di ritenere il gas durante la cottura (Alkay *et al.*, 2023). Per quanto concerne l'attività proteolitica, i ceppi di *A. kunkeei* ALK_181 e DSM 12361 hanno mostrato un'elevata attività proteolitica; i ceppi di *Lp. plantarum* M_19 e *Lim. fermentum* 21M1 hanno mostrato una moderata attività proteolitica; mentre i restanti ceppi hanno mostrato una bassa attività proteolitica. Il possesso di una idonea attività proteolitica è un carattere interessante in quanto contribuisce a migliorare la consistenza, la digeribilità e le proprietà sensoriali dei prodotti da forno.

Nessuno dei ceppi saggiati ha, invece, mostrato attività lipolitica. Ciò rappresenta un vantaggio poiché la degradazione della matrice lipidica nell'impasto panario può apportare caratteristiche sensoriali sgradevoli a causa della liberazione di acidi grassi, che possono essere ossidati dalla lipossigenasi.

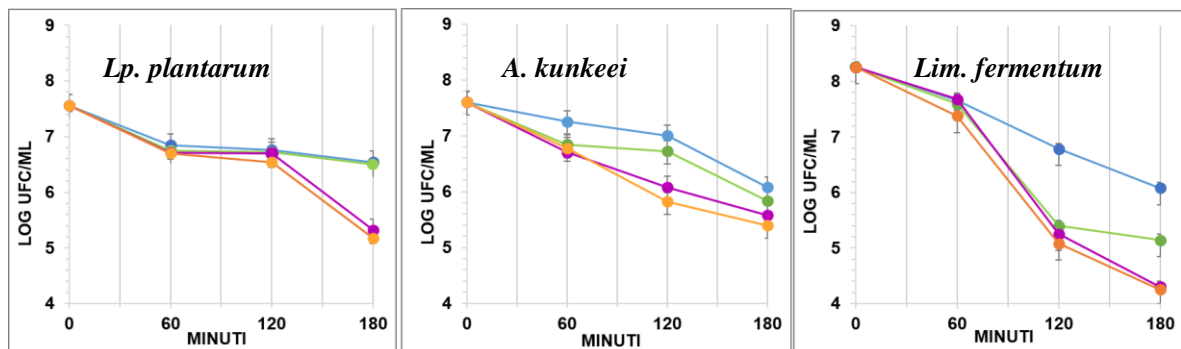


Figura 1. Andamento medio della resistenza allo stress osmotico dei ceppi appartenenti a *Lp. plantarum*, *A.kunkeei* e *Lim. fermentum*

La valutazione della resistenza allo stress osmotico ha mostrato un diverso comportamento delle 3 specie valutate, ma molto simile tra i ceppi all'interno della stessa specie (figura 1). I ceppi di *Lp. plantarum* hanno mostrato la migliore sopravvivenza fino a 120 min e maggiore alle concentrazioni di sale più basse (8 e 10%). I ceppi di *A. kunkeei* sono stati in grado di sopravvivere alle concentrazioni più elevate di NaCl. Mentre, i ceppi di *Lim. fermentum* hanno mostrato una maggiore sensibilità allo stress osmotico, mostrando una resistenza solo alla concentrazione dell'8% e facendo registrare un maggiore decremento delle cariche alle concentrazioni più elevate. La resistenza allo stress osmotico rende i ceppi in grado di sopravvivere e mantenere la loro attività metabolica, assicurando una fermentazione efficace e continua.

Infine per quanto concerne la capacità di consumo di fruttosio e glucosio i risultati sono riportati nella tabella 3. Tutti i ceppi di *A. kunkeei* hanno raggiunto una carica di circa 9.5 Log UFC/mL e il fruttosio è stato completamente consumato già dopo 12 ore di fermentazione, mostrando

un'ottima capacità di utilizzare il fruttosio presente nel mezzo. Mentre i ceppi di *Lp. plantarum* e di *Lim. fermentum* hanno metabolizzato più lentamente il fruttosio che era ancora rilevabile dopo 24 ore. La cinetica del consumo di fruttosio è stata modellata secondo l'Equazione di Gompertz ed espressa in g/L h^{-1} . In particolare, i ceppi di *A. kunkeei* hanno mostrato valori μ_{max} variabili da 2,25 a 2,79 g/L h^{-1} . Mentre, valori più bassi di μ_{max} sono stati riscontrati in *Lim. fermentum* 21M1 (0,28 $\text{g L}^{-1}\text{h}^{-1}$) e 21M2 (0,31 $\text{g L}^{-1}\text{h}^{-1}$) e nei ceppi di *Lp. plantarum* M_19 (0,86 g/L h^{-1}), Lp_31(0,88 g/L h^{-1}) e Lp_46 (0,91 g/L h^{-1}). Dall'altro canto, il metabolismo del glucosio nei ceppi di *A. kunkeei* è stato più lento rispetto a quello del fruttosio (dati non mostrati).

Tabella 3. Parametri cinetici (μ_{max}) del consumo di fruttosio nei ceppi saggiati

Sigla ceppi	Specie	* μ_{max}
ALK_181	<i>A. kunkeei</i>	2,79 ± 0,23
Lk_51	<i>A. kunkeei</i>	2,41 ± 0,23
Lk_112	<i>A. kunkeei</i>	2,25 ± 0,24
Lk_64	<i>A. kunkeei</i>	2,57 ± 0,22
DSM 12361	<i>A. kunkeei</i>	2,36 ± 0,22
21M1	<i>Lim. fermentum</i>	0,28 ± 0,10
21M2	<i>Lim. fermentum</i>	0,31 ± 0,11
Lp_31	<i>Lp. plantarum</i>	0,88 ± 0,18
Lp_46	<i>Lp. plantarum</i>	0,91 ± 0,15
M_19	<i>Lp. plantarum</i>	0,86 ± 0,13

Per quanto riguarda le caratteristiche di sicurezza, nessun ceppo saggiato ha prodotto ammine biogene (istamina, tiramina, putrescina, feniletilamina e cadaverina). Tale aspetto è da considerarsi positivo in quanto le ammine biogene possono avere effetti negativi sulla salute e sul sistema gastrointestinale.

Per quanto concerne la sensibilità/resistenza agli antibiotici, i ceppi di *Lp. plantarum*, hanno mostrato una sensibilità a tutti gli antibiotici testati ad eccezione della tetraciclina alla quale sono risultati resistenti. I ceppi appartenenti a *A. kunkeei*, sono risultati sensibili a tutti gli antibiotici utilizzati. Mentre i 2 ceppi di *Lim. fermentum*, hanno fatto registrare risultati differenti, il ceppo 21M1 è risultato resistente a: ampicillina, clindamicina, eritromicina e kanamicina mostrando, invece, una sensibilità al cloranfenicolo, gentamicina, streptomina e tetraciclina. A differenza del ceppo 21M2 che ha mostrato una resistenza alla kanamicina e alla tetraciclina e una sensibilità ai restanti antibiotici.

L'attività antimicrobica dai ceppi oggetto di studio è stata valutata utilizzando come ceppi indicatori un ceppo appartenente a una specie alterante *P. putida* DSM 291 e un ceppo appartenente specie *L. innocua* DSM 20649 che è stato utilizzato come sostituto della specie patogena *L. monocytogenes*; i risultati sono riportati nella tabella 4. In dettaglio, tutti i ceppi di *Lp. plantarum* hanno mostrato un'attività inibente nei confronti dei ceppi indicatori; l'attività più marcata è stata registrata per il ceppo Lp_46. Tutti i ceppi di *A. kunkeei*, ad eccezione del *type strain* hanno mostrato un'attività inibente nei confronti di *L. innocua* con aloni di inibizione compresi tra 0,2 e 0,8 cm. Mentre solo i ceppi ALK_181 e Lk_51 hanno mostrato un'attività inibente nei confronti di *P. fragi*. I ceppi di *Lim. fermentum* non hanno mostrato attività antimicrobica.

Tabella 4. Azione antimicrobica dei ceppi saggiati, espressa come diametro dell'alone di inibizione riportato in cm.

ID ceppi	Matrice d'isolamento	Specie	Alone di inibizione in cm	
			<i>L. innocua</i>	<i>P. fragi</i>
ALK_181	Api	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	0,6	0,5
Lk_51	Api	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	0,8	1,8
Lk_112	Api	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	0,2	0
Lk_64	Api	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	0,2	0
DSM12361	Ceppo tipo	<i>Apilactobacillus kunkeei</i>	0	0
21M1	Feci di neonato	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	0	0
21M2	Feci di neonato	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>	0	0
Lp_31	Api	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	0,5	0,8
Lp_46	Api	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	0,7	1,6
M_19	Vino	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	0,1	0,1

I risultati acquisiti evidenziano che ceppi riferibili *A. kunkeei*, oltre ad essere potenzialmente utili per quanto concerne l'aspetto nutrizionale e funzionale, sono in possesso di caratteristiche di interesse tecnologico compatibili con il processo di panificazione. Nello specifico, l'azione espressa da ceppi riferibili ad *A. kunkeei* hanno mostrato prestazioni acidificanti e proteolitiche prorogabili, e in alcuni casi superiori, a quella espressa da ceppi che notoriamente popolano il microbiota degli impasti acidi. Acquisizione che apporta una significativa implementazione delle conoscenze relative ai criteri di scelta dei ceppi da impiegare nella formulazione di colture starter per prodotti da forno a lievitazione biologica.

Bibliografia

- Acín Albiac M., Di Cagno R., Filannino P., Cantatore V., Gobbetti M. 2020. How fructophilic lactic acid bacteria may reduce the FODMAPs content in wheat-derived baked goods: A proof of concept. *Microbial Cell Factories*, 19: 1-11.
- Alkay Z., Alkay R., Dertli E., Kökten K., Durak, M. 2023. Rheological, textural and physicochemical properties of buckwheat sourdough bread prepared with different lactic acid bacteria strains. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 12(5).
- Bover-Cid S., Holzappel, W. H. 1999. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 53(1): 33-41.
- Gibson P.R., Halmos, E.P., Muir J.G. 2020. FODMAPS, prebiotici e salute intestinale: rivisitata l'ipotesi FODMAP. *Farmacologia e terapeutica alimentare*, 52(2): 233-246.
- Iorizzo M., Pannella G., Lombardi S.J., Ganassi S., Testa B., Succi M., Sorrentino E., Petrarca S., De Cristofaro A., Coppola R., Tremonte P. 2020. Inter- and Intra-Species Diversity of Lactic Acid Bacteria in *Apis mellifera ligustica* Colonies. *Microorganisms*, 8: 1578.
- Tremonte P., Pannella G., Succi M., Tipaldi L., Sturchio M., Coppola R., Luongo D., Sorrentino E. 2017. Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from different environments: a preliminary study. *International Food Research Journal*, 24(2): 852-859

Il riso dalla tradizione all'innovazione: dal risotto al sushi

F. Trivero, E. Fantozzi, A. Carnia, C. Simonelli*

Centro Ricerche sul Riso (CRR), Ente Nazionale Risi, Strada per Ceretto 4, 27030 Castello d'Agogna (PV).

*E-mail: f.trivero@enterisi.it

Abstract

Rice, due to its adaptability to various growing conditions, is used in numerous culinary preparations. In Italy, traditional rice-based dishes coexist with ethnic and fusion recipes, thanks to all the different available varieties. A few analytical parameters (grain morphology, amylose content, consistency, stickiness, and gel time) are enough to portray processed rice and determine the ideal varieties for each use. Glutinous rice, with low amylose content and high stickiness, is ideal for Asian desserts, while round grain rice is perfect for soups and sweets. Round grain varieties with crystalline grains, low protein content, high whiteness, and no cracked grains are ideal for sushi, the traditional Japanese dish. Long B varieties, with high amylose content, remain well-separated after cooking, making them suitable for salads and side dishes. Risotto, a typical dish from Northern Italy, requires rice with medium amylose content and a pearled grain for excellent absorption of flavors. Brown rice, richer in antioxidants, oligo-elements and often pigmented, is increasingly appreciated for its nutritional properties. Parboiled rice is well-suited for collective catering due to its resistance to cooking. Finally, rice is also used in Italy for sake production and poke, thanks to the versatility of local varieties.

Riassunto

Il riso, grazie alla sua adattabilità a diverse condizioni di coltivazione, è utilizzato in numerose preparazioni culinarie. In Italia, i piatti tradizionali a base di riso convivono con ricette etniche e fusion, sfruttando le diverse varietà disponibili. Pochi parametri analitici (morfologia del granello, amilosio, consistenza, collosità e gel time) bastano per caratterizzare il riso lavorato e trovare le varietà ideali per ciascun impiego. I risi glutinosi, con basso contenuto di amilosio ed elevata collosità, sono ideali per dolci asiatici, mentre i risi a granello tondo sono perfetti per minestre e dolci. Le varietà a granello tondo cristallino, con basso contenuto proteico, alto candore e senza grani fessurati, sono ideali per il sushi, piatto tradizionale giapponese. Le varietà del gruppo lungo B, con alto amilosio, restano ben sgranate e sono adatte per insalate e contorni. Il risotto, tipico del nord Italia, richiede riso con medio amilosio e perla nel chicco per un eccellente assorbimento dei condimenti. I risi integrali, più ricchi di antiossidanti, oligoelementi e spesso pigmentati, sono sempre più apprezzati per le loro proprietà nutritive. Il riso parboiled è adatto a cucine collettive grazie alla sua resistenza alla cottura. Infine, il riso è utilizzato in Italia anche per la produzione di sakè e nel pokè, grazie alla versatilità delle varietà locali.

Sommario

Il riso è un alimento che, grazie alla sua estrema versatilità nell'adattarsi alle differenti condizioni di coltivazione e pedoclimatiche, che hanno determinato lo sviluppo di migliaia di varietà nel mondo, si è dimostrato indicato per i più svariati impieghi culinari. In Italia i piatti tipici della tradizione a base riso vengono affiancati da preparazioni etniche o della cucina fusion a cui le innumerevoli varietà riescono ad adattarsi benissimo. Bastano pochi parametri analitici (dimensione del granello, amilosio, consistenza, collosità e tempo di gelatinizzazione)

per creare una vera e propria carta di identità del riso lavorato e per trovare le tipologie di riso più adatte ai diversi impieghi.

Tutte le tipologie di riso

- Risi lavorati: risotto, minestre o dolci, insalate o contorni, sushi.
- Risi parboiled: lavorati e integrali.
- Risi integrali: normali, neri e rossi.
- Risi “particolari”: per Pokè, per Sakè, waxy.

I diversi impieghi del riso lavorato

Le varietà italiane a granello tondo, tipicamente a basso contenuto di amilosio, con o senza perla, sono l'ideale per la preparazione di *minestre* o *dolci*. Se poi questa tipologia presenta un granello cristallino, basso contenuto proteico, ottimo candore del chicco ed assenza di grani fessurati, diventa vocata per il più tipico dei piatti nipponici: il *sushi*.

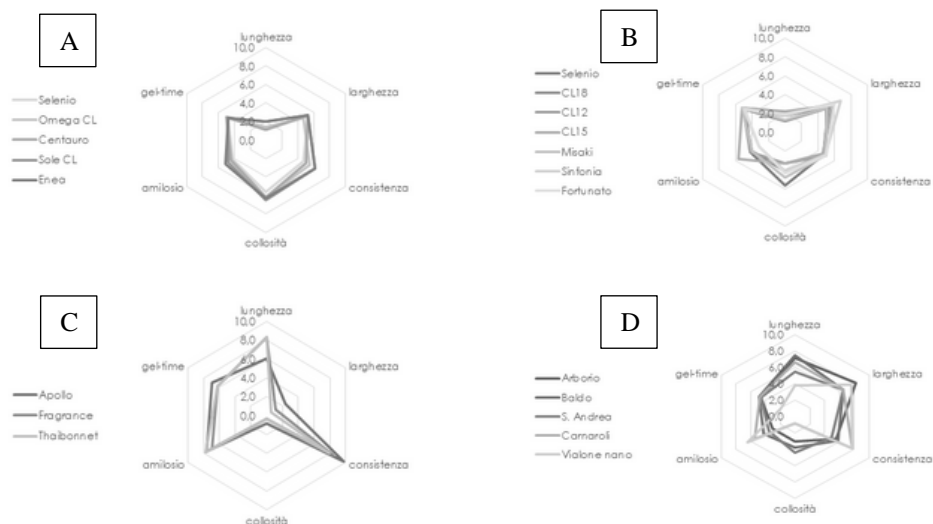


Figura 1. Rappresentazione mediante grafici radar del contenuto di amilosio e delle caratteristiche merceologiche e morfologiche di alcune varietà italiane di riso adatte alla preparazione di minestre o dolci (A), sushi (B), contorni o insalate (C) e risotti (D).

Di contro, varietà ad alto contenuto di amilosio, con granello lungo e affusolato (di tipologia lungo B), che a termine cottura rimangono ben sgranate, sono l'ideale per la preparazione di *insalate* o *contorni*. Possono inoltre possedere la peculiarità della presenza dell'aromaticità, così da rendere i preparati ancora più appetitosi!

Ultimo, ma non meno importante, il *risotto*, piatto tipico per eccellenza della tradizione del nord Italia, che trova l'ingrediente principale nelle varietà di riso a medio contenuto di amilosio; in effetti la presenza di perla nel chicco garantisce un risultato eccellente dovuto all'assorbimento dei condimenti.

Bibliografia

- Bao J. 2019. Rice Chemistry and Technology, Ed. Woodhead Publishing.
- Cormegna M., Simonelli C. 2011. Grani cristallini e tipo di perla: validazione del metodo analitico. *La Rivista di Scienze dell'Alimentazione*, Anno 40, n°4.
- Galassi L., Simonelli C., Cormegna M., Bianchi P. 2017. Analisi sensoriale e chimico-merceologiche di varietà di riso da risotti. Atti del VI Convegno Nazionale Società Italiana Scienze Sensoriali, Prato (PO), 2017, pp. 291-296.
- Kushwaha U. K. S. 2016. Black Rice, Ed. Springer.
- Simonelli C., Carnia A., Fantozzi E. 2023. Varietà di riso da sushi: caratteristiche e alternative italiane. *La Rivista di Scienze dell'Alimentazione – Journal of Food Science and Nutrition*, Anno 52, n°maggio-dicembre, pp. 45-58.
- Simonelli C., Cormegna M. 2023. Statistical Evaluation and Validation of a method for the Determination of Fragrance in Italian rice by Panel test. *La Rivista di Scienze dell'Alimentazione – Journal of Food Science and Nutrition*, Anno 52, n°gennaio-aprile, pp. 18-34.
- Simonelli C., Cormegna M., Tonello M. 2016. Valutare i risi aromatici”. *L'Assaggio*, n°55, autunno 2016.
- Simonelli C., Cormegna M. 2016. Riso: tutte le varietà per risotti. *Macchine Alimentari*.
- Simonelli C., Cormegna M. 2014. La carta di identità del riso”. *Intersezioni*, novembre 2014.
- Simonelli C., Cormegna M., Galassi L., Bianchi P. 2013. Cooking time and gelatinization time of rice Italian varieties. *The Journal of Food Science and Nutrition*, Anno 42, n°2.
- Singh R. K., Singh U. S., Khush G. S. 2000. Aromatic Rices, Science Publisher Inc.

Distribuzione di moniliformina nella molitura e fiocatura di mais

T. Bertuzzi^{1*}, P. Giorni²

¹Dipartimento di scienze animali, degli alimenti e della nutrizione (DIANA), Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense 84, 29122 Piacenza (PC).

²Dipartimento di scienze delle produzioni vegetali sostenibili (DIPROVES), Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense 84, 29122 Piacenza (PC).

*E-mail: terenzio.bertuzzi@unicatt.it

Abstract

Moniliformin (MON) is a widespread emerging mycotoxin often occurring in maize at significant levels. Few published studies investigated MON redistribution in maize derived products for human consumption; to better understand this issue, 5 maize lots with different level of MON contamination were processed following an industrial milling process to evaluate the redistribution of the mycotoxin in final products (grits), by-products destined to feed (bran and flour) and cleaning waste. MON was quantified by LC-MS/MS after purification step through SPE column. Relevant MON reduction was obtained after sieve cleaning, scourer process and optical sorting, achieving a decrement of the concentration level close to 70%. The following other milling procedures showed a limited reduction from cleaned maize to small and large grits; considering the entire industrial process, the reduction percentage of MON contamination in the final products was $80.9\pm 9.3\%$ and $81.0\pm 6.7\%$ for small and large grits, respectively. The flaking process showed a very limited reduction of MON, close to 10%. Considering the widespread of MON occurrence in maize, the study highlights the importance of cleaning steps to achieve a low risk of exposure for the consumer.

Riassunto

La moniliformina (MON) è una micotossina emergente spesso presente nel mais e nei suoi derivati a concentrazioni non trascurabili. Cinque lotti di mais a diverso livello di concentrazione di MON sono stati processati presso un mulino con degerminazione semi-umida per valutare la distribuzione di MON nei prodotti finiti (grits medio e fine), negli scarti di pulitura e nei sottoprodotti (farina, crusca e germe). L'analisi per la sua determinazione è stata effettuata mediante LC-MS/MS e colonna HILIC dopo estrazione e purificazione. Una rilevante riduzione, vicina al 70%, è stata ottenuta dopo le fasi di pulitura, effettuate mediante setacciatura, spazzolatura e selezione ottica. Le successive fasi di molitura hanno mostrato una limitata riduzione dal mais pulito agli spezzati a diversa granulometria senza rilevarne differenze. Elevati livelli sono stati trovati nei campioni di crusca con un incremento medio rispetto al mais pulito pari a 3.9 ± 2.0 , mentre il germe ha mostrato contaminazioni significativamente più basse, con valori di circa un terzo rispetto al mais pulito. Per l'intero processo, la riduzione percentuale di MON è stata di $80.9\pm 9.3\%$ e $81.0\pm 6.7\%$ per i grits fine e medio. Considerando la quantità di MON presente nel mais pulito e le percentuali medie di resa delle varie frazioni, la distribuzione di MON è stata pari al $39.1\pm 8.9\%$ nel grits medio, $7.1\pm 2.9\%$ in quello fine, $30.1\pm 9.1\%$ nella farina, $8.5\pm 4.3\%$ nella crusca, $2.0\pm 1.0\%$ nel germe, raggiungendo un bilancio totale di MON del $86.9\pm 6.5\%$. Il processo di fiocatura ha rilevato una riduzione molto bassa, vicino al 10%, mostrando come questa micotossina è stabile a temperature vicino a 100°C .

Introduzione

La moniliformina (MON) è una micotossina emergente presente nei cereali, con livelli elevati riscontrati nel mais, prodotta principalmente da *F. subglutinans*, *F. temperatum*, *F. verticilloides*

e *F. proliferatum*. È una molecola polare e acida e si presenta come sale di sodio o potassio solubile in acqua.

L'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA) ha indicato che la cardiotoxicità e l'epatotossicità sono i principali effetti avversi sulla salute. In questo lavoro è stata valutata la distribuzione di MON durante un processo di macinazione presso un impianto industriale di alcuni lotti di mais destinati al consumo umano contaminati a diversi livelli di MON. Sono stati raccolti e analizzati campioni durante l'intero processo per valutare la distribuzione di MON nei prodotti finiti (grits medio e fine), negli scarti di pulitura e nei sottoprodotti (farina, crusca e germe); infine, è stata determinata l'influenza del processo di fioccatore industriale per la produzione di corn flakes.

Materiali e metodi

Cinque diversi lotti commerciali di mais coltivati nel Nord Italia sono stati processati in un mulino industriale (Fig. 1). Inizialmente il mais è stato sottoposto a fasi di pulizia mediante setacciatura, spazzolatura e selezione ottica. Successivamente, il mais pulito è stato lavorato mediante un sistema di temperaggio e degerminazione consistente nell'aggiunta di acqua calda fino a raggiungere un livello di umidità pari a circa il 20%. Il mais è stato quindi macinato e setacciato per ottenere crusca, farina, grits medio e fine. I prodotti campionati rappresentavano un lotto di mais di circa 40 t e sono stati raccolti durante il processo di macinazione secondo il Regolamento CE 401/2006. Per ciascun prodotto, il campione finale (circa 5 kg) è stato ottenuto miscelando 30 campioni elementari (150-200 g ciascuno) raccolti ad intervalli regolari per 1 ora mediante procedura di campionamento dinamico. Inoltre, due lotti di mais pulito sono stati raccolti prima e dopo un processo di fioccatore industriale (95°C per 35 minuti).

L'analisi per la sua determinazione è stata effettuata mediante LC-MS/MS e colonna HILIC dopo estrazione con miscela H₂O:CH₃OH=50+50 e purificazione con colonna MycoSep® 240 Mon. È stato sviluppato un metodo di conferma mediante derivatizzazione con 1,2-diamino-4,5-dichlorobenzene (DDB) e successiva determinazione in LC-MS/MS.

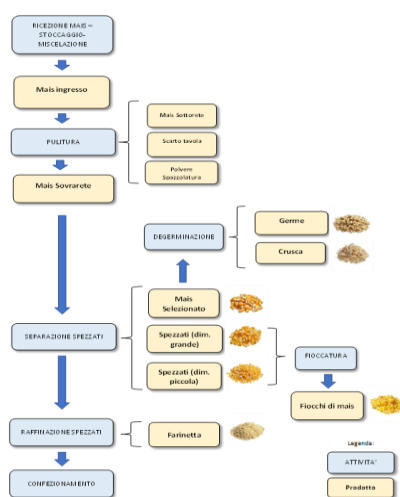


Figura 1. Schema dell'impianto di molitura.

Risultati e discussione

Una rilevante riduzione, vicina al 70%, è stata ottenuta dopo le fasi di pulitura, effettuate mediante setacciatura, spazzolatura e selezione ottica (Tab. 1). Le successive fasi di molitura hanno mostrato una limitata riduzione dal mais pulito agli spezzati a diversa granulometria senza rilevarne differenze rilevanti. Elevati livelli sono stati trovati nei campioni di crusca con un incremento medio rispetto al mais pulito pari a $3,9 \pm 2,0$, mentre il germe ha mostrato contaminazioni significativamente più basse, con valori di circa un terzo rispetto al mais pulito.

Per l'intero processo, la riduzione percentuale di MON è stata di $80,9 \pm 9,3\%$ e $81,0 \pm 6,7\%$ per i grits fine e medio. Considerando la quantità di MON presente nel mais pulito e le percentuali medie di resa delle varie frazioni, la distribuzione di MON è stata pari al $39,1 \pm 8,9\%$ nel grits medio, $7,1 \pm 2,9\%$ in quello fine, $30,1 \pm 9,1\%$ nella farina, $8,5 \pm 4,3\%$ nella crusca, $2,0 \pm 1,0\%$ nel germe, raggiungendo un bilancio totale di MON del $86,9 \pm 6,5\%$.

Tabella 1. Contaminazione di MON in frazioni di mais raccolte durante il processo di molitura.

	Maize 1	Maize 2	Maize 3	Maize 4	Maize 5
Mais non processato	574.3	482.1	153.2	1090	755.4
Scarti di pulitura	5099	2059	645.9	9167	3602
Mais con granulometria > 500 μm	325.5	420.7	118.5	421.5	524.4
Scarti delle tavole densimetriche	475.5	203.4	515.6	188.1	185.8
Mais pulito	131.8	119.6	59.5	256.8	253.0
Small grits	32.3	92.5	33.2	192.4	237.9
Large grits	53.7	82.9	37.8	195.5	195.8
Germe	21.4	40.0	26.1	60.1	160.9
Crusca	930.2	304.5	177.8	1205	1119
Farina zootecnica	263.6	107.7	91.7	291.4	343.2

Il processo di fiocatura ha rilevato una riduzione molto bassa, vicino al 10%, mostrando come questa micotossina è stabile a temperature vicino a 100°C (Tab. 2).

Tabella 2. Riduzione durante il processo di fiocatura.

	Mais grits	Mais flakes	Riduzione (%)
Lotto 1	169.1	149.2	11.7 %
Lotto 2	41.8	38.2	8.6 %

Lo studio rileva come nel processo di molitura una quantità rilevante di MON, vicina al 50%, rimane nei prodotti finali (grits), mentre le fasi di pulitura sono molto efficaci nel ridurre la contaminazione, Il processo di fiocatura non riduce in modo significativo il livello di contaminazione da moniliformina.

MountainHER: un progetto PRIMA per rafforzare l'economia delle montagne ed il ruolo delle associazioni femminili nei Paesi del Mediterraneo, attraverso prodotti alimentari a base di cereali da filiera agro-ecologica

M. Marchini^{1}, I. Mazzoli¹, F. Bassi², M. Ben Salem³, N. Mamula⁴, R. El Amil⁵, N. Bahri⁶, F. Djellakh⁷, A. Bouslamti⁸, H. Ben Ghanem³, R. Mrabet (Project Coordinator)⁶*

¹Open Fields, Strada Madonna dell' Aiuto 7/a, 43126 Parma (PR).

²ICARDA, Station Exp. INRA-Quich Rue Hafiane Cherkaoui, Rabat, Marocco.

³INRA-T, Rue Hédi Karray TN-2049 Ariana, Tunisia.

⁴PINS, Ivana Gorana Kovačića 3, 51 311 Skrad, Croazia.

⁵LARI, Bekaa, Tal Amara, Libano.

⁶INRA, 245X+JX9, Av. Abbasr, Rabat 10000, Marocco.

⁷ITGC, 2, avenue des Frères Ouadek. BP 200 Hassen BADI. El Harrach CP 16200, Algeri,

Algeria; ⁸Oxfam, 12 Rue Hamza, Rabat, Marocco.

*E-mail: m.marchini@openfields.it

Abstract

The MountainHER project (PRIMA) aims at strengthening women's associations as a driving force for agro-ecological transformation, with the scope of generating income for mountain farming communities. In the two years of the project, six mountain cooperatives (one for each country: Algeria, Croatia, Italy, Lebanon, Morocco, Tunisia) were involved in the testing and selection of the varieties of durum wheat and barley best suited to each area, laying the foundations for a resumption of cultivation even in areas where it had been partly abandoned. Agro-ecological techniques such as no-till sowing, intercropping, the use of biostimulants and "compost tea", as well as, before sowing, biochar, were tested. At the same time, in parallel with market research, the first products based on prototype supply chains and business models were developed (flour, bread, couscous, beer in Italy, etc.), for which concept tests are being organized through dedicated events.

Riassunto

Il progetto MountainHER (PRIMA) si propone di rafforzare le associazioni di donne come fonte propulsiva della trasformazione agro-ecologica, con l'obiettivo di generare reddito per le comunità agricole di montagna. Nei due anni di esecuzione del progetto, sei cooperative montane (una in ciascun paese: Algeria, Croazia, Italia, Libano, Marocco, Tunisia) sono state coinvolte nelle prove e selezioni delle varietà di grano duro e orzo più adatte a ciascun areale, ponendo le basi per una ripresa della coltivazione anche in zone dove questa era stata in parte abbandonata. Sono state sperimentate tecniche agro-ecologiche quali la semina su sodo, la bulatura, l'impiego di biostimolanti e «tè di compost», nonché, ante semina, di biochar. Contemporaneamente, parallelamente alla conduzione di indagini di mercato, sono stati messi a punto i primi prodotti e modelli di business imperniati sulle filiere prototipali (sfarinati, pane, cous-cous, birra in Italia...), per le quali si stanno organizzando test di concetto tramite eventi dedicati.

Introduzione

Il problema

Le comunità rurali montane del Mediterraneo risentono di un relativo isolamento dai mercati, di politiche di marketing insufficienti e di particolari criticità climatiche, acuite dal cambiamento climatico che l'intero pianeta sta vivendo. Ciò ostacola l'accesso delle imprese localizzate in montagna ai margini di profitto che potrebbero derivare dalla vendita dei prodotti locali. Si verificano pertanto fenomeni di abbandono delle montagne e, soprattutto nella regione del Medio Oriente e del Nord Africa, un'emigrazione maschile verso i centri urbani e una

femminilizzazione sia del lavoro che della gestione agricola. In tali regioni, le donne si trovano ad affrontare limitazioni nell'accesso alle competenze e nella capacità decisionale (Dina Najjar, 2019). Del resto, i pregiudizi di genere continuano a ostacolare le possibilità di successo delle donne nel settore agricolo anche in Europa (European Parliament, 2019).

L'opportunità

A fronte della situazione descritta, si configurano tuttavia anche importanti opportunità, legate ai fenomeni, recentemente osservati a livello internazionale, dell'amplificazione della domanda di prodotti alimentari tradizionali e locali, di un vissuto positivo dei prodotti montani, percepiti come più sani e naturali da un consumatore che persegue, in modo crescente, un maggior livello di salute anche tramite la selezione dei prodotti alimentari acquistati. La creazione di associazioni (spesso cooperative) – in grado non solo di produrre prodotti locali di montagna di alta qualità ricorrendo a tecniche che ne rafforzino la sostenibilità, ma anche di valorizzare correttamente tali prodotti e modalità di produzione secondo modelli di business accuratamente progettati – può generare opportunità di occupazione, nelle aree montane, per le donne, per i giovani e per altre persone vulnerabili.

Il progetto ed i suoi obiettivi

Il progetto MountainHER s'inserisce nel quadro descritto attraverso un processo di empowerment multidisciplinare, che coinvolge – sempre con grande attenzione alla rimozione di ostacoli alla piena espressione del ruolo femminile – la selezione partecipata di varietà idonee di grano duro ed orzo, la valutazione di specifiche tecniche agro-ecologiche, lo sviluppo della capacità di riproduzione sementiera e di auto-produzione di fertilizzanti in un'ottica di economia circolare, la realizzazione ed il test di mercato di prodotti con posizionamento elevato grazie anche alle qualità nutrizionali, la definizione di business model e business plan sulla base dei dati raccolti lungo tutta l'attività progettuale (Fig. 1). La proposta di valore è pertanto imperniata sull'origine, sul valore sociale e su una coltivazione rispettosa dell'ambiente. Il progetto è rinforzato da un'intensa attività di training e di disseminazione, con coinvolgimento dei decisori politici.

A livello organizzativo, il progetto è articolato in sette pacchetti di lavoro (workpackage, WP). Il primo di essi riguarda sia il coordinamento sia le relazioni con altri progetti, finalizzati ad un'utile condivisione di best practices. Il secondo pacchetto di lavoro riguarda la ricerca partecipata per la selezione varietale, con addestramento alla produzione di sementi locali; il WP3 è focalizzato sulla selezione e verifica di pratiche agro-ecologiche adeguate ai singoli areali, con produzione di fertilizzanti da economia circolare; il WP4 svolge il complesso compito dell'individuazione e rimozione delle barriere all'empowerment femminile e quindi allo sviluppo di poteri decisionali e capacità imprenditoriali. All'interno del WP5 si sta procedendo alla definizione dei prodotti e alle relative analisi nutrizionali; il WP6 accentra le attività di marketing e di business planning, mentre il WP7 coordina le attività di disseminazione, rivolte non solo alle istituzioni e alle cooperative agricole, ma anche a potenziali clienti del catering e della ristorazione (quindi di fatto all'intero universo degli stakeholder).

I partner del progetto MountainHer sono: 1) Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), coordinatore, Marocco; 2) International Center for the Agricultural research in the Dry Area (ICARDA), Libano e Marocco; 3) Lebanese Agricultural Research Institute (LARI), Libano; 4) Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie (INRA-T), Tunisia; 5) Institut Techniques des Grandes Cultures (ITGC), Algeria; 6) PINS (agenzia di sviluppo locale), Croazia; 7) Fundación Oxfam Intermón, Spagna e Marocco; 8) Open Fields (società di consulenza per l'innovazione nell'agroalimentare), Italia; 9) Birrificio Emiliano (Italia).



Figura 1. Gli obiettivi e l'articolazione del progetto MountainHER

Materiali e metodi

I “laboratori viventi”

Sei comunità montane ad elevata componente femminile (in Algeria, Croazia, Italia, Libano, Marocco e Tunisia) sono state attivate come “laboratori viventi” per la sperimentazione e l’implementazione prototipale di filiere agro-ecologiche per la realizzazione di prodotti a base di grano duro ed orzo.

Il progetto è condotto tramite un approccio “olistico” partecipativo che coinvolge sia le fasi agricole che quelle di realizzazione e commercializzazione dei prodotti, nonché di rafforzamento reputazionale della cooperativa e all’adozione di strumenti per il superamento, ove presenti, di eventuali barriere al ruolo femminile.

La sperimentazione agro-ecologica

La sperimentazione in campo – sia direttamente presso le aziende agricole che in stazioni sperimentali di centri di ricerca – ha previsto, durante il primo anno, di testare 16 diverse varietà (8 di frumento, di cui 2 locali, e 8 di orzo, di cui 2 locali), per poi ridurre la sperimentazione degli anni successivi a 8 varietà (4 di frumento, di cui una locale, e 4 di orzo, di cui una locale), in base alle performance dei relativi ambienti. Esclusi gli ecotipi locali, le altre varietà hanno tute pedigree di provenienza ICARDA. A questa selezione sono state unite anche varie sperimentazioni agro-ecologiche, diverse da ambiente ad ambiente, per essere messe a confronto con le pratiche di agricoltura tradizionale del luogo. In Italia sono state testate pratiche quali: distribuzione di biochar e compost, bulatura di trifoglio (sia *Trifolium pratense* che *Trifolium repens*) e distribuzione di biostimolanti a base di batteri azotofissatori in fase di pre-fioritura. Le comunità locali sono state ampiamente coinvolte mediante l’organizzazione di giornate in campo, con effetti sull’interesse e sulla vocazione imprenditoriale.

I prodotti ed il loro collocamento sul mercato

I prodotti “pilota” stati sono individuati e realizzati presso le comunità locali, con il supporto del team di progetto dei partner, non solo in fase di formulazione gastronomica, ma anche per quanto riguarda l’analisi e test di mercato, le analisi nutrizionali, l’individuazione delle modalità di valorizzazione, la definizione dei modelli di business, con stima di un primo conto economico di prodotto. La prima produzione si è avvalsa di un apporto parziale di ingredienti prodotti localmente, per un primo test di “concetto” presso il pubblico in occasione di eventi. In particolare, sono stati prodotti: la birra “Brigosa” (realizzata dal partner di progetto Birrificcio

Emiliano di Anzola Emilia) con l'acqua di sorgente di Rigoso; biscotti, focaccia e un dolce tipico ("spongata") con farine analoghe a quelle potenzialmente ottenibili nell'area. Con il procedere della sperimentazione e l'estensione della coltivazione ad aree più ampie sarà possibile ampliare la quota di ingredienti derivati da cereali ottenuta localmente.

Sono previste indagini di mercato (tre indagini successive, con focus crescente sul marketing mix) per il corretto posizionamento dei prodotti. La prima di queste, realizzata a fine 2023 con la metodologia CAWI, ha coinvolto 200 consumatori per ciascuno dei sei Paesi coinvolti, segmentati per area, genere ed età. Ad essi sono stati mostrati esempi semplificati di etichette per prodotti come la pasta, il couscous, il pane, la birra recanti diversi elementi della proposta di valore dei prodotti oggetto di sviluppo, con richiesta di indicazione delle emozioni suscitate da ciascuno di essi. I primi risultati di indagini e test mostrano un significativo interesse per la naturalità e l'origine montana dei prodotti: rimane da valutare, con le survey successive, l'entità della "willingness" to pay associata alla percezione di valore.

I processi decisionali ed il ruolo femminile

Le cooperative partecipanti sono state studiate anche dal punto di vista degli statuti e dei processi decisionali, con la proposta di suggerimenti volti non solo a rafforzare il ruolo femminile, ma anche a rendere l'attività imprenditoriale più fluida ed efficace. È previsto un workshop per l'esame di tali analisi in collaborazione con le istituzioni regionali e locali.

Risultati e discussione

Il progetto è in corso di realizzazione. Tra i risultati conseguiti sono da evidenziare:

- il completamento di parte delle prove di coltivazione e dei processi di selezione varietale;
- l'avvio della formazione per la produzione sementiera locale;
- la realizzazione dei primi prodotti (birra con acqua sorgiva locale, sfarinati, focacce, ecc.);
- l'impostazione di modelli e manuali per la definizione di business model e business planning;
- la realizzazione della prima indagine presso i consumatori di tutti e sei i paesi coinvolti;
- la fornitura di indicazioni alle cooperative per una migliore visibilità aziendale e per una migliore organizzazione interna, finalizzata soprattutto al rafforzamento del ruolo delle donne e dei giovani;
- l'aumento, riscontrato nel corso delle interazioni progettuali, di fiducia e di interesse nei confronti dell'attivazione di una produzione locale di cereali.

I risultati finora conseguiti necessitano di approfondimento e dibattito tra i partner e le cooperative, ma sono già particolarmente incoraggianti e tali da far prefigurare indicazioni non solo fattibili ed efficaci, ma anche riproducibili in altri contesti.

Ringraziamenti

Si ringraziano: l'Unione Europea, PRIMA foundation e tutto il partenariato.

Bibliografia

European Parliament, Policy Department for Citizens' Rights and Constitutional Affairs, Directorate General for Internal Policies of the Union, "The professional status of rural women in the EU", PE 608.868 May 2019.

Dina Najjar, Guidelines for Facilitating Women's adoption of Improved Cereal Varieties in Sex-segregated Cultures [Guideline], PE 608.868 May 2019.

Approcci agronomici rigenerativi: caratterizzazione tecnologica di linee di frumento perenne coltivate in Italia

E. Galassi^{1*}, C. Natale^{1,2}, F. Nocente¹, F. Taddei¹, E. Gosparini¹, A. Arcangeli¹, V. Del Frate¹, C. Cecchini¹, G. Galaverna³, L. Gazza¹

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Via Manziana 30, 00189 Roma (RM).

²Università di Roma Campus Bio-Medico, Via Álvaro del Portillo 21, 00128 Roma (RM).

³Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco (S.A.F.), Università di Parma, Parco Area delle Scienze 17/a, Parma (PR).

*E-mail: elena.galassi@crea.gov.it

Abstract

Cereals are the basis of human nutrition and among these, after rice and corn, wheat is the most cultivated in the world with 219 million hectares, of which 24 million in the Mediterranean area and approximately 1.8 in Italy. Drought, conflicts and high prices are worsening food security in many countries. The CHANGE-UP project funded by PRIMA program, whose objectives include redesigning agricultural systems for the Mediterranean area in order to make them more resilient to climate change, concerns the cultivation and characterization of perennial wheat lines grown in Italy, Algeria, Tunisia and Morocco. In this study, four perennial genotypes (235a, 20238, Ok72 and 11955), grown at Montelibretti (Rome), were examined for their technological and rheological properties (1000 kernel weight, test weight, protein content, alveograph and SDS sedimentation tests, gluten content and gluten index, falling number and ash percentage). For all the analyses, an annual durum wheat and the perennial species *Thinopyrum intermedium* (Kernza®) were used as controls. On average, the perennial lines presented a 1000 kernel weight about half of the control durum wheat, but with a higher protein content, and good test weight values only for the genotypes Ok72 and 11955. The line 235a showed the best performance in terms of gluten quality.

Riassunto

I cereali sono la base dell'alimentazione umana e tra questi, dopo riso e mais, il grano è il più coltivato al mondo con 219 milioni di ettari, di cui 24 milioni nei paesi del bacino del Mediterraneo e circa 1,8 in Italia. Siccità, conflitti e prezzi elevati, stanno aggravando l'insicurezza alimentare in molti Paesi. Il progetto CHANGE-UP finanziato nell'ambito del Programma PRIMA, tra i cui obiettivi c'è quello di ridisegnare i sistemi agricoli per l'area del Mediterraneo allo scopo di renderli maggiormente resilienti ai cambiamenti climatici, riguarda lo sviluppo e la caratterizzazione di linee di grano perenne coltivate in Italia, Algeria, Tunisia e Marocco. Nel presente studio sono stati esaminati per le loro proprietà tecnologiche e reologiche (peso 1000 semi, peso ettolitrico, contenuto proteico, test alveografici e di sedimentazione SDS, contenuto in glutine ed indice di glutine, falling number e tenore in ceneri), quattro genotipi di grano perenne (235a, 20238, Ok72 e 11955), coltivati a Montelibretti (Roma). Per tutte le analisi sono stati usati come controllo un frumento duro annuale e la specie perenne *Thinopyrum intermedium* (Kernza®). In media, le linee perenni hanno presentato un peso 1000 semi pari a circa la metà di quello del frumento duro di controllo, ma con un contenuto proteico più elevato, e buoni valori di peso ettolitrico solo per i genotipi Ok72 e 11955. La linea 235a ha mostrato le migliori prestazioni in termini di qualità del glutine.

Introduzione

I sistemi agricoli intensivi basati sull'ottimizzazione della produttività delle colture annuali sono stati considerati tra le principali cause di degrado del suolo a livello mondiale (Glover 2005) e fonte di una quantità significativa di gas serra (Smith *et al.* 2014); inoltre, sono

minacciati dal cambiamento climatico che influenza fortemente le rese (Smith 2008). Pertanto, l'adozione di pratiche più sostenibili potrebbe ridurre l'impatto dell'agricoltura sul clima e migliorarne la resilienza. Il progetto di ricerca *'Innovative agro-ecological APPROACHES TO ACHIEVING RESILIENCE TO CLIMATE CHANGE IN MEDITERRANEAN COUNTRIES'* (CHANGE-UP) coordinato dall'Università di Parma nell'ambito del programma *'Partnership for Research and Innovation in the Mediterranean Area'* (PRIMA), finanziato dall'Unione Europea (2021-2024), ha l'obiettivo di sviluppare approcci agroecologici innovativi con l'obiettivo di contrastare gli effetti avversi dei cambiamenti climatici nelle produzioni agricole dei paesi del bacino del Mediterraneo, garantendo al contempo sicurezza alimentare e redditi agricoli sostenibili. Le colture perenni stanno emergendo come una strategia efficace di adattamento ai cambiamenti climatici e di mitigazione delle emissioni nette di gas serra provenienti dall'agricoltura. Le nuove linee ottenute mediante ibridazione e/o addomesticamento da incroci tra *Triticum* ssp e *Thinopyrum* spp hanno un grande potenziale nel migliorare le proprietà fisico-chimiche del suolo, la biodiversità e la composizione della rete alimentare. I loro sistemi radicali più estesi e la copertura permanente del suolo le rendono competitive contro le erbe infestanti e più efficaci nel catturare nutrienti ed acqua, inoltre, la ripresa della fase vegetativa dopo il raccolto riduce la necessità di lavorazione del terreno proteggendolo dall'erosione e aumentando il sequestro del carbonio attraverso la riduzione dell'ossidazione della sostanza organica (Glover *et al.* 2010). Lo sviluppo di linee di grano perenne che presentino buone caratteristiche agronomiche, nutrizionali e tecnologiche, è, quindi, una nuova strategia che può contribuire all'implementazione della produzione agricola sostenibile, della sicurezza alimentare e della qualità ambientale.

Materiali e metodi

Nel presente studio quattro genotipi di grano perenne (235a, 20238, Ok72 e 11955), ottenuti dall'incrocio di grano tenero (*T. aestivum*) e grano duro (*T. durum*) con varie specie di *Thinopyrum* (Tab.1), selezionati in studi precedenti per le buone performances agronomiche e la qualità nutrizionale (Gazza 2016), sono stati coltivati presso i campi sperimentali del CREA-IT di Montelibretti (Roma) secondo un disegno randomizzato a blocchi in tre repliche. Come controllo sono state utilizzate la specie perenne *Thinopyrum intermedium* (Kernza®) e il grano duro annuale cv Ardente.

Tabella 1. Origine e *pedigree* di genotipi di grano perenne

GENOTIPO	PEDIGREE	ORIGINE
20238	<i>T. turgidum</i> × <i>Ag. elongatum</i>	(CIMMYT)
235a	<i>T. aestivum</i> × <i>Th. ponticum</i> × <i>T. aestivum</i>	(WSU, USA)
Ok72	<i>T. aestivum</i> × <i>Th. ponticum</i>	(USA)
11955	<i>Triticum aestivum</i> × <i>Thinopyron ponticum</i>	(USA)
Kernza®	<i>Thinopyrum intermedium</i>	(TLI, USA)

Sui campioni raccolti sono stati determinati il peso mille semi (ISO 520:2010) ed il peso ettolitrico (ISO 7971-1:2009). La granella è stata macinata con il Cyclotech (mod. 1093-Tecator FOSS). I parametri alveografici (P, L e W) degli sfarinati integrali sono stati analizzati mediante l'Alveografo Chopin (AACC 54-30.02), il contenuto di glutine secco e l'indice di glutine sono stati determinati con l'apparecchio Glutomatic 2200 (Perten) secondo il metodo AACC 38-12. Il test di sedimentazione SDS è stato valutato mediante il metodo standard AACC 56-70.01. Per la determinazione del numero di caduta (falling number) è stato utilizzato il sistema Perten 1500 (metodo AACC 56-81B). Il contenuto delle proteine totali ed il contenuto in ceneri sono stati determinati rispettivamente mediante i metodi ufficiali ICC 105/2 e AACC 08-01.01. Tutti i dati sperimentali sono stati sottoposti all'analisi della varianza ANOVA seguita dal test di

Duncan ($p < 0,05$) mediante il software MSTATC (Michigan State University, East Lansing, MI, USA).

Risultati e discussione

Le analisi relative alla dimensione della cariosside ed al peso ettolitrico, fattori importanti associati alla qualità molitoria, hanno evidenziato, in media, semi piuttosto piccoli nelle linee perenni, con un peso 1000 semi pari a circa la metà di quello del frumento duro di controllo (29,5 g vs 60,5 g), mentre i valori di peso ettolitrico più elevati tra i genotipi perenni (> 70 kg/hL) sono stati riscontrati nei campioni Ok72 e 11955 (Tab. 2).

Tabella 2. Caratteristiche tecnologiche delle cariossidi e degli sfarinati integrali di grani perenni coltivati a Montelibretti (Roma)

	Peso 1000 Semi (g)	Peso ettolitrico (kg/hL)	Proteine (g/100g)	Ceneri (g/100g)
20238	31,4 ^b	66,53 ^c	18,28 ^b	2,32 ^c
235a	27,8 ^c	61,38 ^d	18,70 ^b	2,41 ^b
Ok72	27,9 ^c	70,47 ^b	16,80 ^c	2,63 ^a
11955	30,8 ^b	70,67 ^b	16,50 ^c	2,13 ^d
<i>Thinopyrum intermedium</i>	5,5 ^d	n.d.	21,43 ^a	2,67 ^a
<i>Triticum durum</i>	60,5 ^a	76,14 ^a	15,20 ^d	1,69 ^e

Lettere differenti indicano differenze statisticamente significative (Test Duncan $p < 0,05$). n.d.= non determinato.

Il contenuto proteico delle linee perenni è risultato in media di 2 punti superiore rispetto al frumento duro (17,57 vs 15,20 g/100g), ma inferiore al *Thinopyrum* (21,43 g/100g). Il tenore in ceneri degli sfarinati integrali ha mostrato valori superiori al 2% in tutti i frumenti perenni, probabilmente in parte dovuto alle dimensioni ridotte delle cariossidi (Tab. 2).

Per quanto riguarda le analisi relative alla qualità del glutine (Tab.3), estremamente rilevanti nella determinazione della qualità panificatoria in quanto forniscono informazioni utili sulla capacità della farina di produrre impasti elastici e forti necessari per la produzione di prodotti da forno lievitati, il campione 235a ha riportato le migliori prestazioni in termini di indice di glutine (Fig.1), test di SDS e valori alveografici (Fig.2). In particolare, i campioni 235a e 11955 hanno mostrato valori di indice di glutine che rientrano nel range che definisce la qualità del glutine media (GI = 40–80%), mentre è risultata debole (GI < 30%), nella linea 20238; quest'ultima, nonostante l'alto contenuto proteico ha riportato i valori peggiori tra tutti i genotipi perenni per l'attitudine alla panificazione. Inoltre, per il campione di *Thinopyrum* non è stato possibile determinare l'indice di glutine in quanto la maglia glutinica non si è formata.

Tabella 3. Parametri relativi alla qualità del glutine e Falling number di linee di grano perenne, *Thinopyrum intermedium* e di frumento duro.

	Indice di glutine (%)	Contenuto in glutine (% s.s.)	SDS (mL)	W (10 ⁴ J)	Falling number (sec)
20238	3 ^e	14,02 ^b	33,5 ^d	29 ^e	329,0 ^d
235a	77 ^b	13,48 ^c	54,0 ^a	210 ^b	372,50 ^b
Ok72	37 ^d	11,41 ^d	n.d.	119 ^c	309,0 ^e
11955	55 ^c	16,84 ^a	50,0 ^b	75 ^d	340,0 ^c
<i>Thinopyrum intermedium</i>	n.d.	n.d.	35,0 ^d	39 ^{de}	230,0 ^f
<i>Triticum durum</i>	93 ^a	10,50 ^e	42,0 ^c	235 ^a	482,5 ^a

Lettere differenti indicano differenze statisticamente significative (Test Duncan $p < 0,05$); n.d. = non determinato.

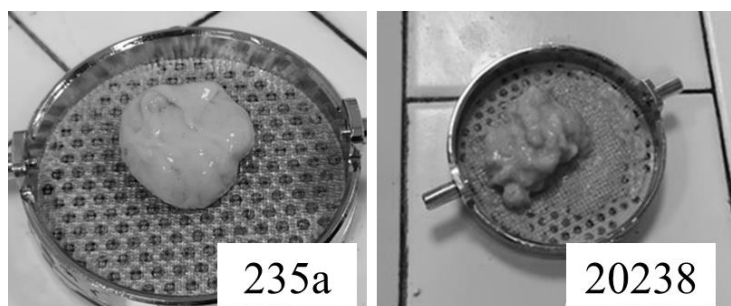


Figura 1. Determinazione dell'indice di glutine delle linee di grano perenne 235a e 20238.

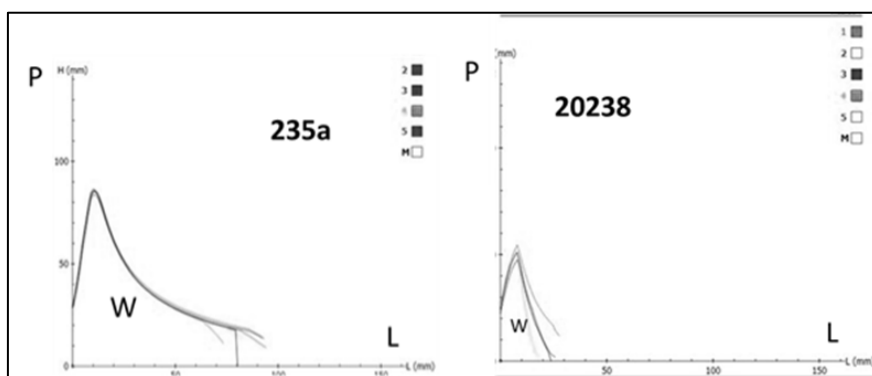


Figura 2. Diagrammi alveografici delle linee di grano perenne 235a e 20238.

Il falling number, utilizzato per valutare la qualità di panificazione della farina di frumento in relazione all'attività amilasica, ha riportato in tutti i campioni, ad eccezione del *Thinopyrum* (248 sec), valori superiori a 300 secondi (Tab. 3), indicando una bassa attività amilasica, che potrebbe determinare un ritardo nella fermentazione e prodotti con una crosta dura e poco elastica.

L'identificazione di genotipi perenni, più adatti alle mutevoli condizioni dell'area mediterranea, con caratteristiche nutrizionali e tecnologiche di buona qualità, consentirà quindi lo sviluppo di nuovi prodotti utili per aumentare la sicurezza e la biodiversità alimentare, attualmente

considerata uno degli indicatori principali negli Obiettivi di sviluppo sostenibile delle Nazioni Unite per il 2030.

Lo sviluppo di linee di grano perenne e la loro diffusa adozione da parte di mugnai, panettieri e consumatori sarà facilitato dal miglioramento dell'eliminazione delle glume dal chicco al momento della trebbiatura, della qualità della macinazione e della qualità panificatoria e delle caratteristiche nutrizionali, inclusa la digeribilità del glutine. Pertanto, oltre a far fronte alle principali caratteristiche agronomiche (resa in granella, percentuale di ricrescita dopo il taglio post raccolta e resistenza alle malattie), le superiori qualità nutrizionali e tecnologiche ed una migliore attitudine alla trasformazione sembrano essere i tratti chiave su cui puntare per il miglioramento genetico dei genotipi di frumento perenne.

Bibliografia

AACC 1999. *American Association of Cereal Chemists, Approved Methods*, 11th ed. Methods 54-30.02, Alveograph method for soft and hard wheat flour. St. Paul, MN, USA.

AACC 2010. *American Association of Cereal Chemists, Approved Methods*. 11th ed. Methods 38-12.02, Wet gluten, dry gluten, water-binding capacity, and gluten index. St. Paul, MN, USA.

AACC 2010. *American Association of Cereal Chemists, Approved Methods*, 11th ed. Methods 56-70.01, Sodium dodecyl sulfate sedimentation test for durum wheat. St. Paul, MN, USA.

AACC 2010. *American Association of Cereal Chemists, Approved Methods*, 11th ed. 56-81B Determination of falling number. St. Paul, MN, USA.

AACC 2013. *American Association of Cereal Chemists, Approved Methods*, 11th ed. Methods 08-01.01 Ash. St. Paul, MN.

Gazza L., Galassi E., Ciccoritti R., Cacciatori P., Pogna N. E. 2016. Qualitative traits of perennial wheat lines derived from different *Thinopyrum* species. *Genetic Resources And Crop Evolution*, 63: 209-219.

Glover J.D. 2005. The necessity and possibility of perennial grain production systems. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 20: 1-4

ICC 2003. *International Association for Cereal Science and Technology, Standard Methods* No. 105/2, Vienna, Austria.

ISO 2009. *International Organization for Standardization*. Determination of Bulk Density, Called Mass per Hectolitre-Part 1: Reference Method; Method 7971-1:2009; ISO: Geneva, Switzerland.

ISO 2010. *International Organization for Standardization*. Cereals and Pulses-Determination of the Mass of 1000 Grains; Method 520:2010; ISO: Geneva, Switzerland

Smith P. 2008. Land use change and soil organic carbon dynamics. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 81:169–178.

Smith P., Bustamante M., Ahammad H., Clark H., Dong H., Elsiddig E.A., Haberl H., Harper R., House J., Jafari M., Masera O., Mbow C., Ravindranath N., Rice C.W., Robledo Abad C., Romanovskaya A., Sperling F., Tubiello F. 2014. Agriculture, Forestry and Other Land Use (AFOLU). In: *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change*. Contribution of Working Group III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Edenhofer O et al., eds.]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Popolazioni evolutive di frumento: un approccio di agricoltura rigenerativa per filiere sostenibili e di qualità

C. Natale^{1,2}, E. Galassi¹, F. Nocente¹, F. Taddei¹, M. Naso¹, P. Cacciatori¹, S. Folloni³, G. Visioli⁴, S. Ceccarelli, G. Galaverna⁴, L. Gazza¹*

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Via Manziana 30, 00189 Roma (RM).

²Università di Roma Campus Bio-Medico, Via Álvaro del Portillo 21, 00128 Roma (RM).

³Open Fields S.r.L, Str. Madonna dell' Aiuto 7/a, 43126 Parma (PR).

⁴Università di Parma, Parco Area delle Scienze 11/a, 43124 Parma (PR).

*E-mail: chiara.natale@crea.gov.it

Abstract

Intensive agricultural systems based on optimizing productivity of monocultures are now widely criticized for their negative environmental impacts and for the loss of agricultural and food biodiversity. Conversely, highly diversified cropping systems based on agro-ecological principles have been shown to have potential benefits in terms of biodiversity conservation and ecological sustainability. In this context, the cultivation of evolutionary populations, mixtures of seeds of different varieties of the same cereal species, is establishing itself, relying on a spontaneous selection and evolution brought about by the environment. This strategy will be able to limit yield losses due to extreme climatic conditions and diseases and will guarantee farmers' income, as evolutionary populations can continuously adapt to the conditions in which they are growing. This study regards the integration of two common wheat evolutionary populations (EPs), in crop rotation with different species of leguminous plants. Field trials are carried out to evaluate the agronomic characteristics of the EPs. The nutritional and technological characterization of the grains and flours are carried out. The proposed strategy may have the potential for good agronomic performance even in more sustainable cultivation regimes and satisfy the technological and nutritional quality of flours.

Riassunto

I sistemi agricoli intensivi basati sull'ottimizzazione della produttività delle monoculture sono oggi ampiamente criticati per il loro impatto negativo sull'ambiente. Al contrario, sistemi agricoli altamente diversificati, basati su principi agro-ecologici hanno mostrato potenziali benefici in termini di conservazione della biodiversità e di sostenibilità ecologica. In questo contesto si sta affermando la coltivazione sperimentale di popolazioni evolutive, un insieme di genotipi diversi della stessa specie sottoposti a cicli di semina e raccolta, affidati alla selezione naturale per l'evoluzione. Questa strategia potrà contribuire a limitare le perdite di raccolto causate da condizioni climatiche estreme e da attacchi di patogeni, grazie alla capacità intrinseca delle popolazioni evolutive di adattarsi continuamente alle condizioni in cui crescono. Questo studio ha previsto l'impiego di due popolazioni evolutive (EP) di frumento tenero in rotazione colturale con diverse specie di leguminose in due areali italiani. Le EP sono state caratterizzate dal punto di vista agronomico, tecnologico e nutrizionale. La strategia agro-rigenerativa proposta può avere non solo il potenziale di buone performance agronomiche anche in regimi di coltivazione più sostenibili, ma anche di soddisfare i parametri di qualità tecnologica e nutrizionale delle farine.

Introduzione

I cereali sono alla base dell'alimentazione umana e svolgono un ruolo molto importante per assicurare la disponibilità alimentare. Il cambiamento climatico ha già provocato una produzione altalenante dei cereali e una maggiore vulnerabilità della condizione generale delle popolazioni rurali. È quindi fondamentale migliorare la produzione e la resilienza dei cereali. Le popolazioni evolutive sono miscele formate da semi di diversi genotipi della stessa specie, diverse dalle varietà moderne, in quanto non sono geneticamente uniformi e non sono stabili nel tempo. Proprio grazie al fatto di essere costituite da migliaia di semi tutti diversi tra loro, le popolazioni hanno la capacità di modificarsi gradualmente adattandosi alle diverse condizioni climatiche, ai diversi terreni ma anche alle diverse tecniche colturali; forniscono anche produzioni stabili da un anno all'altro, sono in grado di resistere a malattie, insetti e infestanti più efficacemente delle colture monovarietal rendendo meno necessario l'uso di pesticidi, quindi riducendo i costi di produzione e diventando le colture ideali per un'agricoltura biologica e rigenerativa (Ceccarelli, 2020). Nell'ambito del progetto CHANGE-UP, due diverse popolazioni evolutive di grano tenero (Li Rosi e Floriddia) sono state seminate in rotazione colturale con diverse specie di leguminose, presso l'azienda sperimentale di Montelibretti (Roma) del CREA-IT e presso due aziende agricole di Parma. Insieme alle due popolazioni evolutive, come controlli sono state utilizzate la varietà moderna di frumento tenero Monnalisa in entrambe le località, la cultivar vestita di *Triticum monococcum* cv 'Norberto' a Montelibretti e la popolazione di grano tenero BIO2 presso le aziende di Parma. La scelta di inserire una varietà della specie *Triticum monococcum* nel disegno sperimentale è stata dettata anche dal fatto che, al contrario delle varietà comunemente utilizzate nelle monoculture di grano tenero e duro, il grano monococco è una specie 'rustica' possiede, cioè, una naturale adattabilità a diversi ambienti, anche marginali, caratterizzati da terreni a diversa struttura e composizione e una elevata tolleranza a numerosi patogeni e stress ambientali. Queste caratteristiche, lo rendono un cereale particolarmente adatto a un'agricoltura sostenibile e a basso impatto ambientale (Hidalgo *et al.*, 2008; Gazza *et al.*, 2023). Le leguminose utilizzate come precessione per la coltivazione dei cereali sono di fondamentale importanza in quanto sono in grado di fissare l'azoto atmosferico e trasformarlo in azoto organico, risparmiando così unità di azoto sintetico da somministrare durante la coltivazione. Pertanto, l'obiettivo è stato quello di indagare se le popolazioni evolutive risultino, rispetto alle coltivazioni monovarietal, più resilienti in termini di adattamento alle mutevoli condizioni climatiche, alle malattie e alle infestanti, garantendo al contempo alti standard di qualità tecnologica e nutrizionale.

Materiali e metodi

Le due popolazioni evolutive, Li Rosi e Floriddia, sono state seminate in plot di 1800 m² sulle precessioni cece e trifoglio presso l'azienda sperimentale di Montelibretti (Roma) del CREA-IT e su pisello, favino e frumento presso due aziende agricole di Parma. Come controllo sono state utilizzate una varietà moderna di frumento, cv Monnalisa in entrambe le località, la cultivar vestita di *T. monococcum* cv 'Norberto' a Montelibretti e la popolazione di grano tenero BIO2 presso le aziende di Parma. Le coltivazioni sono state effettuate senza l'utilizzo di concimi, diserbanti e antiparassitari e senza intervento irriguo in nessuna fase. I campioni sono stati valutati per le loro caratteristiche agronomiche (resa, numero di tillers, presenza di fitopatie), merceologiche e tecnologiche (peso 1000 semi, peso ettolitrico, analisi predittiva Infratec Analyzer, contenuto proteico, test alveografici e di sedimentazione SDS, indice di glutine) e nutrizionali (amido totale, amido resistente, fibra dietetica totale, capacità antiossidante).

Caratteristiche agronomiche

I dati agronomici rappresentano la media di 3 repliche di campo. Le fitopatie indagate sono state: ruggine nera, bruna, gialla.

Caratteristiche merceologiche e tecnologiche

Per la determinazione del peso 1000 semi è stato utilizzato il metodo UNI EN ISO 520. Per le misurazioni predittive di umidità, proteine e peso ettolitrico sul campione di granella intera è stato utilizzato il FOSS Infratec 1241 Grain Analyzer. Per la determinazione del contenuto proteico degli sfarinati di frumento è stato utilizzato il metodo Dumas seguendo la metodologia ufficiale AACC n. 46-30. Le prove alveografiche sono state realizzate utilizzando l'Alveografo di Chopin modello NG, secondo il metodo AACC 54-30.02. L'analisi del Gluten Index è stata condotta secondo il metodo AACC 38-12, mentre il test di sedimentazione SDS secondo il metodo AACC 56-70.0.

Caratteristiche nutrizionali

La determinazione del contenuto di amido totale è stata effettuata secondo il metodo proposto da McCleary et al. (1994) utilizzando il kit Megazyme Assay Kit. Il contenuto di amido resistente è stato determinato secondo il metodo ufficiale AOAC (2002) utilizzando il Megazyme Assay Kit. Per la determinazione del contenuto totale di fibra dietetica (TDF) è stato utilizzato il metodo enzimatico-gravimetrico AOAC 991.43, (1995). La capacità antiossidante totale (TAC) è stata determinata in accordo con il metodo diretto utilizzato da Martini *et al.* (2014).

Risultati e discussione

Le due popolazioni evolutive cresciute a Montelibretti hanno mostrato valori di peso 1000 semi superiori sulla precessione con cece (44,72g Li Rosi e 47,48g Floriddia) rispetto al trifoglio (38,78g Li Rosi e 43,94g Floriddia). Al contrario, nella precessione con trifoglio sono stati riscontrati i valori di resa più elevati (Li Rosi e Floriddia rispettivamente 30,39 q/ha e 24,03 q/ha, mentre su cece 25,53 q/ha e 18,50 q/ha). Il numero significativamente più elevato di tillers è stato riscontrato nel Monococco (39 su trifoglio e 24,7 su cece), seguito dalla popolazione evolutiva Floriddia (11,8 su trifoglio e 13,5 su cece); Li Rosi e Monnalisa hanno mostrato un numero di tillers inferiore (rispettivamente, 9 su trifoglio e 10,3 su cece per il primo e 8 su trifoglio e 10,5 su cece per il secondo) rispetto agli altri campioni. In generale, la precessione con cece ha portato ad un aumento del numero di tillers in tutti i campioni. Sia nelle popolazioni evolutive che nei controlli non sono state rilevate fitopatie, ad eccezione della popolazione evolutiva Li Rosi coltivata su precessione con cece e trifoglio a Montelibretti, sulla quale sono state riscontrate tracce di ruggine bruna.

Per quanto riguarda le analisi tecnologiche (Fig.1), le popolazioni evolutive cresciute su precessione con leguminose hanno mostrato valori di W alveografico più alti rispetto a quelli cresciuti su precessione con grano. Inoltre, nelle popolazioni evolutive e in Monnalisa cresciute a Montelibretti è stato rilevato un W più alto rispetto agli stessi campioni cresciuti a Parma. In generale, l'impasto con la forza (W) più elevata è risultato quello ottenuto dalla cv. Monnalisa su trifoglio a Montelibretti; la popolazione Li Rosi sulla stessa precessione e località ha mostrato un valore di W che rientra nella stessa classe ($120 < W < 240$) del controllo monovarietale (Fig. 1). Come per il W alveografico, anche il test SDS e il contenuto in glutine risultano più elevati nelle popolazioni evolutive cresciute su precessione di leguminose rispetto a quelle cresciute su precessione grano, nonostante entrambe le popolazioni coltivate nelle tre diverse località siano caratterizzate da uno scarso indice di glutine (< 50) (Fig. 1). Il numero di qualità farinografica fornisce informazioni dettagliate sul comportamento dell'impasto durante la miscelazione, consentendo di valutare la qualità e le prestazioni della farina stessa. Per quanto

riguarda le popolazioni evolutive, dai grafici si evince che sia a Parma che a Montelibretti, Li Rosi coltivata su precessione di legumi è quella con un numero di qualità farinografica più elevato rispetto a Floriddia e, in particolare a Montelibretti, questo valore supera significativamente anche il grano tenero di controllo.

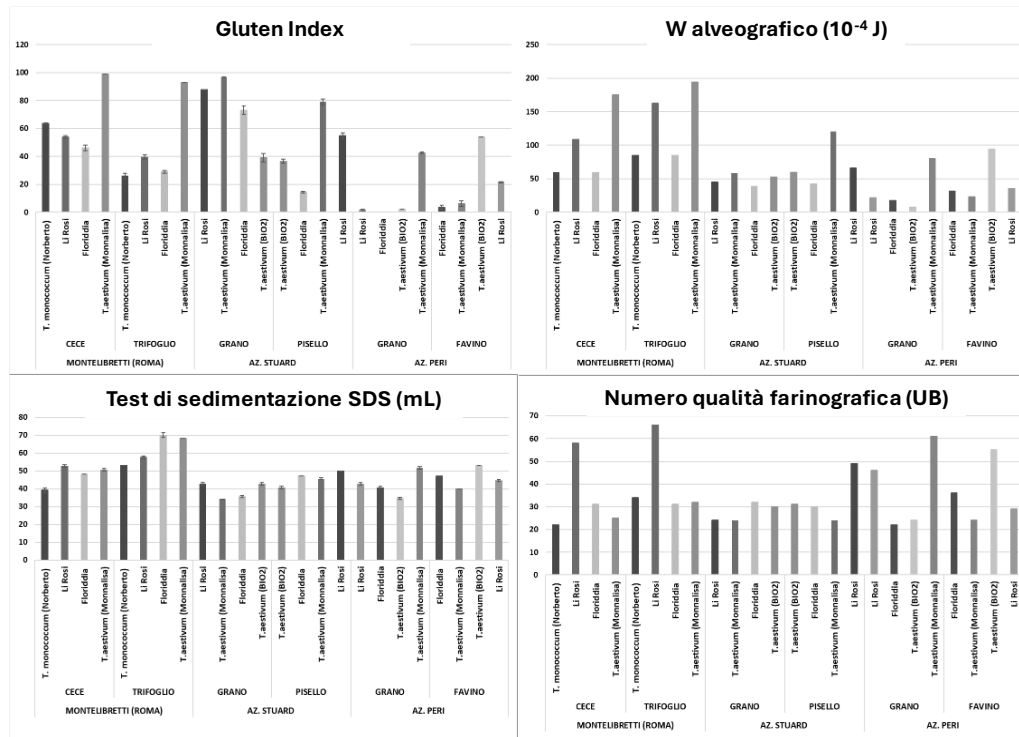


Figura 1. Caratteristiche tecnologiche delle popolazioni evolutive, del monococco cv Norberto, della popolazione BIO2, e del grano tenero cv Monnalisa, a Montelibretti e nelle due aziende Stuard e Peri a Parma, sulle precessioni cece, trifoglio, pisello, favino o grano.

In Figura 2 sono riportati i risultati delle analisi nutrizionali. Per quanto riguarda le popolazioni evolutive raccolte a Montelibretti, il contenuto proteico era significativamente più alto (+4% in Floriddia e +3% in Li Rosi) sul trifoglio rispetto al cece. A Parma, presso l'azienda Stuard, è stato invece osservato un incremento significativo del contenuto proteico per entrambe le popolazioni evolutive precedute da pisello; nell'azienda agricola Peri, con la precessione favino, Li Rosi ha guadagnato quasi il 3,5% di contenuto proteico, mentre Floriddia ha mostrato risultati non in linea con gli altri campioni (Fig. 2). Entrambe le popolazioni hanno mostrato valori più alti di amido totale e resistente e di TDF sulla precessione del cece rispetto al trifoglio. Al contrario, la TAC è risultata più alta sul trifoglio rispetto al cece (Fig. 2). Le due PE coltivate presso le aziende agricole di Parma si sono rivelate più ricche in amido resistente, TAC e TDF quando coltivate dopo le leguminose (pisello o favino); come previsto, dato il minor contenuto proteico, l'amido totale è risultato maggiore nelle popolazioni coltivate su precessione frumento. Tutti i campioni hanno rivelato una percentuale di ceneri superiore a 1,8% che è il valore limite di legge per la farina integrale.

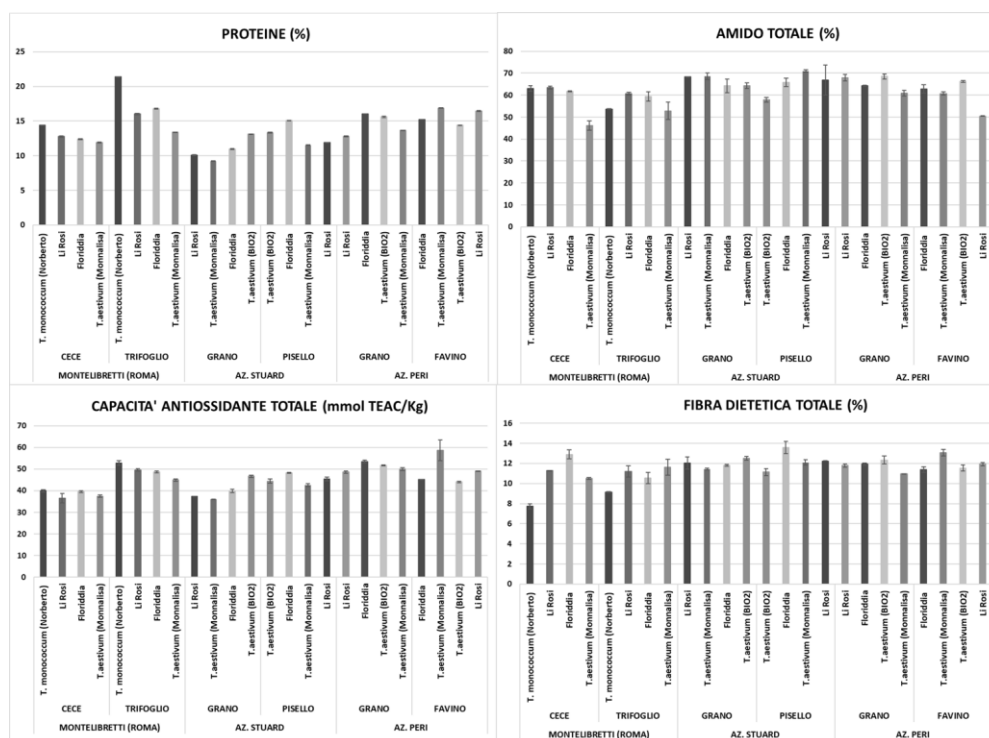


Figura 2. Caratteristiche nutrizionali delle popolazioni evolutive, del monococco cv Norberto, della popolazione BIO2, e del grano tenero cv Monnalisa, a Montelibretti e nelle due aziende Stuard e Peri a Parma, sulle precessioni cece, trifoglio, pisello, favino o grano.

In conclusione, i risultati ottenuti mostrano che le popolazioni evolutive hanno buone caratteristiche sia tecnologiche che nutrizionali, evidenziandone, quindi, la potenzialità come materia prima per lo sviluppo di filiere cerealicole rigenerative.

Bibliografia

- Ceccarelli S. 2020. *Le Popolazioni Evolutive ICARDA*. Tratto da Wordpress: <https://salvatorececcarelli.wordpress.com/2020/04/03/le-popolazioneevolutive-icarda/>
- Gazza L., Hidalgo A., Brandolini A. 2023. A high protein ancient wheat species: Einkorn. *Journal of Cereal Science*, 114: 103790.
- Hidalgo A., Brandolini A., Gazza L. 2008. Influence of steaming treatment on chemical and technological characteristics of einkorn (*Triticum monococcum* L.spp monococcum) wholemeal flour. *Food Chemistry*, 549-555.
- ISO 2010. *International Organization for Standardization*. Cereals and Pulses-Determination of the Mass of 1000 Grains; Method 520:2010; ISO: Geneva, Switzerland
- AACC 2010. *American Association of Cereal Chemists*. 46-30; 54-30.02; 38-12; 56-70.01. In *Approved Methods of Analysis*, 11th ed.; AACC International: St. Paul, MN, USA.
- Martini, D., Taddei, F., Nicoletti, I., Ciccoritti, R., Corradini, D., D'Egidio, M. G. 2014. Effects of genotype and environment on phenolic acids content and total antioxidant capacity in durum wheat. *Cereal Chemistry*, 91(4): 310-317.
- McCleary B. V., Solah V., Gibson T. S. 1994. Quantitative measurement of total starch in cereal flours and products. *Journal of Cereal Science*, 20: 51-58.
- AOAC 2002. *Association of Official Analytical Chemists*. *Official Methods of Analysis*; Gaithersburg, MD, USA.

Popolazioni evolutive di frumento coltivato su diverse precessioni in regime biologico stimolano processi del suolo e biodiversità microbica

G. Giannelli^{1*}, C. Védère², C. Rumpel², L. Gazza³, S. Folloni⁴, G. Galaverna¹, G. Visioli⁵

¹Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco (S.A.F.), Università di Parma, Parco Area delle Scienze 11/A, 43124 Parma (PR).

²C.N.R.S., UMR Sorbonne U, CNRS, IRD, INRA, UPEC, Paris, Francia.

³Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni Agroalimentari, Via Manziana 30, 00189 Roma (RM).

⁴Open Fields s.r.l., Str. Madonna dell' Aiuto 7/A, 43126 Parma (PR).

⁵Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità Ambientale (S.C.V.S.A.), Università di Parma, Parco Area delle Scienze 27/A, 43124 Parma (PR).

*E-mail: gianluigi.giannelli@unipr.it

Abstract

Evolutionary populations (EPs) present an excellent alternative to monoculture due to their high genetic diversity, which allows for better adaptability to various stresses. An interesting aspect is the interaction between the root systems of EPs and soil microorganisms, essential for soil health and plant well-being. This study aimed to investigate how different organic cultivation practices of EPs of wheat could influence soil and rhizosphere processes, improving soil quality within a regenerative agriculture framework. We analysed the chemical and microbial characteristics of the soils and rhizospheres of two EPs of wheat (Furat Li Rosi and Furat Floriddia) cultivated in two Italian sites (Parma and Rome) under different preceding crops (legumes and wheat). A spectral fingerprint of the organic matter quality in the soil and rhizosphere across various cropping systems, enzymatic activities microbial biomass, soil EL-FAME (methyl esters and fatty acids), and nitrogen concentrations were analysed to correlate microbial activities with organic matter quality and soil chemical characteristics. The results demonstrate that EPs can influence the composition of soil organic matter by altering microbial functioning, depending on the site and cultivation system.

Riassunto

Le popolazioni evolutive (EPs) rappresentano un'eccellente alternativa alla monocoltura grazie alla loro elevata diversità genetica, che consente una migliore adattabilità a vari stress. Un aspetto interessante è l'interazione tra le radici delle EP e i microrganismi del suolo, essenziali per la salute del suolo e il benessere delle piante. Questo studio ha voluto indagare come diverse pratiche di coltivazione biologica delle EP di grano possano influenzare i processi del suolo e della rizosfera, migliorandone la qualità nell'ambito di un'agricoltura rigenerativa. Abbiamo analizzato le caratteristiche chimiche e microbiche dei suoli e delle rizosfere di due EP di grano (Furat Li Rosi e Furat Floriddia) coltivate in due siti italiani (Parma e Roma) con diverse precessioni (legumi e grano). Per correlare le attività microbiche con la qualità della sostanza organica nel suolo e nella rizosfera, sono state analizzate le attività enzimatiche, la biomassa microbica, gli EL-FAME (esteri metilici e acidi grassi) e le concentrazioni di azoto nel suolo. I risultati dimostrano che le EP possono influenzare la composizione della sostanza organica del suolo alterando il funzionamento microbico, a seconda del sito e del sistema di coltivazione.

Introduzione

La coltivazione di varietà ad alta resa, l'uso massiccio di fertilizzanti e i prodotti agrochimici hanno causato il degrado del suolo, portando alla perdita di carbonio organico e al deterioramento delle funzioni biologiche del suolo (Kopittke *et al.*, 2019). Ripristinare il

contenuto di SOM rafforzando le interazioni pianta-suolo risulta cruciale per incrementare la sostenibilità dei sistemi agricoli (Janzen *et al.*, 2022). Per ottimizzare le interazioni pianta-suolo, è stato suggerito di sfruttare le interazioni ecologiche di piante diverse in sistemi di coltivazione basati sulle rotazioni (Gaba *et al.*, 2014). In questo studio ci siamo concentrati su un sistema costituito da coltivazioni di popolazioni evolutive (EPs) di frumento in rotazione con leguminose. Le EPs sono costituite da piante che presentano un elevato grado di diversità genetica intraspecifica (Ceccarelli *et al.*, 2022) e possono rispondere in modo più efficiente adattandosi ai cambiamenti climatici (Reiss *et al.*, 2011). Le EPs sono solitamente ottenute mescolando semi F1 o F2 ottenuti dall'incrocio di varietà di frumento, lasciando che si evolvano in un sito specifico al fine di migliorare il loro adattamento alle condizioni pedoclimatiche del sito (Döring *et al.*, 2011). Un aspetto importante ma poco esplorato dell'adattamento delle EPs ad ambienti ostili è il cross-talk tra radici e microrganismi, che può influire sulla quantità e la composizione della SOM. Lo studio ha valutato l'effetto delle rotazioni EPs/leguminose sulla SOM e sui processi microbici del suolo in due siti italiani (Parma e Roma). Confrontando due EPs evolute in due pedoclimi mediterranei e una varietà convenzionale, sono stati analizzati la composizione microbica e SOM nella rizosfera, in rotazione e in monocoltura, per capire l'impatto della diversità genetica delle EPs e della coltura precedente.

Materiali e metodi

Frumento convenzionale, popolazioni evolutive (EPs) e campi sperimentali

È stata scelta la varietà moderna di grano tenero Monnalisa (*Triticum aestivum* L.), commercializzata da CGS sementi-Semìa (Monnalisa, CGS sementi, Acquasparta, TR, Italia). Le due EPs (Furat Li Rosi e Furat Floriddia) sono popolazioni di frumento (*Triticum aestivum* L.) evolute da una stessa EP che è stata assemblata nel 2009 da Salvatore Ceccarelli e Stefania Grando con la collaborazione dei breeders del Centre for Agriculture Research in Dry Areas (ICARDA, Beirut, Libano). L'EP Furat Floriddia si è sviluppata a Peccioli, in Toscana (43,29 N 10,47 E; 124 m s.l.m.). L'EP Furat Li Rosi si è sviluppata a Raddusa, in Sicilia (37,29 N 14,29 E; 315 m s.l.m.). L'esperimento è stato condotto per 20 mesi secondo lo schema rappresentato in Figura 1. In nessuno dei siti sono stati utilizzati trattamenti di fertilizzazione, controllo dei parassiti o erbicidi. Il primo campo sperimentale era situato presso l'Azienda Agraria Sperimentale Stuard di Parma (44,79 N 10,27 E; 50 m s.l.m.). Nel sito di Parma sono state utilizzate colture di pisello e frumento tenero come precessione. Il secondo campo è stato allestito in Roma presso l'azienda sperimentale del CREA-IT (Montelibretti Roma; 42,08 N 12,44 E; 24 m s.l.m.). Nel sito di Roma sono state utilizzate colture di alfalafa e cece come precessione.

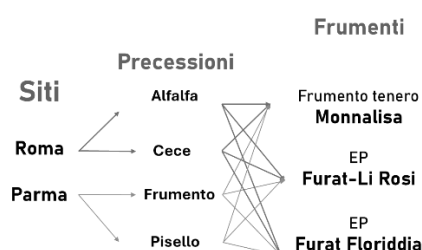


Figura 1. Disegno sperimentale dei campi di Parma e Roma

Mid Infrared analysis (MIRS) e contenuto d'azoto

Le analisi MIRS sono state eseguite su terreni essiccati e macinati (200 μm) utilizzando una spettroscopia FTIR (Tensor 27, Bruker, Fällanden, Svizzera) operante in modalità di riflettanza totale attenuata (ATR). Le misure sono state effettuate a intervalli di 2 cm^{-1} nell'intervallo MIR (da 4000 a 600 cm^{-1}) e convertite in assorbanza. Sono state effettuate correzioni della linea di

base e delle interferenze di CO₂ e H₂O e le assorbanze sono state riportate come A/1000 S.I. L'intensità dell'assorbanza è stata normalizzata con la somma dell'assorbanza totale (4000-600 cm⁻¹) ed è stato utilizzato un filtro Savitzky-Golay per rimuovere il rumore (ordine del filtro = 3 e lunghezza del filtro = 15). I picchi sono stati rilevati utilizzando il software OriginPro e il metodo "local maximum" (Bottinelli *et al.*, 2021) ed estratti per l'analisi statistica multivariata. Il rapporto tra composti alifatici e aromatici è stato calcolato utilizzando il rapporto tra l'intensità del C-H alifatico a 3010-2810 cm⁻¹ e l'intensità del C=C aromatico a 1660-1580 cm⁻¹ (Tinti *et al.*, 2015). Il contenuto di azoto è stato misurato su terreni essiccati e macinati (200 µm) utilizzando un analizzatore elementare (FlashEA 1112 Series, Thermo Electron).

Attività enzimatiche

Sono stati analizzati diciannove enzimi idrolitici coinvolti nei principali cicli nutritivi, ovvero: arilsolfatasi (Aryl-s), α-glucosidasi (Alpha-g), β-glucosidasi (Beta-g), α-galattosidasi (α-gal), β-galattosidasi (β-gal), cellulasi (Cell), β-1,4-xilanasi (Xil), β-D-glucuronidasi (Uroni), chitinasi/N-acetil-β-D-glucosaminidasi (Chit), arginasi (Arg), leucina amino-peptidasi (Leu), proteasi aspecifica (A-prot), fosfomonoesterasi acida (Ac-phos) e alcalina (Alk-phos), inositolo-fosfatasi (Inosit-phos), perossidasi (Peroxidase), ossidasi (Oxidase), Fluoresceina diacetato (Fda), Serin-like-proteasi (Cbz) e nonanoato-esterasi (Nona). Le attività enzimatiche sono state misurate in triplicato utilizzando suolo rizosferico mediante la procedura descritta in Cowie *et al.*, 2013.

Composizione microbica

Per caratterizzare la composizione della comunità dei microrganismi viventi più probabilmente influenzati dalla coltivazione di diverse colture, abbiamo caratterizzato gli "Ester-Linked Fatty Acid Methyl Ester" (EL-FAME) secondo la procedura descritta in Li *et al.*, 2020 e utilizzando 3 g di suolo liofilizzato. Sono stati inoltre calcolati i rapporti tra batteri gram-positivi e gram-negativi.

Risultati e discussione

Dalle analisi MIRS è emerso che le precessioni hanno indotto cambiamenti nella composizione della SOM nei suoli rizosferici ma non nei suoli bulk di coltivazioni di EPs e Monnalisa. I dati complessivi della rizosfera campionati in entrambi i siti dopo la raccolta delle EPs e di Monnalisa hanno mostrato contenuti di N simili. Tuttavia, i dati hanno mostrato differenze specifiche per il sito. Mentre a Parma il contenuto di N nel suolo è simile indipendentemente dalla precessione o dalla varietà, abbiamo osservato differenze significative a Roma (Fig. 2), dove la precessione con alfalfa sembra aver aumentato il contenuto di N nel suolo più della precessione col cece, indipendentemente dalla varietà di frumento. Inoltre, le EPs successive al cece hanno mostrato contenuti di N nel suolo più elevati rispetto a Monnalisa (Fig. 2). Al contrario, mentre il rapporto tra composti aromatici e alifatici è simile a Roma indipendentemente dalla varietà o dalla precessione, l'uso del pisello a Parma ha indotto una tendenza alla diminuzione del rapporto tra composti alifatici e aromatici rispetto al grano come coltura precedente (Fig. 2). La SOM della rizosfera è influenzata dalle precessioni nel primo anno di coltivazione delle EPs.

L'analisi EL-FAME non ha evidenziato differenze significative tra EPs e Monnalisa (Fig. 3), mentre la precessione sembra indurre cambiamenti nella comunità microbica. Infatti il GMP:GMN è risultato essere più alto in piante coltivate con precessione alfalfa rispetto a quelle con precessione frumento. Il rapporto GMP:GMN viene utilizzato come indicatore della disponibilità relativa di C. Pertanto, il leggero aumento del rapporto in seguito alla precessione con leguminose potrebbe indicare la presenza di forme più recalcitranti di C nel suolo.

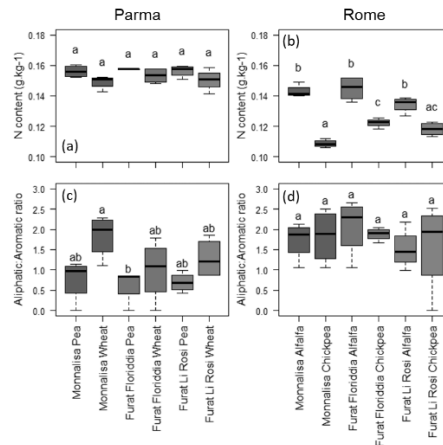


Figura 2. Contenuto d'azoto (a,b) e rapporto tra alifatici e aromatici (c,d) delle EPs e Monnalisa usando diverse rotazioni in Parma (a,c) e Roma (b,d). Lettere rappresentano i risultati del test di Dunn ($n=4$) (a) o del test di Tukey ($n=4$) (b,c,d).

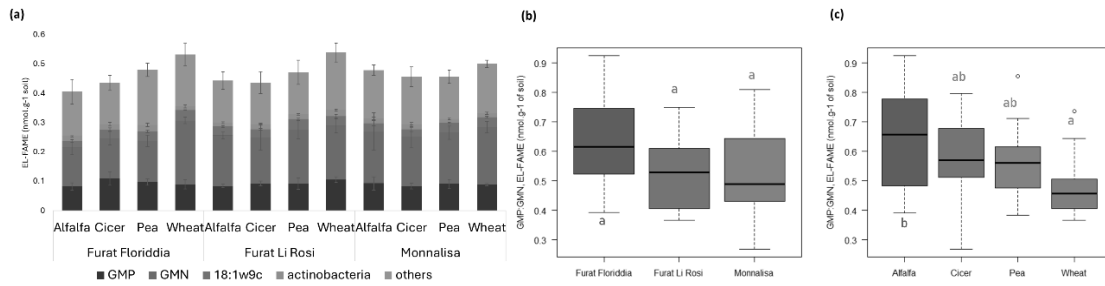


Figura 3. EL-FAME totale (a), rapporto Gram-positivi/Gram-negativi (GMP:GMN) (b) delle EPs e Monnalisa e delle diverse rotazioni usate a Parma e Roma (c). Lettere rappresentano i risultati del test di Tukey ($n=4$).

L'effetto sinergico tra la precessione e le EPs ha determinato cambiamenti nell'attività di alcuni enzimi (Fig. 4). A seguito della precessione con cece, sono stati riscontrati aumenti nell'attività di β -glucosidasi, cellobioidrolasi, xilosidasi, glucuronidasi, arginin amino peptidasi in Furat Li Rosi. Un aumento dell'attività degli enzimi α -galattosidasi, β -galattosidasi, cellobioidrolasi, chitinasi, ossidasi, perossidasi è stata osservata in Furat Floriddia a seguito della precessione con pisello. L'attività di cellobioidrolasi e fluoresceina diacetato idrolasi è stata invece riscontrata in Furat Li Rosi a seguito della precessione con alfalfa.

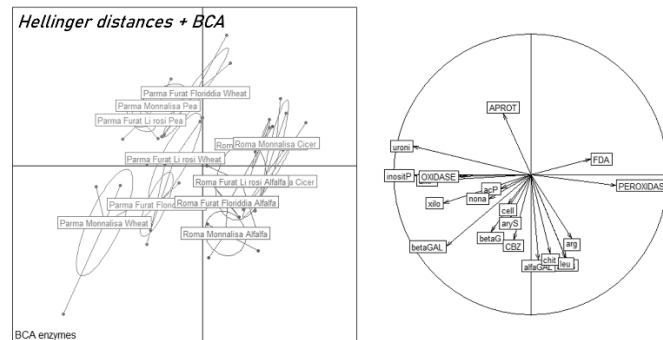


Figura 4. BCA delle attività enzimatiche osservate per le tre varietà di frumento con le rispettive rotazioni in Parma e Roma.

Le analisi che verranno condotte nei successivi anni di sperimentazione permetteranno di chiarire il possibile effetto sinergico tra leguminose ed EPs sulle caratteristiche del suolo e sui processi biologici associati ad esso.

Bibliografia

- Bottinelli N., *et al.* 2021. Mid-infrared spectroscopy to trace biogeochemical changes of earthworm casts during ageing under field conditions. *Geoderma*, 383: 114811.
- Ceccarelli S., Grando S. 2022. *Evolutionary Plant Breeding with an introduction to Participatory Plant Breeding* pp. 170 MIMESIS Edizioni (MI).
- Cowie A.L., *et al.* 2013. Impact of carbon farming practices on soil carbon in northern New South Wales. *Soil Research*, 51: 707.
- Döring T. F. *et al.* 2011. Evolutionary Plant Breeding in Cereals-Into a New Era. *Sustainability*, 3: 1944-1971.
- Gaba S., *et al.* 2014. Managing biotic interactions for ecological intensification of agroecosystems. *Frontiers in Ecology and Evolution*: 2.
- Janzen H. H., *et al.* 2022. Photosynthetic limits on carbon sequestration in croplands. *Geoderma*, 416: 115810.
- Kopittke P.M., *et al.* 2019. Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environment International*, 132: 105078.
- Li C., *et al.* 2020. A comparison between fatty acid methyl ester profiling methods PLFA and EL-FAME. *Soil Science Society of America Journal*, 84: 1153-1169.
- Reiss E.R., Drinkwater L.E. 2018. Cultivar mixtures: a meta-analysis of the effect of intraspecific diversity on crop yield. *Ecological Applications*, 28: 62-77.
- Tinti A., *et al.* 2015. Recent applications of vibrational mid-Infrared (IR) spectroscopy for studying soil components: a review. *Journal of Central European Agriculture*, 16: 1-22.

Attività del CREA per la valorizzazione del germoplasma italiano di mais attraverso un network internazionale

C. Balconi¹, A. Torri^{1}, S. Goritschnig², R. Redaelli¹*

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Via Stezzano 24, 24126 Bergamo (BG).

²ECPGR, Alliance of Bioversity International and CIAT, Via di San Domenico 1, 00153 Roma (RM).

*E-mail: alessio.torri@crea.gov.it

Abstract

Maize accessions conserved in Genebanks of different countries have a strategic value as new genetic resources that can be used both as source of resistance to biotic and abiotic stress and as a resource of qualitative characteristics.

In the past few years of the RGV-FAO Program, CREA in Bergamo has planned activities in connection with the international initiative EVA (European Evaluation Network), a European network for evaluation of genetic resources, including maize, to exchange and enhance Italian landraces with international institutions. The network is coordinated by ECPGR with the aim to create public-private interactions; it involves genebanks, research institutes and seed companies spread over nine countries. The interchange of materials and data can help identifying genetic resources useful for pre-breeding programs. Materials are exchanged among partners through the SMTA (Standard Material Transfer Agreement) protocol defined by the FAO Treaty.

In the 2023 agronomic season 59 foreign landraces were sown in Bergamo, compared with six Italian varieties and three commercial hybrids as control. Morphological and qualitative evaluations were carried out in the field and on harvested materials.

Riassunto

Le accessioni di mais conservate presso le Banche del germoplasma dei vari paesi hanno grande valore strategico, in quanto costituiscono una preziosa fonte di nuove risorse genetiche sfruttabili sia come mezzo di resistenza a stress, sia come risorsa di particolarità qualitative.

Nell'ambito degli ultimi due trienni del Programma RGV-FAO, il CREA di Bergamo ha previsto attività in raccordo con l'iniziativa internazionale EVA (European Evaluation Network), un network europeo di valutazione di risorse genetiche, compreso il mais, per scambiare e valorizzare landraces italiane con istituzioni internazionali. Il network è coordinato dall'ECPGR con lo scopo creare un'interazione tra pubblico e privato; coinvolge banche del germoplasma, istituti di ricerca e compagnie sementiere sparse per nove nazioni. L'interscambio di materiali e dati può aiutare indentificando le risorse genetiche sfruttabili per programmi di pre-breeding. I materiali vengono scambiati tra i partner mediante il protocollo SMTA (Standard Material Transfer Agreement) definito dal Trattato-FAO.

Nella stagione agronomica 2023 il CREA di Bergamo ha partecipato per il terzo anno alla sperimentazione del network, seminando presso la propria azienda 59 landraces estere, a confronto con sei varietà italiane e tre ibridi commerciali come testimoni. Valutazioni morfologiche e qualitative sono state effettuate in campo e sui materiali raccolti.

Introduzione

Le banche del germoplasma dei vari paesi conservano risorse genetiche, le quali hanno, negli ultimi anni, assunto un grande valore strategico, non solo per i programmi di salvaguardia della biodiversità esistente, ma anche come costituenti di una preziosa sorgente di nuovi geni, alleli

e caratteri importanti come potenziali fonti di resistenza a stress ambientali, biotici e abiotici, o di particolari caratteristiche qualitative. La banca del germoplasma di mais presente al Centro di ricerca Cerealcoltura e Colture Industriali del CREA di Bergamo conserva una collezione tra le più ricche d'Europa.

Nell'ambito degli ultimi due trienni del “Programma per la conservazione, caratterizzazione, uso e valorizzazione delle risorse genetiche vegetali per l'alimentazione e l'agricoltura” – RGV-FAO (Legge 6 aprile 2004, n. 101), rispettivamente 2020-2022 (D.M. MiPAAF n. 9037962 del 03.08.2020), e 2023-2025 (D.M. Masaf n. 50045 del 01.02.2023), il CREA di Bergamo ha previsto l'inserimento di attività in raccordo con l'iniziativa internazionale, EVA – Network Europeo di Valutazione delle Risorse Genetiche di Mais (2020-2024 - <https://www.ecpgr.org/working-groups/maize>), al fine di sviluppare collaborazioni e scambi per valorizzare le accessioni italiane con istituzioni internazionali.

Il network EVA dedicato al mais, istituito nel 2019, è coordinato dall'ECPGR (European Cooperative Programme for Plant genetic Resources) con lo scopo creare interazioni tra enti pubblici e aziende private; coinvolge nove nazioni (Francia, Spagna, Portogallo, Italia, Germania, Croazia, Romania, Svizzera e Serbia), nove banche del germoplasma, nove istituti di ricerca e nove compagnie sementiere e si propone di scambiare, genotipizzare, valutare e moltiplicare circa 600 accessioni di mais in 20 siti sperimentali (Balconi *et al.* 2020, 2024). La raccolta di dati si focalizza principalmente su varietà locali proposte da ciascun partner; i dati raccolti confluiscono nel database europeo EURISCO delle risorse genetiche. L'interscambio di materiali e dati attraverso i diversi stati europei contribuisce all'arricchimento delle risorse genetiche da cui attingere per lo sviluppo di programmi di miglioramento genetico mirati e condotti dalle singole nazioni. I materiali vengono scambiati tra i partner mediante il protocollo “Standard Material Transfer Agreement” definito dal Trattato-FAO (International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture).

Nella stagione agronomica 2023, il CREA di Bergamo ha partecipato per il terzo anno alla sperimentazione del network EVA, seminando presso la propria azienda 59 landraces provenienti da Croazia, Serbia e Spagna, a confronto con sei varietà italiane e tre ibridi commerciali come testimoni. Valutazioni morfologiche e qualitative sono state effettuate in campo e sui materiali raccolti.

Materiali e metodi

Le varietà tradizionali utilizzate dal CREA nell'ambito delle attività del network europeo EVA sono consistite in 59 landraces, di cui 24 provenienti dalla Croazia, 18 dalla Spagna e 17 dalla Serbia, a confronto con 6 genotipi di origine italiana e 3 ibridi commerciali quali testimoni (Lidea - ES-FARDA, KWS – KAMPARIS e Mas Seeds – MAS 59.K). I genotipi sono stati seminati in data 16/05/2023 presso l'azienda “La Salvagna” (45°68'N; 9°64'E) sita all'interno della sede di Bergamo del CREA, in parcelle da singola fila da 4m, in due repliche randomizzate; le procedure di coltivazione (irrigazione, diserbo, fertilizzazione ecc.) non hanno subito modifiche rispetto alle normali pratiche agricole.

I parametri morfofisiologici registrati sono riportati nei descrittori IPGRI, in accordo con il protocollo condiviso dal network (IPGRI, 1991)

In campo sono state registrate le epoche di fioritura maschile (FM - 50% di piante con antere emesse, parametro IPGRI 4.1.1), fioritura femminile (FF - 50% di piante con emissione setole, parametro IPGRI 4.1.2), altezza della pianta (AP - dal suolo alla prima ramificazione laterale del pennacchio, parametro IPGRI 4.1.4) e l'altezza dell'inserzione della spiga (AS - dal suolo all'internodo di inserzione della spiga, parametro IPGRI 4.1.5). Dopo la raccolta, sono state registrate le lunghezze delle spighe (LS - parametro IPGRI 6.2.2), il numero di ranghi (NR - parametro IPGRI 4.2.4) e il numero di cariossidi per rango (CpR - parametro IPGRI 6.2.8). Il materiale è stato poi sgranato, essiccato per due settimane a 40°C e dei campioni selezionati è stato valutato il peso dei 1000 semi (parametro IPGRI 4.3.3). Successivamente, le cariossidi

sono state macinate con l'utilizzo di un mulino sperimentale Retsch ZM200 (vaglio 0,5 mm) per essere poi analizzate mediante spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS) con uno strumento SpectraStar XT-R, dotato di un range di lettura da 680 nm a 2600 nm, il quale fornisce previsioni di proteine, lipidi, fibre, ceneri e amido presenti nella farina.

Risultati e discussione

I dati relativi ai parametri morfofisiologici rilevati sulla pianta in campo, e sulla spiga dopo la raccolta, sono riassunti in Tabella 1. Osservando i dati delle fioriture e delle dimensioni di pianta e spiga, si nota come i genotipi originari della Croazia siano simili a quelle degli ibridi commerciali. Unico parametro che si discosta è il numero di ranghi dove le landraces italiane presentano un numero più vicino ai testimoni. Il peso di 1000 semi è riportato in Tabella 2.

Tabella 1. Valori medi, minimi e massimi dei parametri morfofisiologici registrati nei genotipi sotto indagine raggruppati per nazionalità

		FM fioritura ♂ (giorni)	FF fioritura ♀ (giorni)	AP Altezza pianta (cm)	AS Altezza spiga (cm)	LS Lunghezza spiga (cm)	NR Numero di ranghi	CpR Semi per rango
Checks	media	57,7	60,0	213,8	87,8	20,4	16,5	39,4
	min-max	55-63	57-65	205,4-230	82,2-99	18,7-22,3	15-17	36,1-44,7
Croazia	media	55,9	59,8	194,0	85,3	19,5	11,2	33,3
	min-max	52-63	55-66	152,6-251,6	54,2-136,6	15,3-23,5	8-14	13,8-43,6
Italia	media	50,3	52,8	163,8	66,5	12,5	14,6	23,5
	min-max	47-52	49-57	136,8-215,4	48,60-87	9,7-17,4	10-20	12-30,6
Serbia	media	52,3	54,5	157,5	63,6	14,5	12,7	26,0
	min-max	48-57	49-66	122,2-214	32,6-92,8	10,6-17,7	10-17	17,9-34,8
Spagna	media	52,0	54,2	145,3	65,0	13,1	11,6	20,8
	min-max	47-62	49-65	96,6-208,7	23-101	9,4-16,7	8-15	12,9-31,4

I dati raccolti sono stati valutati tramite un'analisi delle componenti principali (PCA, Fig.1) utilizzando il software di statistica avanzato open-source Past (Hammer *et al.* 2001). L'analisi, con una percentuale di variabilità mostrata pari a circa il 76,5%, mostra l'ampia variabilità che caratterizza le landraces.

Da notare come i parametri di fioritura (FM e FF) mostrino un andamento differente rispetto a quelli legati alla morfologia della pianta e della spiga (AP, AS, LS, NR); il numero di cariossidi per rango (CpR), tuttavia, evidenzia un andamento ulteriormente diversificato rispetto agli altri parametri morfologici.

A seguito di queste osservazioni, sono stati selezionati 30 genotipi (27 landraces – 8 croate, 4 italiane, 5 serbe e 10 spagnole - più i tre ibridi commerciali) che rappresentassero al meglio la variabilità osservata, indicati nel diagramma PCA in Figura 1.

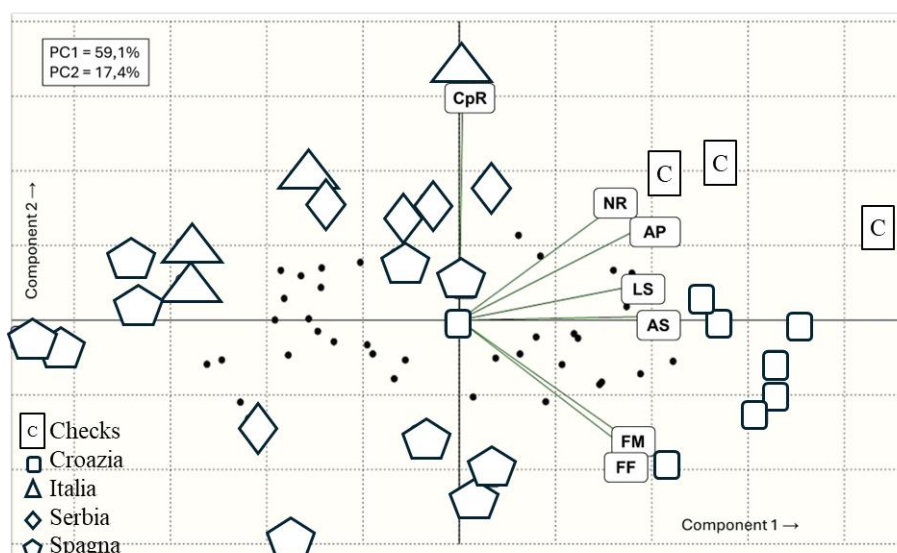


Figura 1. Analisi PCA su parametri morfo-fisiologici delle 65 landraces e dei tre checks. AP, altezza pianta; AS, altezza spiga; FM, fioritura maschile; FF, fioritura femminile; LS, lunghezza spiga; NR, numero ranghi; CpR, cariossidi per rango

I materiali selezionati a seguito della PCA sono stati macinati e analizzati mediante NIRS per predirne la composizione chimica. I risultati dell'analisi, mostrati in Tabella 2, evidenziano come atteso valori più elevati nel contenuto in proteine e lipidi nelle landraces, in particolare per i genotipi originari della Croazia, rispetto agli ibridi. Un dato interessante è rappresentato dal contenuto di amido, che in alcune landraces è risultato superiore al 70%.

In Tabella 2 si nota anche come il peso dei 1000 semi sia risultato più elevato nei genotipi di origine croata rispetto ai testimoni ibridi e ai genotipi delle altre nazionalità.

Questo studio, condotto in ambito di collaborazione internazionale, ha fornito una panoramica sulla diversità morfofisiologica e qualitativa che le banche del germoplasma distribuite sul continente europeo possono offrire, per quanto riguarda le varietà tradizionali in esse conservate.

Tabella 2. Dati medi della composizione chimica e del peso 1000 semi delle 27 landraces selezionate, raggruppate per nazione di origine, e dei tre checks di controllo.

		Proteine (% s.s.)	Lipidi (% s.s.)	Fibre (% s.s.)	Ceneri (% s.s.)	Amido (% s.s.)	Peso 1000 semi (g)
Checks	media	9,59	4,61	2,53	1,63	68,56	271,30
	min-max	9,03-9,97	3,99-4,98	2,46-2,62	1,37-1,94	67,87-68,92	195,7-314,9
Croazia	media	12,28	5,75	2,33	2,12	67,52	289,00
	min-max	11,42-13,16	5,05-6,59	2,14-2,50	1,91-2,52	65,53-68,35	287,10-290,10
Italia	media	11,60	5,66	2,56	2,21	68,89	224,80
	min-max	10,93-12,34	5,40-5,84	2,38-3,01	2,16-2,23	67,34-70,60	213,80-239,00
Serbia	media	11,26	5,55	2,50	2,11	68,82	206,10
	min-max	9,68-12,41	4,63-6,25	2,27-2,82	1,79-2,44	67,04-71,03	158,20-250,20
Spagna	media	12,03	5,55	2,48	2,26	68,17	202,40
	min-max	11,31-12,84	4,83-6,31	1,75-2,92	1,95-2,73	64,58-70,82	173,60-251,10

Ringraziamenti

Ricerca finanziata dal Programma per la conservazione, caratterizzazione, uso e valorizzazione delle risorse genetiche vegetali per l'alimentazione e l'agricoltura RGV-FAO, triennio 2020-2022 MiPAAF (D.M. n. 9037962 del 03.08.2020); triennio 2023-2025 Masaf (D.M. n. 50045 del 01.02.2023).

Il Progetto EVA ha ricevuto supporto finanziario dal ministero per il cibo e l'agricoltura tedesco sotto l'accordo di sovvenzione GenRes2019-2 to ECPGR. Bioversity International EVA-Maize-CREA - Agreement No LoA N°: L20HQ169 – 2020 and No: L23ROM203 – 2023.

Bibliografia / sitografia

Balconi C., Redaelli R., Valoti P., Pecchioni N. 2020. Il progetto EVA - European Evaluation Network: un'opportunità strategica per valorizzare le risorse genetiche del mais italiano. *Mangimi & Alimenti*, XII (3): 26-28.

Balconi C., Galaretto A., Malvar R.A., Nicolas S.D., Redaelli R., Andjelkovic V., Revilla P., Bauland C., Gouesnard B., Butron A., Torri A., Barata A. M., Kravic N., Combes V., Mendes-Moreira P., Murariu D., Šarčević H., Schierscher-Viret B., Vincent M., Zanetto A., Kessel B., Madur D., Mary-Huard T., Pereira A., Placinta D. D., Strigens A., Alain Charcosset A., Goritschnig S. 2024 Genetic and Phenotypic Evaluation of European Maize Landraces as a Tool for Conservation and Valorization of Agrobiodiversity *Biology*, 13: 454. <https://doi.org/10.3390/biology13060454>

EURISCO (European Search Catalogue for Plant Genetic Resources): https://eurisco.ipk-gatersleben.de/apex/eurisco_ws/r/eurisco/home

EVA (European Evaluation Network): <https://www.ecpgr.org/working-groups/maize>

Hammer Ř., Harper D.A.T., Ryan P.D. 2001. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4(1): 9.

IPGRI descriptors: <https://cgspace.cgiar.org/server/api/core/bitstreams/afe74e02-40fb-4643-8960-bbd42c9a07cf/content>

Analisi comparativa dell'impatto ambientale di ingredienti ad alto amido resistente

A. Cimini, L. Morgante*, M. Moresi

Dipartimento per l'Innovazione nei sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali, Università della Tuscia, Via S.C. de Lellis, 01100 Viterbo (VT).

*E-mail: lorenzo.morgante@unitus.it

Abstract

In this study, the business-to-business environmental profiles of two types of high resistant starch flours were compared, both packaged in 25-kg Kraft paper bags, using the well-known software SimaPro in accordance with the *Product Environmental Footprint* methodology. The weighted environmental indicator (EIP) of high-amylose wheat flour was assessed at 318 $\mu\text{Pt/kg}$, approximately half of that of malted and hulled Purgatory bean flour (609 $\mu\text{Pt/kg}$). Only the availability of variants resistant to water stress could make production more sustainable (EIP=260 \pm 41 $\mu\text{Pt/kg}$). However, the estimated market cost of €9.18/kg, significantly higher than that of high-amylose wheat flour (€3.00/kg), appears to limit its use to gluten-free protein food formulations.

Riassunto

In questo studio, sono stati confrontati i profili ambientali business-to-business di due tipi di farine ad alto tenore di amido resistente, entrambe confezionate in sacchi di carta Kraft da 25 kg, utilizzando il noto software SimaPro in conformità con la metodologia *Product Environmental Footprint*. L'eco-indicatore ponderato (EIP) della farina di frumento tenero ad alto amiloso è stato valutato a 318 $\mu\text{Pt/kg}$, pari a circa la metà di quello dello sfarinato di fagioli del Purgatorio maltati e decorticati (609 $\mu\text{Pt/kg}$). Solo la disponibilità di varianti resistenti allo stress idrico potrebbe rendere la produzione più sostenibile (EIP=260 \pm 41 $\mu\text{Pt/kg}$). Tuttavia, il costo di mercato stimato di €9,18/kg, ben superiore a quello della farina di frumento tenero ad alto amiloso (€3,00/kg), sembra limitare il suo utilizzo alla formulazione di alimenti proteici senza glutine.

Introduzione

L'amido resistente (RS) rappresenta un'importante risorsa alimentare in quanto agisce come una fibra solubile, favorendo la produzione di acidi grassi a catena corta, tra cui il butirrato, fondamentale per la salute del colon. I suoi benefici includono miglioramenti nella sensibilità all'insulina, riduzione dei livelli di glucosio nel sangue, soppressione dell'appetito e supporto nella gestione di condizioni gastrointestinali, come rettocolite ulcerosa e malattia di Crohn (Lockyer e Nugent, 2017).

Recenti studi (Botticella *et al.*, 2018; Sissons *et al.*, 2020) hanno portato allo sviluppo di varietà di frumento tenero con un tenore di amiloso superiore al 70% dell'amido totale, producendo farine con oltre il 10% in RS e il 54% di amiloso su base secca. Queste farine sono state con successo impiegate nella produzione di alimenti a basso indice glicemico, tra cui noodles, pane, fette biscottate, cereali soffiati, pasta secca (Sissons *et al.*, 2020) e fresca (Cimini *et al.*, 2022a). La maltazione di 3 legumi tipici dell'Alto Lazio (ceci del solco dritto, fagioli del Purgatorio e lenticchie di Onano) ha permesso di ridurre il contenuto di oligosaccaridi e acido fitico, responsabili di flatulenza e malassorbimento dei metalli (Cimini *et al.*, 2023, 2024). Fra questi, i fagioli del Purgatorio maltati e decorticati hanno prodotto uno sfarinato con un 22% di RS su base secca. Entrambe le farine anzidette permetterebbero la produzione di alimenti funzionali, con un contenuto finale di RS \geq 14% di amido totale e benefici per il metabolismo del glucosio post-prandiale, in linea con il Regolamento Europeo 432/2012 (CE, 2012).

Questo studio presenta un'analisi ambientale comparativa tra queste farine, avvalendosi di un software di Analisi del Ciclo di Vita ed applicando la metodologia standard della Comunità

Europea denominata Product Environmental Footprint (PEF: CE, 2021), al fine di identificare la fonte alimentare più sostenibile e sensibilizzare i consumatori sulle implicazioni ambientali delle proprie scelte alimentari.

Materiali e metodi

Per valutare l'impatto ambientale dei due prodotti menzionati, è stato condotto uno studio di tipo *business-to-business* (B2B), che considera l'intero ciclo di vita del prodotto dalla coltivazione fino al molino. Questo studio è stato condotto in conformità con le norme ISO 14040 (ISO, 2006a) e 14044 (ISO, 2006b). Per quanto riguarda la granella di frumento tenero ad alto amiloso (FAM), sono state identificate le seguenti fasi (come illustrato nella Fig. 1):

- 1) *Coltivazione convenzionale* in campo aperto, utilizzando anche la tecnica di semina diretta.
- 2) *Molitura* dei grani pre-puliti, puliti e temperati al 15,5% di umidità (p/p) per ottenere farina 00, con una resa del 54%, e diversi sottoprodotti come crusca, farinaccio e germe.
- 3) *Confezionamento* del prodotto finale in sacchi di carta Kraft da 25 kg, ciascuno con un peso approssimativo di 115 g.
- 4) *Pelletizzazione* dei residui provenienti dalla pulizia e dalla macinazione per il loro utilizzo nel settore mangimistico.

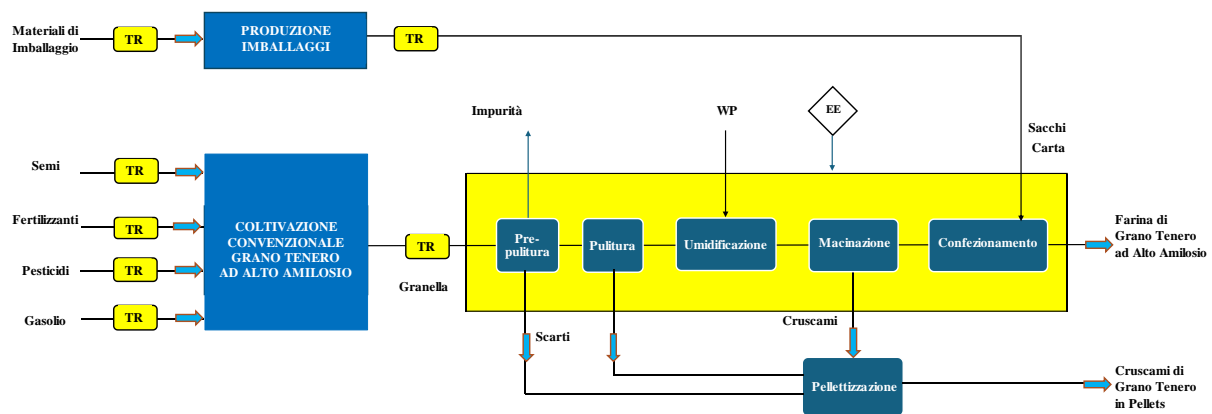


Figura 1. Diagramma di flusso del ciclo di vita B2B di farina di grano tenero ad alto amiloso: EE, energia elettrica; TR, trasporto; WP, acqua di processo.

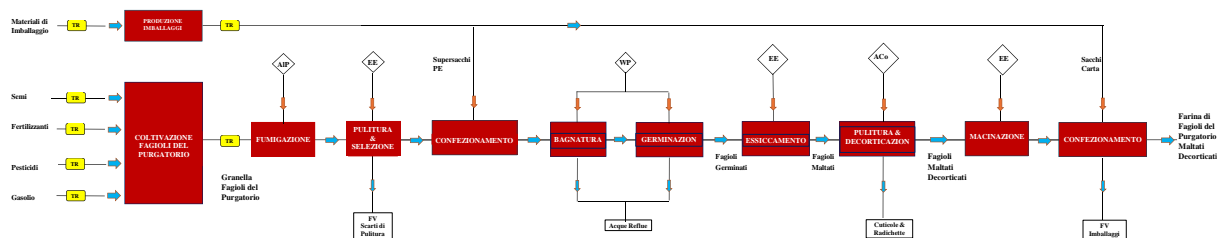


Figura 2. Diagramma di flusso del ciclo di vita B2B di farina di fagioli del Purgatorio maltati e decorticati: ACO, aria compressa; AIP, fosforo di alluminio; EE, energia elettrica; TR, trasporto; WP, acqua di processo.

Per i fagioli del Purgatorio di Gradoli sono state delineate le seguenti fasi (Fig. 2):

- 1) *Coltivazione convenzionale* in campo aperto con irrigazione.
- 2) *Fumigazione* dei semi raccolti con fosforo di alluminio (AIP) per prevenire la proliferazione di insetti.
- 3) *Pulizia e stoccaggio* dei semi in supersacchi di polietilene da 1 Mg.
- 4) *Maltazione* dei semi con ammollo e germinazione a 25 °C per 5 e 72 h rispettivamente, seguito da asciugatura ad una temperatura ≤ 60 °C per 12 h.
- 5) *Rimozione di radichette e cuticole* con resa di $0,86 \pm 0,2$ kg di fagioli maltati e decorticati per kg di fagioli secchi.

- 6) *Macinazione* dei cotiledoni di fagioli maltati con un consumo di circa 0,07 kWh/kg.
- 7) *Confezionamento* della farina finale (FFMD) in sacchi di carta Kraft da 25 kg.
- 8) *Pelletizzazione* dei residui di pulizia e di macinazione per impieghi mangimistici.

In entrambi i casi, è stata applicata una procedura di allocazione di tipo economico (UNAFPA, 2018), assumendo un fattore di allocazione del 92,5% per i grani di FAM, del 7,5% per la paglia, dell'84% per la farina di frumento ad alto amiloso (FFAM) e del 16% per i sottoprodotti di macinazione. Per i fagioli del Purgatorio, il fattore di allocazione è risultato del 99,9%; pertanto, si è attribuito tutto l'impatto alla produzione di FFMD.

L'unità funzionale considerata era costituita da 1 kg di FFAM o FFMD, ciascuna confezionata in sacchi di carta Kraft da 25 kg. Tutti i dettagli relativi alla raccolta dei dati dell'inventario, alla logistica di approvvigionamento delle materie prime e agli scenari di smaltimento degli imballaggi sono stati resi disponibili in formato *open source* da Cimini et al. (2022b) e Moresi e Cimini (2024). I dati secondari sono stati estratti da banche dati (Agri-footprint v. 6.3, Ecoinvent v. 3.8) integrate nel software LCA SimaPro 9.5.0.0 (PRé Consultants, Amersfoort, NL). L'impatto ambientale è stato valutato in conformità con il metodo PEF (CE, 2021), che comprende le seguenti 16 categorie di impatto, con la relativa sostanza di riferimento indicata tra parentesi: Riscaldamento globale (kg CO_{2e}); Assottigliamento dello strato di ozono stratosferico (kg triclorofluorometano, CFC-11_e); Radiazione ionizzante (kBq ²³⁵U_e); Particolato (incidenza malattie); Tossicità umana cancerogena e non cancerogena (CTU_h - Unità tossiche comparative - salute umana); Formazione di smog fotochimico (kg NMVOC_e - Composti organici volatili non metanici equiv.); Acidificazione (mol H⁺_e); Eutrofizzazione terrestre (mol N_e), delle acque dolci (kg P_e) e marine (kg N_e); Ecotossicità delle acque dolci (CTU_e - Unità tossiche comparative, ecotossicità); Uso del suolo (Pt); Uso dell'acqua (m³ di acqua equiv. deprivata all'utente); Uso di risorse fossili (MJ); Uso di risorse minerali e metalliche (kg Sb_e). Queste categorie di impatto sono state poi normalizzate rispetto ai loro impatti globali (Sala *et al.*, 2017) ed infine ponderate (Sala *et al.*, 2018) per pervenire ad un eco-indicatore complessivo pesato (EIP). Considerando le incertezze legate alle pratiche agricole, ai rendimenti delle colture e ai sottoprodotti della lavorazione, il software SimaPro ha permesso l'uso del metodo Monte Carlo. Questo ha coinvolto la generazione di variabili casuali per ogni parametro con incertezza. Le categorie di impatto sono state computate iterativamente per 2000 volte, contribuendo alla definizione di una distribuzione di incertezza. Infine, è stata valutata la sensibilità dei risultati nel caso di una specifica opzione di mitigazione.

Risultati e discussione

In Tabella 1 sono riportate le categorie di impatto conformi al metodo PEF per un'unità funzionale di farina di grano tenero ad alto amiloso (FFAM) o di fagioli del Purgatorio maltati e decorticati (FFMD). Si evince che l'impatto sulla categoria del riscaldamento globale dalla culla al cancello del mulino per FFAM e FFMD ammontava rispettivamente a $2,0 \pm 0,4$ e $1,9 \pm 0,2$ kg CO_{2e}/kg. Tuttavia, l'impatto delle categorie dell'uso del suolo e dell'acqua era nettamente inferiore per la farina di frumento tenero ad alto amiloso rispetto a quella di fagioli maltati e decorticati (814 vs. 1220 Pt e 2,6 vs. 47,4 m³_e deprivati all'utente).

Le 16 categorie di impatto sono state normalizzate e successivamente moltiplicate per specifici fattori peso, che rappresentano l'importanza relativa percepita delle categorie di impatto del ciclo di vita considerate, come dettagliato nella Tabella 2 per entrambe le farine. È cruciale sottolineare come questo passaggio aiuti nell'interpretazione e nella comunicazione dei risultati dell'analisi e faciliti il confronto dei risultati ponderati tra diverse categorie di impatto per valutare la loro relativa importanza. Inoltre, questi risultati ponderati possono essere aggregati per derivare un singolo punteggio complessivo (EIP).

Tabella 1. Caratterizzazione del profilo ambientale PEF di un'unità funzionale (1 kg di FFAM e FFMD: valore medio e deviazione standard delle categorie di impatto con relativo acronimo).

Categoria di impatto		FFAM	FFMD	UdM
Riscaldamento globale	GW ₁₀₀	2,01 ± 0,42	1,92 ± 0,24	kg CO _{2e}
Assottigliamento strato O ₃ stratosferico	OD	6,30x10 ⁻⁸ ± 1,08x10 ⁻⁸	2,89x10 ⁻⁸ ± 2,20x10 ⁻⁹	kg CFC-11 _e
Radiazione ionizzante	IR	6,05x10 ⁻² ± 8,42x10 ⁻³	1,16x10 ⁻¹ ± 4,81x10 ⁻³	kBq ²³⁵ U _e
Formazione smog fotochimico	POF	8,76x10 ⁻³ ± 1,49x10 ⁻³	1,09x10 ⁻² ± 1,72x10 ⁻³	kg NMVOC _e
Particolato	PM	9,67x10 ⁻⁸ ± 1,66x10 ⁻⁸	1,34x10 ⁻⁷ ± 2,41x10 ⁻⁸	Incid. malattie
Tossicità umana - non cancerogena	NCHT	1,87x10 ⁻⁸ ± 3,24x10 ⁻⁹	1,06x10 ⁻⁸ ± 1,10x10 ⁻⁹	CTU _h
Tossicità umana - cancerogena	CHT	5,21x10 ⁻¹⁰ ± 8,63x10 ⁻¹¹	5,51x10 ⁻¹⁰ ± 6,50x10 ⁻¹¹	CTU _h
Acidificazione	A	2,31x10 ⁻² ± 4,08x10 ⁻³	9,73x10 ⁻³ ± 1,39x10 ⁻³	mol H ⁺ _e
Eutrofizzazione acqua dolce	EFW	2,12x10 ⁻³ ± 3,78x10 ⁻⁴	2,01x10 ⁻⁴ ± 1,23x10 ⁻⁵	kg P _e
Eutrofizzazione marina	EM	1,55x10 ⁻² ± 5,57x10 ⁻³	3,59x10 ⁻³ ± 5,89x10 ⁻⁴	kg N _e
Eutrofizzazione terrestre,	ET	5,11x10 ⁻² ± 9,01x10 ⁻³	3,99x10 ⁻² ± 6,88x10 ⁻³	mol N _e
Ecotossicità acqua dolce	ETFW	8,07 ± 1,37	21,8 ± 3,78	CTU _e
Uso del suolo	LU	8,14x10 ² ± 1,47x10 ²	1,22x10 ³ ± 2,33x10 ²	Pt
Uso dell'acqua	WU	2,55 ± 0,45	47,4 ± 9,12	m ³ _e depriv,
Uso di risorse fossili	RUF	17,9 ± 2,85	6,15 ± 1,25	MJ
Uso di risorse minerali e metalliche	RUMM	9,83x10 ⁻⁶ ± 1,73x10 ⁻⁶	4,79x10 ⁻⁶ ± 6,50 x10 ⁻⁷	kg Sb _e

Tabella 2. Caratterizzazione ambientale complessiva di 1 kg di FFAM e FFMD al cancello del molino utilizzando il metodo standard PEF: valore medio e deviazione standard di ogni categoria di impatto normalizzata e ponderata (ICNP_j) e relativo contributo percentuale riferito all'Eco-indicatore (EIP).

ICNP _j	FFAM		FFMD	
	[μPt]	[%]	[μPt]	[%]
GW ₁₀₀	56 ± 11,42	17,7	53 ± 7	8,8
OD	0,08 ± 0,01	0,02	0,035 ± 0,003	0,01
IR	0,7 ± 0,10	0,2	1,4 ± 0,1	0,2
POF	10,3 ± 1,7	3,2	12,8 ± 2,0	2,1
PM	14,6 ± 2,5	4,6	20 ± 4	3,3
NCHT	2,7 ± 0,5	0,8	1,5 ± 0,2	0,2
CHT	0,6 ± 0,1	0,2	0,7 ± 0,1	0,1
A	26 ± 4	8,1	11 ± 2	1,8
EFW	37 ± 6	11,7	3 ± 0	0,6
EM	23 ± 8	7,3	5 ± 1	0,9
ET	11 ± 2	3,4	8 ± 1	1,4
ETFW	2,7 ± 0,5	0,9	7,4 ± 1,3	1,2
LU	79 ± 14	24,9	118 ± 23	19,4
WU	19 ± 3	6,0	352 ± 68	57,8
RUF	23 ± 4	7,3	7,9 ± 1,6	1,3
RUMM	12 ± 2	3,7	5,7 ± 0,8	0,9
<i>EIP</i>	<i>318 ± 55</i>	<i>100,0</i>	<i>609 ± 108</i>	<i>100,0</i>

Il contributo percentuale in carattere grassetto o corsivo rappresenta, rispettivamente, il primo o il secondo hotspot.

Dalla Tabella 2 si nota che la categoria di impatto sull'uso del suolo (LU) ha svolto un ruolo cruciale, contribuendo al 25% di EIP per la FFAM. Tuttavia, per l'altro tipo di farina (FFMD) LU ha assunto un ruolo secondario, con una percentuale di contributo pari al 19% di EIP, a causa della coltivazione irrigua dei fagioli del Purgatorio di Gradoli, che rende la categoria di impatto sull'uso dell'acqua (WU) il principale contributore a circa il 58% di EIP. Al contrario, la categoria di impatto sui cambiamenti climatici (GW₁₀₀) è emersa come il secondo o terzo *hotspot* più significativo, con contributi che vanno rispettivamente dal 18% per la FFAM al 9% per la FFMD. Per la FFAM seguivano i contributi dell'eutrofizzazione delle acque dolci (11,7%) e marine (7,3%) e del suolo (3,4%), mentre per la FFMD il contributo del particolato (PM) era del 3,3%.

In base alle diverse categorie di impatto del metodo standard PEF, si rileva che la produzione di farina di fagioli maltati e decorticati è significativamente penalizzata dal maggior utilizzo di acqua e suolo rispetto alla coltivazione di grano tenero ad alto amilosio. *In toto*, dette categorie rappresentano il 77% di EIP, più del doppio rispetto alla farina di FAM stessa (Tab. 2).

Poiché lo stress da siccità limita notevolmente la produttività dei fagioli e numerose sono le ricerche dirette a migliorarne la tolleranza e la produzione attraverso la selezione di tratti

fisiologici e genetici (Nadeen *et al.*, 2019), si è stimato che l'impiego di una varietà di fagioli del Purgatorio, adattata a condizioni siccitose e, quindi, non richiedente irrigazione, ridurrebbe significativamente l'EIP da 609 ± 108 a 260 ± 41 $\mu\text{Pt}/\text{kg}$. Ciò deriva dalla drastica diminuzione da 352 ± 68 a $3,1 \pm 0,1$ $\mu\text{Pt}/\text{kg}$ del punteggio normalizzato e ponderato della categoria dell'uso dell'acqua. In questo contesto, la produzione di farina di fagioli maltati e decorticati risulterebbe nettamente più sostenibile rispetto alla controparte FFAM. Tuttavia, il costo di mercato di €9,18/kg, stimato da Piccarozzi e Pacchera (2023), superiore a quello (€3,00/kg) della farina di grano tenero ad alto amiloso (Volpato, 2024), potrebbe limitarne l'utilizzo alla formulazione di alimenti proteici senza glutine o di alimenti funzionali.

Ringraziamenti

Lavoro eseguito con contributo MIUR (Progetto di ricerca INTEGRi- ARS01_00188).

Bibliografia

- Botticella E., Sestili F., Sparla F., Moscatello S., Marri L., Cuesta-Seijo J.A., Falini G., Battistelli A., Trost P., Lafiandra D. 2018. Combining mutations at genes encoding key enzymes involved in starch synthesis affects the amylose content, carbohydrate allocation and hardness in the wheat grain. *Plant Biotechnology Journal*, 16: 1723-1734.
- CE. 2012. Commission Regulation (EU) No. 432/2012 of 16 May 2012 “Establishing a list of permitted health claims made on foods, other than those referring to the reduction of disease risk and to children’s development and health”. *Official Journal of the European Union*, L136, 1-40.
- CE. 2021. Commission Recommendation (EU) 2021/2279 of 15 December 2021 on the use of the Environmental Footprint methods to measure and communicate the life cycle environmental performance of products and organisations. *Official Journal of the European Union* L471/1, 1–396.
- Cimini A., Poliziani A., Antonelli G., Sestili F., Lafiandra D., Moresi M. 2022a. Characterization of fresh pasta made of common and high-amylose wheat flour mixtures. *Foods*, 11: 2510.
- Cimini A., Sestili F., Moresi M. 2022b. Environmental profile of a novel high-amylose bread wheat fresh pasta with low glycemic index. *Foods*, 11: 3199.
- Cimini A., Poliziani A., Morgante L., Moresi M. 2023. Assessment of the malting process of Purgatory bean and Solco Dritto chickpea seeds. *Foods*, 12(17): 3187.
- Cimini A., Poliziani A., Morgante L., Moresi M. 2024. Antinutrient removal in yellow lentils by malting. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 104, 508-517.
- ISO. 2006a. *14040-Environmental Management e Life Cycle Assessment e Principles and Framework*. International Organization for Standardization, Genève, CH.
- ISO. 2006b. *14044-Environmental Management - Life Cycle Assessment - Requirements and Guidelines*. International Organization for Standardization, Genève, CH.
- Lockyer S., Nugent A. P. 2017. Health effects of resistant starch. *Nutrition Bulletin*, 42(1): 10-41.
- Moresi M., Cimini A. 2024. A comprehensive study from cradle-to-grave on the environmental profile of malted legumes. *Foods*, 13(5): 655.
- Nadeen M., Li J., Yahya M., Sher A., Ma C., Wang X., Qiu L. 2019. Research progress and perspective on drought stress in legumes: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 2541.
- Piccarozzi M., Pacchera F. 2023. Costi di produzione e guida ai questionari su pre-acquisto e degustazione di legumi maltati. *Meeting conclusivo del progetto Leg-Ger*. Villaggio Coldiretti, Roma 14 ottobre 2023.
- Sala S., Crenna E., Secchi M., Pant R. 2017. *Global normalisation factors for the Environmental Footprint and Life Cycle Assessment*. JRC Scientific Report, Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Sala S., Cerutti A.K., Pant R. 2018. *Development of a weighting approach for the Environmental Footprint*. Publications Office of the European Union, Luxembourg.
- Sissons M., Sestili F., Botticella E., Masci S., Lafiandra D. 2020. Can manipulation of durum wheat amylose content reduce the glycaemic index of spaghetti? *Foods*, 9 : 693.
- UNAFPA (Unions de Associations de Fabricants de Pâtes Alimentaires). 2018. *Product Environmental Footprint category rules (PEFCR) for dry pasta*. Vers. 3.
- Volpato M. (Grandi Molini Italiani Spa, Venezia). 2024. *Comunicazione personale*.

Valutazione delle risposte agronomiche e qualitative di farri e varietà storiche e moderne di frumento tenero coltivate in ambienti non marginali

C. Sardella^{1*}, F. Vanara¹, M. Scapino¹, V. Scarpino¹, C. Pedrazzani², C. Dall'Asta², M. Blandino¹

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095, Grugliasco (TO).

²Dipartimento di Scienze degli Alimenti e del Farmaco, Università di Parma, Viale delle Scienze 11/a, 43121 Parma (PR).

*E-mail: claudia.sardella@unito.it

Abstract

The growing interest in ancient species and old varieties of wheat, linked to biodiversity and food diversification, has led to efforts to establish high-value niche supply chains in marginal areas, where their economic marginality is sustainable compared to modern varieties. However, the ongoing market demand, particularly from the industrial sector, supports an expansion of these crops even in non-marginal cereal-producing areas. This study was aimed to compare different species of *Triticum* and old varieties of soft wheat in non-marginal production systems, focusing on the agronomic, qualitative, rheological, and health-related parameters. The results showed challenges in managing these varieties and did not confirm the health properties often associated with them. Modern varieties exhibited greater variability and better agronomic and rheological responses to different production conditions. The genetic improvement of all *Triticum* species (einkorn, emmer, spelt, bread wheat) could ensure satisfactory yields and good technological performance while maintaining adequate sanitary quality.

Riassunto

Il crescente interesse per le specie antiche (farri) e le varietà storiche di frumento, legato alla biodiversità e alla diversificazione alimentare, ha portato a cercare di stabilire filiere di nicchia ad alto valore aggiunto in aree marginali, dove la loro marginalità economica è sostenibile rispetto a varietà moderne. Tuttavia, la continua domanda del mercato e, in particolare, della filiera industriale, supporta un'espansione di tali colture anche in aree cerealicole non marginali. Questo studio ha confrontato diverse specie antiche di *Triticum* e varietà storiche di frumento tenero in sistemi produttivi non marginali, analizzando parametri agronomici, qualitativi e salutistici rispetto a varietà moderne. I risultati hanno mostrato difficoltà nella gestione di queste varietà e non hanno confermato le proprietà salutistiche frequentemente associate a esse. Le varietà moderne hanno mostrato una maggiore variabilità e una risposta a livello agronomico e reologico a diverse condizioni produttive. Il miglioramento genetico di tutte le specie di *Triticum* potrebbe garantire rese soddisfacenti e buone prestazioni tecnologiche, mantenendo una qualità sanitaria adeguata.

Introduzione

Le specie antiche e le varietà storiche di frumento sono state oggetto di interesse crescente da parte del mercato, per motivi legati al mantenimento della biodiversità e alla diversificazione alimentare, nonché alla produzione di specialità dalle caratteristiche riconoscibili e apprezzabili da parte del consumatore moderno. Farri e varietà storiche di frumento tenero sono colture tipicamente adottate in areali marginali o in sistemi a basso input, dove il limitato differenziale produttivo rispetto a varietà moderne maggiormente competitive permette di ottenere buone marginalità economiche. Tuttavia, la continua domanda del mercato e, in particolare, della filiera industriale, supporta un'espansione di tali colture anche in aree cerealicole non marginali.

Con l'obiettivo di rispondere alle richieste della filiera è stato condotto uno studio che ha visto la coltivazione di diverse specie antiche di *Triticum* (farro monococco, dicocco e spelta) e di varietà storiche di frumento tenero in sistemi di produzione non marginali, e la loro caratterizzazione da un punto di vista agronomico, qualitativo, sanitario e salutistico.

Materiali e metodi

Il confronto ha previsto la coltivazione di 13 genotipi di *Triticum* comprendenti specie diploidi (1 varietà moderna di farro monococco), tetraploidi (2 varietà moderne di farro dicocco), esaploidi (2 varietà moderne di farro spelta, 4 varietà storiche di frumento tenero e 4 varietà di frumento tenero di controllo). Le varietà di controllo sono state scelte in quanto rappresentative di tre categorie commerciali: 1 frumento biscottiero (FB), 2 frumenti panificabili (FP), 1 frumento di forza (FF). La sperimentazione è stata condotta in due annate (2016-17, 2017-18) e in due località del Nord-Italia (Carmagnola, 44° 50' N, 7° 40' E, 245 m a.s.l.; Cigliano, 45° 18' N, 8° 01' E, 237 m a.s.l.), caratterizzate rispettivamente da suoli franco-limosi e franco-sabbiosi, adottando la stessa gestione agronomica comunemente applicata nell'areale, senza l'uso di fungicidi o insetticidi. Solo nel campo di Cigliano, le varietà storiche e moderne sono state oggetto di confronto per quanto riguarda l'applicazione di 3 livelli di concimazione azotata (0, 80, 160 kg di N/ha). Tutte le varietà sono state oggetto di caratterizzazione agronomica e qualitativa. La resa agronomica è stata ottenuta per parcella e adeguata ad un valore di umidità della granella pari al 13%. Il peso dei mille semi (PMS) e il peso ettolitrico sono stati determinati su un campione di 2 kg rappresentativo della parcella. Sulla farina raffinata ottenuta tramite mulino Bona 4RB (Bona, Monza, Italy) è stato determinato il contenuto in gliadine tramite kit immunoenzimatico RIDASCREEN® Gliadin (R-Biopharm AG, Darmstadt, Germany). Il macinato integrale è stato analizzato per il contenuto proteico e in ceneri e macinato con mulino centrifugo (granulometria < 500 µm) per la determinazione del profilo in composti antiossidanti. L'estrazione e la quantificazione di acidi fenolici solubili e insolubili è avvenuta tramite HPLC/DAD, come descritto da Giordano *et al.* (2019), il contenuto in alchilresorcinoli è stato determinato tramite HPLC-MS/MS (Pedrazzani *et al.*, 2021). La capacità antiossidante totale (TAC) è stata valutata con saggio QUENCHER-FRAP (*ferric reducing antioxidant power*), come riportato in Serpen *et al.* (2012). I risultati sono stati espressi sul peso secco. Il rischio sanitario espresso come contenuto in deossinivalenolo (DON) è stato determinato tramite kit RIDASCREEN® DON (R-Biopharm AG) sul macinato integrale. Infine, solo sui campioni su cui è stato effettuato il confronto agronomico con 3 livelli di concimazione azotata, le proprietà reologiche delle farine raffinate sono state studiate tramite l'applicazione di un protocollo *fast* al Mixolab® (Chopin Technologies, Villeneuve-la-Garenne, France), con assorbimento costante di acqua pari al 55% (Sardella *et al.*, 2023).

Risultati e discussione

La resa agronomica (Tab. 1) ha differenziato sia le specie sia le varietà; le varietà storiche sono state le meno produttive in tutte le condizioni di crescita (-51%), a causa di maggiori altezze (in media +60 cm) e maggiore allettamento (80%). Farri e frumenti antichi si sono differenziati per quanto riguarda il PMS dalle varietà moderne, con i valori maggiori osservati per i farri spelta (+32%), dicocco (+23%) e le varietà antiche (+20%) rispetto alle varietà moderne. Come atteso, farri spelta e dicocco hanno presentato valori di peso ettolitrico significativamente più bassi rispetto alle varietà moderne (-13% e -16%), tra le quali è emersa la varietà ad alto contenuto proteico Bologna. Il contenuto in proteine di tutti i farri e varietà storiche è risultato significativamente più elevato rispetto a quello delle varietà moderne (+17% come valori medi per entrambe le tipologie), con poche eccezioni (farri Luni e Rossella).

Tabella 1. Confronto agronomico e qualitativo delle varietà oggetto della sperimentazione. PMS: peso dei mille semi; FB: frumento biscottiero; FP: panificabile; FF: di forza. Medie di 2 anni e 2 località. Nell'ambito di ciascun fattore, lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per $p(F) < 0.05$.

Specie	Fonte di variazione	Produzione (t/ha)	Allettamento (%)	PMS (g)	Peso ettolitrico (kg·hL ⁻¹)	Ceneri (%)	Proteine (%)
F. monococco	Monlis	1.5 h	37.0 cd	28.4 h	71.7 de	2.17 a	16.1 a
F. dicocco	Giovanni Paolo	3.4 de	6.7 e	49.7 b	63.6 f	1.92 d	16.1 ab
	Luni	3.5 d	45.3 bc	46.1 c	61.2 g	1.90 def	13.7 e
F. spelta	BC Vigor	4.3 c	26.0 cde	48.9 b	64.2 f	2.02 bc	15.6 abcd
	Rossella	4.5 c	14.0 de	53.5 a	64.4 f	1.87 f	12.6 f
Frumenti teneri	Andriolo	2.5 fg	86.9 a	43.9 de	74.4 bc	2.05 b	15.7 abc
	Gentilrosso	2.7 fg	84.7 a	50.1 b	75.0 b	2.00 c	15.0 cd
	Frassineto	2.4 g	80.3 a	49.8 b	74.5 bc	2.01 c	14.9 d
	Verna	2.9 ef	67.1 ab	42.7 e	75.5 b	2.05 b	15.3 bcd
	Arabia (FB)	5.7 ab	6.7 e	42.8 e	73.2 cd	1.88 def	12.7 f
	Solehio (FP)	5.8 a	14.0 de	45.0 cd	74.0 bc	1.91 de	12.1 f
	Aubusson (FP)	5.4 ab	14.4 de	36.8 f	70.3 e	1.86 f	12.6 f
	Bologna (FF)	5.3 b	7.0 de	32.9 g	77.2 a	1.88 ef	13.5 e

Il contenuto in gliadine R5 (Tab. 2) non ha permesso di discriminare accuratamente le specie, ed è risultato tendenzialmente maggiore nelle varietà storiche. Queste ultime si sono distinte per un minore contenuto in DON, sebbene siano stati osservati contenuti variabili nelle varietà moderne. Ciò permette di selezionare anche tra le varietà moderne genotipi meno suscettibili alla contaminazione. Il contenuto in composti bioattivi, variabile a seconda del genotipo, è risultato più fortemente influenzato dalle condizioni ambientali. Differenze più marcate tra genotipi sono emerse dalla frazione solubile degli acidi fenolici, e un contenuto superiore in alchilresorcinoli è stato osservato per le varietà moderne.

Tabella 2. Confronto del contenuto in epitopi immunotossici (gliadine R5), deossinivalenolo (DON), acidi fenolici solubili e insolubili, alchilresorcinoli e capacità antiossidante totale (TAC) con saggio QUENCHER-FRAP delle varietà oggetto della sperimentazione. FB: frumento biscottiero; FP: panificabile; FF: di forza. Medie di 2 anni e 2 località. Nell'ambito di ciascun fattore, lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per $p(F) < 0.05$.

Specie	Fonte di variazione	Gliadine R5 (mg/kg)	DON (µg/kg)	Ac. fenolici solubili (mg/kg)	Ac. fenolici insolubili (mg/kg)	Alchilresorcinoli (mg/kg)	TAC _{FRAP} (mmol TE/kg)
F. monococco	Monlis	150 de	7798 bc	110 bc	668 ab	770 de	8.8 bcde
F. dicocco	Giovanni Paolo	178 cde	9891 a	79 fg	551 cd	809 cde	8.1 ef
	Luni	251 ab	5851 cd	112 b	536 d	878 bcd	7.6 fg
F. spelta	BC Vigor	244 abc	5377 d	71 gh	666 ab	939 bc	8.1 def
	Rossella	179 bcde	9485 ab	72 gh	604 bcd	672 e	9.2 abc
Frumenti teneri	Andriolo	266 a	2326 ef	94 de	635 abc	772 de	9.6 ab
	Gentilrosso	227 abc	1504 ef	98 de	654 ab	719de	9.7 a
	Frassineto	234 abc	1179 f	99 cd	639 ab	775 de	9.0 abc
	Verna	260 ab	1323 f	130 a	609 bc	758 de	9.0 abcd

Arabia (FB)	239	abc	6663	cd	66	h	610	bc	946	b	8.5	cde
Solehio (FP)	133	e	2415	ef	87	ef	704	a	758	de	12.1	f
Aubusson (FP)	217	abcd	3472	e	63	h	647	ab	1308	a	12.6	f
Bologna (FF)	263	ab	1039	f	68	gh	682	ab	1409	a	13.5	e

Le varietà storiche non hanno risposto all'aumentare della dose azotata in termini di resa, ma solo in termini di proteina, e le loro farine si sono caratterizzate per una minore stabilità tutte le situazioni agronomiche (Fig. 1). Al contrario le varietà moderne hanno risposto sia produttivamente sia qualitativamente (qualità delle farine) alle concimazioni azotate. L'applicazione di concimazioni azotate crescenti ha ulteriormente sottolineato la minore variabilità riscontrata nelle varietà storiche; al contrario le varietà moderne hanno mostrato maggiore variabilità e possono quindi essere selezionate in funzione di specifici obiettivi qualitativi e tecnologici.

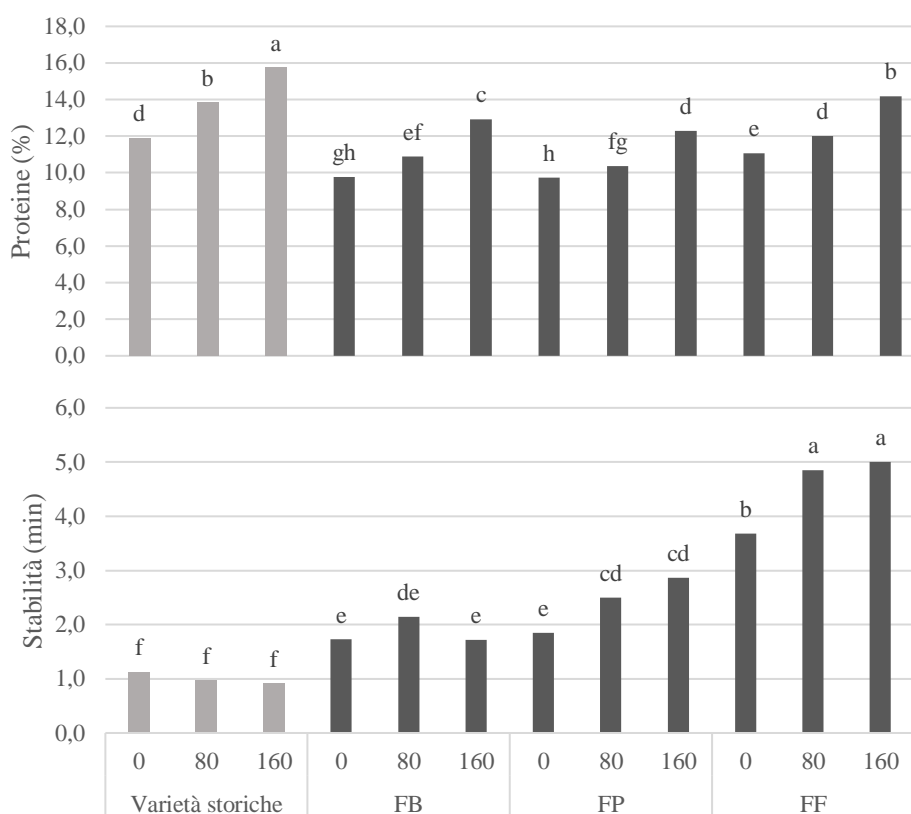


Figura 1. Confronto qualitativo e reologico delle varietà storiche e moderne di frumento tenero per 3 livelli di N. FB: frumento biscottiero; FP: panificabile; FF: di forza. Medie di 2 anni e 1 località. Le medie seguite da lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per $p(F) < 0.05$.

Le varietà di recente introduzione (sia farri vestiti sia frumento tenero) si sono distinte per una maggiore variabilità sia a livello agronomico che sanitario e qualitativo. Il progressivo miglioramento genetico di tutte le specie di *Triticum* può quindi consentire di ottenere sia rese soddisfacenti che buone prestazioni tecnologiche, nonché una adeguata qualità sanitaria e un buon contenuto di composti dalle apprezzate proprietà salutistiche.

Bibliografia

- Giordano D., Reyneri A., Locatelli M., Coïsson J. D., Blandino M. 2019. Distribution of bioactive compounds in pearled fractions of tritordeum. *Food Chemistry*, 301: 125228.
- Pedrazzani C., Vanara F., Bhandari D. R., Bruni R., Spengler B., Blandino M., Righetti L. 2021. 5-*n*-alkylresorcinol profiles in different cultivars of einkorn, emmer, spelt, common wheat, and tritordeum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69: 14092-14102.
- Sardella C., Capo L., Adamo M., Donna M., Ravetto Enri S., Vanara F., Lonati M., Mucciarelli M., Blandino M. 2023. The cultivation of rye in marginal Alpine environments: A comparison of the agronomic, technological, health and sanitary traits of local landraces and commercial cultivars. *Frontiers in Plant Science*, 14: 1130543.
- Serpen A., Gökmen V., Fogliano V. 2012. Solvent effects on total antioxidant capacity of foods measured by direct QUENCHER procedure. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26: 52-57.

Caratterizzazione agronomica e qualitativa di accessioni di *Triticum spelta*

A. Belocchi, E. Galassi, F. Taddei, A. Cammerata, E. Gosparini, V. Mazzon, A. Iori*

Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Via Manziana 30, 00189 Roma (RM).

*E-mail: angela.iori@crea.gov.it

Abstract

Biodiversity protection is essential to reduce the “genetic erosion” of plant species. CREA Research Centre for Engineering and Agro-Food Processing (CREA-IT) in Rome maintains a collection of *Triticum spelta* L. (spelt) accessions and actively participates in FAO's Plant Genetic Resources (PGR) for Food and Agriculture programs. Using PGRs in crop improvement is one of the most sustainable methods of conserving genetic resources for the future and increasing agricultural production and food security.

This study was carried out during the period 2015-2023 on 30 spelt accessions, in two sowing dates (autumn and late winter), with the aim of conserving, characterizing, and enhancing the germplasm, increasing knowledge about the bio-agronomic and quality characteristics of the genotypes.

Riassunto

La salvaguardia della biodiversità è fondamentale per contrastare «l'erosione» del patrimonio genetico delle specie vegetali. Il CREA-IT, sede di Roma, dispone di una collezione di numerose accessioni di *Triticum spelta* L. (spelta) e partecipa ai programmi “Risorse Genetiche Vegetali” (RGV) della FAO. Le RGV costituiscono un serbatoio di geni a cui attingere per il miglioramento genetico di molte specie alimentari. L'attività, condotta nel poliennio 2015-2023, ha riguardato 30 accessioni di spelta e ha consentito la conservazione, la caratterizzazione e la valorizzazione del germoplasma, incrementando le conoscenze sulle caratteristiche bio-agronomiche e qualitative dei genotipi.

Introduzione

La salvaguardia della biodiversità di specie vegetali utilizzabili per l'alimentazione umana è fondamentale sia per contrastare l'erosione genetica sia per l'approvvigionamento alimentare futuro. Secondo l'ultimo rapporto SOFI della FAO, nel 2022 mediamente 735 milioni di persone hanno sofferto la fame (+122 milioni rispetto al 2019) a causa principalmente dei cambiamenti climatico-meteorologici, della pandemia, e delle recenti guerre ancora in atto. La conservazione e l'uso razionale delle risorse genetiche sono elementi essenziali per una produzione agricola sostenibile; le RGV rappresentano, inoltre, la principale fonte di materiale genetico per la costituzione di nuove varietà o per il miglioramento di quelle esistenti.

Nell'ambito del programma internazionale “Risorse Genetiche Vegetali” (RGV) della FAO, il Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria – Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari (CREA-IT) di Roma si occupa da vari anni della conservazione, moltiplicazione e caratterizzazione di accessioni di frumenti vestiti, in particolare *Triticum dicoccum* e *Triticum spelta*. *T. spelta* è un cereale esaploide adatto alla coltivazione in ambienti marginali e utilizzabile come materia prima per alimenti funzionali, grazie alle ottime proprietà nutrizionali (Biel *et al.*, 2021; Quaranta *et al.*, 2014; Cozzolino *et al.*, 2007; Mariani *et al.*, 1992).

Materiali e metodi

L'attività di conservazione e caratterizzazione ha riguardato 30 accessioni di spelta (di origine europea) saggiate, nel poliennio 2015-2023, nei campi dell'azienda sperimentale Inviolatella del CREA-IT di Roma in due epoche di semina: 16 accessioni in semina autunnale, 10 in semina di fine inverno e 4 in entrambe le epoche. Nel poliennio considerato, la semina autunnale è stata eseguita per 8 anni (2015-2018; 2020-2023) quella di fine inverno per 6 anni (2015-2018; 2022-2023). I rilievi hanno riguardato: l'epoca di spigatura (espressa come n. di giorni dal 1° aprile), l'altezza delle piante, la produzione, il peso 1000 spigette e il peso 1000 cariossidi; è stato inoltre valutato il comportamento, resistente o suscettibile, delle accessioni verso le principali malattie fungine, considerando sia l'altezza raggiunta dalla malattia sulla pianta sia la severità di attacco (Pasquini et al, 2003; Iori *et al.*, 2022). Sulla granella raccolta, sono state effettuate analisi qualitative per la determinazione del contenuto in proteine (Leco FP528), del volume di sedimentazione con il test del sodio dodecil solfato "SDS" (Metodo ICC n. 151), del Gluten Index (Glutomatic System, metodo ICC 158) e della capacità antiossidante totale TAC (Martini *et al.*, 2014). Al fine di verificare il mantenimento in purezza delle accessioni ed evidenziare eventuali inquinamenti del materiale in conservazione, sono state effettuate le analisi elettroforetiche delle proteine di riserva (SDS-PAGE), secondo quanto riportato in Pogna *et al.*, 1990 e Payne *et al.*, 1983.

Risultati e discussione

Le principali caratteristiche bio-agronomiche e qualitative delle accessioni in prova hanno mostrato una certa variabilità in entrambe le epoche di semina (Tab. 1 e 2). I genotipi sono risultati mediamente alti, in particolare nella semina autunnale, con rese decisamente contenute (tra 1.29 e 1.97 t/ha nella semina autunnale e tra 0.98 e 1.55 t/ha in quella di fine inverno), correlate però ad un elevato tenore proteico della granella (15.3-18.7% s.s.). Mediamente buoni, anche se molto variabili, i valori di SDS, sempre superiore a 40 ml, con punte sopra 60 ml, e, soprattutto, di Gluten Index (51.0 - 96.3).

Tabella 1. Caratterizzazione bio-agronomica e qualitativa delle 20 accessioni di *T. spelta* in semina autunnale (evidenziate in grigio le 4 accessioni comuni alle due epoche di semina).

	Accessione	Spigatura gg da 1/4	Altezza pianta	Produzione t.q.	Peso 1000 spigette	Peso 1000 cariossidi	Cariossidi per spigetta	Proteine granella	SDS	Gluten Index
		n.	cm	t/ha	g	g	n.	% s.s.	ml	
Semina autunnale	15398	45	133	1.86	103.9	39.1	1.7	16.8	55.0	91.0
	15401	47	123	1.40	87.1	37.2	1.4	17.4	59.8	87.0
	15473	46	126	1.79	99.4	41.7	1.7	16.8	51.9	79.0
	15499	46	129	1.89	106.8	41.6	1.9	16.1	55.5	79.0
	7863	44	130	1.59	99.1	44.3	1.4	15.3	50.3	51.0
	15334	42	129	1.80	91.6	37.3	1.6	17.3	52.3	55.0
	15383	48	137	1.58	86.0	35.4	1.5	17.9	61.8	67.0
	15388	46	134	1.73	87.5	36.3	1.5	16.7	49.8	73.0
	15397	50	131	1.35	100.0	41.0	1.6	17.8	65.0	51.0
	15399	45	134	1.68	98.7	38.8	1.6	16.6	47.4	87.0
	15400	47	135	1.29	94.3	39.8	1.8	15.8	60.2	94.0
	15409	48	129	1.71	95.3	39.9	1.5	16.5	64.8	76.0
	15411	48	134	1.83	102.3	40.2	1.8	17.6	55.1	85.0
	15414	46	131	1.75	100.4	40.2	1.7	17.3	51.7	85.0
	15434	46	129	1.94	102.2	39.3	1.6	17.1	58.5	94.0
	15435	48	126	1.51	103.9	43.5	1.7	17.3	55.0	80.0
	15474	47	130	1.60	106.6	41.7	1.7	16.3	59.2	77.0
	15480	47	133	1.97	100.6	43.0	1.6	17.0	59.7	90.0
	15500	46	124	1.69	108.7	41.7	1.8	17.4	58.1	70.0
	15504	50	126	1.59	112.6	43.7	1.6	17.7	47.2	88.0
Media gen	46.5	130.2	1.7	99.4	40.3	1.6	16.9	55.9	78.0	
Media 4 comuni	45.7	127.9	1.7	99.3	39.9	1.7	16.8	55.5	84.0	

Tabella 2. Caratterizzazione bio-agronomica e qualitativa delle 14 accessioni di *T. spelta* in sin semina di fine inverno (evidenziate in grigio le 4 accessioni comuni alle due epoche di semina).

	Accessione	Spigatura gg da 1/4	Altezza pianta	Produzione t.q.	Peso 1000 spighette	Peso 1000 cariossidi	Cariossidi per spighetta	Proteine granella	SDS	Gluten Index
	n.	cm	t/ha	g	g	n.	% s.s.	ml		
Semina fine inverno	15398	58	118	1.01	101.4	41.3	1.6	17.3	61.8	84.8
	15401	59	121	1.32	95.9	39.2	1.8	16.9	61.8	96.3
	15473	55	118	1.06	91.5	35.3	1.9	17.8	61.2	76.8
	15499	57	119	1.42	95.2	37.7	1.8	16.9	49.0	67.2
	7843	53	117	1.14	111.0	44.0	1.7	16.5	44.6	52.8
	7848	54	119	1.34	109.2	47.9	1.6	16.8	49.6	63.2
	7851	55	113	1.39	109.4	45.0	1.7	17.0	56.8	75.4
	7863	57	115	1.55	107.5	43.2	1.9	16.1	49.6	84.6
	15342	56	117	1.33	94.1	37.5	1.7	17.5	61.0	75.5
	15471	56	114	1.14	91.8	38.1	1.6	18.7	51.1	59.7
	15479	57	119	1.04	89.5	37.8	1.7	16.7	43.5	65.9
	15481	57	120	1.27	98.7	39.6	1.8	17.4	47.3	54.1
	15486	57	113	0.98	93.6	36.9	1.7	18.7	47.0	62.2
	15545	56	111	1.07	84.4	32.6	1.6	17.8	50.6	60.8
	Media gen	56.1	116.7	1.2	98.1	39.7	1.7	17.3	52.5	70.0
	Media 4 comuni	57.4	119.0	1.2	96.0	38.3	1.8	17.2	58.4	81.3

I rilievi fitopatologici hanno evidenziato la comparsa di diverse fitopatie: complesso della septoriosi, ruggine gialla, ruggine bruna e ruggine nera causate, rispettivamente, dai patogeni: *Zymoseptoria tritici* e/o *Parastagonospora nodorum*, *Puccinia striiformis*, *Puccinia triticina* e *Puccinia graminis* (Tab. 3 e 4).

Tra i genotipi a semina autunnale, le accessioni: 15397, 15400, 15409, 15411, 15434 e 15504 hanno mostrato un comportamento resistente o moderatamente resistente verso tutte le malattie nei diversi anni di prova (Tab. 3).

Tabella 3. Risposta delle accessioni di *T. spelta* in semina autunnale all'attacco dei patogeni fungini. R: resistente; MR: moderatamente resistente; MS: moderatamente suscettibile; S: suscettibile. (Evidenziate in grigio le 4 accessioni comuni alle due epoche di semina).

	Accessione	Ruggine gialla	Ruggine bruna	Ruggine nera	Complesso della septoriosi
	Semina autunnale	15398	MS	MR	S
15401		MS	R	R	MR
15473		S	S	MR	R
15499		MR	MS	R	MR
7863		S	MR	R	MR
15334		MS	MS	MS	MR
15383		MS	MS	MS	R
15388		S	MR	S	MR
15397		MR	MR	MR	MR
15399		MS	MR	S	R
15400		MR	MR	R	MR
15409		MR	MR	R	MR
15411		MR	MR	MR	MR
15414		MR	MS	R	R
15434		MR	R	R	R
15435		MS	MS	R	R
15474		MS	MS	R	MR
15480		MR	MS	MR	MR
15500	MR	MR	MS	MR	
15504	MR	MR	R	MR	

Per quanto riguarda le accessioni a semina di fine inverno il miglior comportamento verso i patogeni è stato registrato su 7851, 15342, 15398, 15471, 15479, 15481 e 15499 (Tab. 4).

Tabella 4. Risposta delle accessioni di *T. spelta* in semina di fine inverno all’attacco dei patogeni fungini. R: resistente; MR: moderatamente resistente; MS: moderatamente suscettibile; S: suscettibile. (Evidenziate in grigio le 4 accessioni comuni alle due epoche di semina).

Semina fine inverno	Accessione	Ruggine gialla	Ruggine bruna	Ruggine nera	Complesso della septoriosi
	15398	MR	R	R	R
15401	MR	R	MS	MR	
15473	R	R	MS	MR	
15499	MR	R	R	R	
7843	MR	R	MS	MR	
7848	S	R	MS	MR	
7851	MR	R	MR	R	
7863	MR	R	MS	MR	
15342	MR	R	R	R	
15471	MR	R	R	MR	
15479	MR	R	R	MR	
15481	R	R	MR	MR	
15486	MS	R	MR	R	
15545	MR	MR	MS	MS	

Sulla granella di 20 accessioni raccolte nel 2018 è stata effettuata l’analisi della capacità antiossidante totale (TAC). I dati (Fig. 1) mostrano una discreta variabilità nei livelli di TAC tra le linee di spelta in entrambe le epoche di semina, valori tra 50.2 e 63.9 mmol TEAC/kg per la semina autunnale; tra 49.1 e 64.1 per quella di fine inverno.

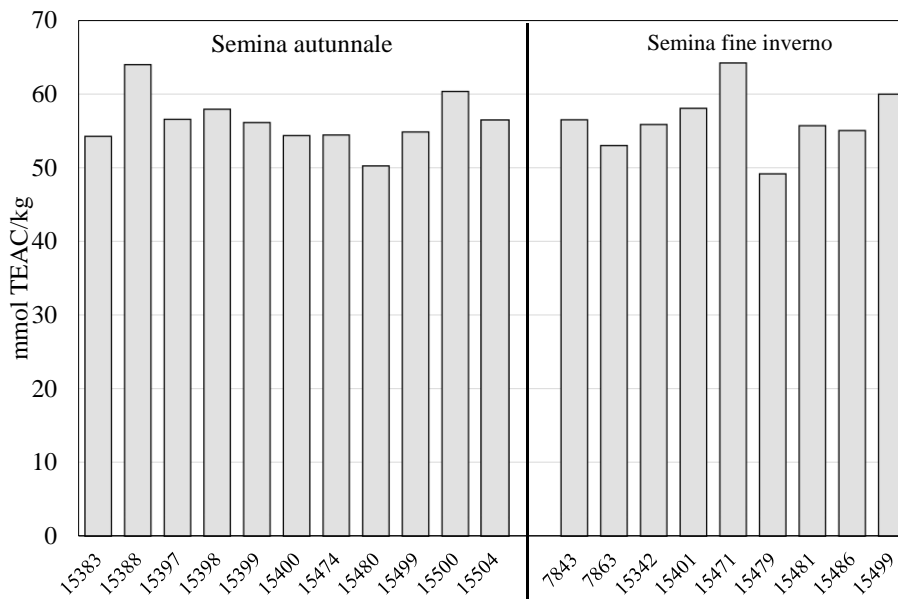


Figura 1. Valori della capacità antiossidante totale (TAC) per 11 spelta da semina autunnale e 9 da semina di fine inverno.

In base ai profili proteici evidenziati dall’elettroforesi in SDS-PAGE è emerso che tutte le accessioni di *T. spelta* sono diverse l’una dall’altra e non mostrano inquinamenti al loro interno (Fig. 2), a conferma del mantenimento in purezza del materiale conservato e riprodotto in campo.

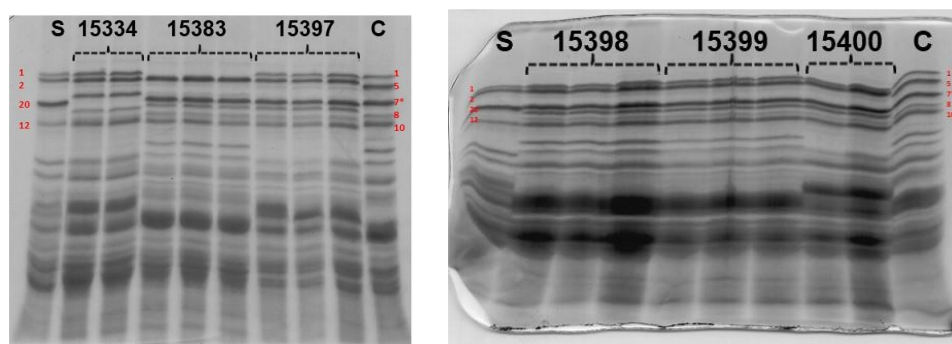


Figura 2. Esempio di frazionamento in SDS-PAGE delle proteine di riserva di 6 accessioni di *T. spelta*. Cultivar testimoni: San Pastore (S) e Centauro (C).

La ricerca condotta in vari anni, oltre a permettere la conservazione delle accessioni per contrastare l'erosione genetica, ha consentito di incrementare le conoscenze sulle caratteristiche bio-agronomiche e qualitative delle accessioni, utili anche ai fini del miglioramento genetico. Le informazioni sul comportamento dei genotipi verso le principali fitopatie possono, inoltre, risultare di particolare interesse, considerando la comparsa nel nostro Paese di nuovi patotipi/razze di patogeni fungini (*Puccinia striiformis* e *Puccinia graminis*, agenti causali della ruggine gialla e della ruggine nera), risultati molto aggressivi su altre specie di cereali (frumento tenero e duro).

Lavoro svolto nell'ambito del programma "Trattato internazionale sulle risorse fitogenetiche per l'alimentazione e l'agricoltura RGV-FAO", finanziato dal Masaf.

Bibliografia

- Biel W., Jaroszewska A., Stankowski S., Sobolewska M., Kępińska-Pacelik J. 2021. *European Food Research and Technology*, 247(6): 1525-1538.
- Cozzolino E., Leone V., Raimo F. 2007. Atti del XXXVII Convegno Nazionale SIA. FAO, IFAD, UNICEF, WFP and WHO, (2023). The State of Food Security and Nutrition in the World 2023. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc3017en>.
- Iori A., Belocchi A., Fornara M., Quaranta F. 2022. *L'Informatore Agrario*, 2: 47-49.
- Mariani G., Belocchi A., Colonna M. 1992. *L'Informatore Agrario*, 37: 72-76.
- Martini D., Taddei F., Nicoletti I., Ciccoritti R., Corradini D., D'Egidio MG. 2014. *Cereal Chem*, 91(4): 310-317.
- Pasquini M., Pancaldi D., Casulli F., Iori A., Riccardi M., Gazza L., Cacciatori P., Faccini N., Corazza L., Santori A., Vallega V., Rubies-Autonell C., Delogu G. 2003. Failli Editore.
- Payne P. I., Lawrence G. J. 1983. *Research Communications*, 29-35.
- Pogna N. E., Autran J. C., Mellini F., Lafiandra D., Feillet P. 1990. *Journal of Cereal Science*, 11(1): 15-34.
- Quaranta F., Belocchi A., Camerini M., Cecchini C., Fornara M., Pucciarmati S., D'Egidio M.G. 2014. Proceedings of the International Symposium on Genetics and Breeding of Durum Wheat, 127-130.

Strategie di sequenziamento di nuova generazione per lo studio della variabilità genetica nei mais piemontesi

M. Martina¹, A.M. Milani¹, C. Comino¹, S. Spagnolo², P. Migliorini², E. Portis^{1}*

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA) Genetica Vegetale, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO).

²Università degli Studi di Scienze Gastronomiche, Piazza Vittorio Emanuele 9, Fraz. Pollenzo, 12042 Bra (CN).

*E-mail: ezio.portis@unito

Abstract

This research was conducted as part of the GER-MAIS project: Germplasm of Piemontese maize ecotypes, funded by the Piedmont Region (PSR 2014-2024 - Op. 10.2.1). The project aimed to develop optimal strategies for conserving local maize germplasm, with the goal of enhancing their value as niche products with DOP (Protected Designation of Origin) and IGP (Protected Geographical Indication) status. Genetic characterization of the genotypes analyzed in this project was performed using Next-Generation Sequencing (NGS) techniques. Specifically, the K-seq protocol was adapted to the maize genome and recently applied at the Plant Genetics Laboratory of DISAFA, University of Turin, to ten ecotypes. Seven of these had been previously identified: 'Ottofile giallo', 'Ottofile rosso', 'Ottofile bianco', 'Ostenga', 'Nostrano dell'Isola', 'Pignoletto giallo', and 'Pignoletto rosso', while the ecotypes 'Ottofile nero', 'Pignoletto nero', and 'Quarantina del canavese' were selected here for the first time.

Riassunto

Questa ricerca è stata condotta nell'ambito del progetto GER-MAIS: Germoplasma degli ecotipi di mais piemontesi, finanziato dalla Regione Piemonte (PSR 2014-2024 - Op. 10.2.1). Il progetto si è focalizzato sullo sviluppo di strategie ottimali per la conservazione del germoplasma di mais locale, con l'obiettivo di valorizzarli come prodotti tipici di nicchia, con marchio DOP (Denominazione di Origine Protetta) e IGP (Indicazione Geografica Protetta). La caratterizzazione genetica dei genotipi analizzati è stata effettuata mediante tecniche di sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS). In particolare, il protocollo K-seq è stato adattato al genoma del mais e applicato di recente presso il laboratorio di Genetica Vegetale del DISAFA, Università di Torino, su dieci ecotipi. Sette di questi erano già stati identificati in precedenza: 'Ottofile giallo', 'Ottofile rosso', 'Ottofile bianco', 'Ostenga', 'Nostrano dell'Isola', 'Pignoletto giallo' e 'Pignoletto rosso', mentre gli ecotipi 'Ottofile nero', 'Pignoletto nero' e 'Quarantina del canavese' sono stati selezionati per la prima volta in questa occasione.

Introduzione

La diversità genetica del mais è stata modellata da secoli di selezione naturale e artificiale, portando alla creazione di ecotipi locali che presentano adattamenti unici a specifiche condizioni ambientali e pratiche agricole. Questi ecotipi rivestono un'importanza culturale e nutrizionale significativa nelle regioni in cui sono stati storicamente coltivati, come nel caso del Piemonte, una regione rinomata per la sua tradizione agricola e gastronomica. Negli ultimi decenni, l'agricoltura ha subito notevoli cambiamenti a causa dell'industrializzazione, delle pratiche agricole intensive e dei cambiamenti climatici, il che ha portato a una significativa erosione della biodiversità agricola. La perdita di ecotipi locali e tradizionali, come quelli del mais piemontese, minaccia non solo la varietà genetica del mais, ma anche il patrimonio culturale associato alla loro coltivazione e utilizzo. In risposta a queste sfide, è fondamentale

implementare strategie di conservazione efficaci che garantiscano la preservazione di queste risorse genetiche preziose.

Questa ricerca è stata condotta nell'ambito del Progetto GER-MAIS: Germoplasma degli ecotipi di mais piemontesi, finanziato dalla Regione Piemonte (PSR 2014-2024 - Op. 10.2.1). Il progetto si è focalizzato sullo sviluppo di strategie ottimali per la conservazione del germoplasma di mais locale, con l'obiettivo di valorizzarli come prodotti tipici di nicchia, con marchio DOP (Denominazione di Origine Protetta) e IGP (Indicazione Geografica Protetta). Ciò allo scopo di preservare la biodiversità agricola, ma anche di rafforzare l'identità culturale e gastronomica della regione, aumentando il valore economico delle coltivazioni locali.

Le varietà di mais da conservazione piemontesi fino ad ora indagate con progetti di ricerca erano sette: Ottofile giallo, rosso e bianco, Ostenga del canavese, Nostrano dell'Isola, Pignoletto giallo e rosso (Portis et al. 2011). Altre risorse genetiche sono state reperite negli ultimi anni e sono diventate oggetto di studio nel presente progetto: 'Ottofile nero', 'Pignoletto nero' e 'Quarantina del canavese'. In questo contesto, la caratterizzazione genetica degli ecotipi di mais si è rivelata essenziale per comprendere la loro variabilità e differenziazione. I progressi nelle tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing - NGS) hanno rivoluzionato la nostra capacità di esaminare e acquisire rapidamente informazioni genetiche complesse, aprendo nuove prospettive in numerosi ambiti di ricerca, dalla genomica alla medicina personalizzata. In questo studio, è stato utilizzato il protocollo K-seq (Ziarsolo et al. 2021) di recente applicazione presso il laboratorio Genetica Vegetale del DISAFA - Università di Torino (Martina et al. 2023), basato su tecnologie NGS, adattandolo per lo studio del genoma del mais per l'analisi della diversità genetica dei dieci ecotipi piemontesi. Questo protocollo si basa sull'amplificazione di regioni genomiche attraverso due passaggi di amplificazione utilizzando oligonucleotidi di ridotta lunghezza, progettati sulla base di insiemi di *k-meri* identificati *in silico* sulla sequenza genomica disponibile. Tali amplificazioni consentono di rilevare numerosi polimorfismi genetici.

In particolare, la tecnica K-seq è stata utilizzata al fine di identificare i genotipi più rappresentativi entro ogni ecotipo, da destinare alla conservazione ed alla produzione di semente. I nostri sforzi si sono concentrati su genotipi che presentavano caratteristiche distintive e catturavano la maggior parte della variabilità genetica, con l'obiettivo di facilitare e ottimizzare la loro conservazione *in situ* ('on-farm') ed *ex situ* all'interno della Banca del Germoplasma del DISAFA- Università di Torino.

Materiali e Metodi

La caratterizzazione genetica è stata condotta sui dieci ecotipi piemontesi di mais precedentemente descritti: 'Ottofile Giallo', 'Ottofile Rosso', 'Ottofile Bianco', 'Ottofile Nero', 'Pignoletto Giallo', 'Pignoletto Rosso', 'Pignoletto Nero', 'Ostenga', 'Nostrano dell'Isola' e 'Quarantina'. Nella prima fase del progetto, il protocollo K-seq è stato adattato al genoma del mais analizzando un sottoinsieme di genotipi campionati dai ciascuno dei dieci ecotipi. Il DNA è stato estratto a partire da plantule ottenute da seme poste a germinare entro capsule Petri (Fig. 1)

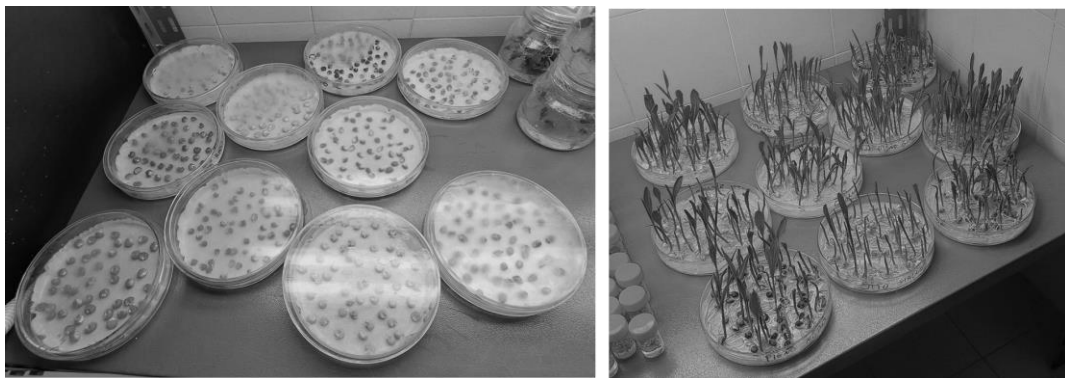


Figura 1. Germinazione dei semi in capsule Petri ed ottenimento delle plantule idonee all'estrazione del DNA.

Il DNA è stato estratto con metodo CTAB (Doyle and Doyle 1990), e sequenziato utilizzando il protocollo K-seq (Ziarsolo et al. 2021) I dati di sequenziamento ottenuti sono stati allineati al genoma di riferimento per *Zea mays* (Zm-B73-REFERENCE-NAM-5.0, Schnable et al. 2009) utilizzando il software *BWA-MEM2* e successivamente *bcftools mpileup* è stato applicato per selezionare SNP di alta qualità utilizzando il software *vcftools* con parametri di filtraggio standard. Tali marcatori sono stati, successivamente, importati nel software MEGA11 (Tamura et al. 2021) e utilizzati per costruire un dendrogramma di similarità basato sul metodo UPGMA (Sneath and Sokal 1973).

Nella seconda fase del progetto, circa 30 spighe, provenienti da piante coltivate in campi isolati, sono state identificate fenotipicamente all'interno di ciascun ecotipo sulla base della rispondenza all'ideotipo varietale (Figura 2). A partire da ogni spiga sono state prelevate le brattee successivamente sottoposte all'estrazione del DNA ed all'analisi genetica mediante protocollo K-seq, al fine di identificare i genotipi più rappresentativi, da destinare alla conservazione e alla produzione di semente. A tale scopo sono stati costruiti dendrogrammi UPGMA ed eseguite analisi delle componenti principali (PCA) mediante software SNPRelate v1.32.1 (Zheng et al., 2012)



Figura 2. Variabilità fenotipica di alcuni degli ecotipi in analisi.

Risultati e discussione

Sequenziamento e identificazione di marcatori SNP: Complessivamente, sono state generate circa 23 milioni di reads (PE150) corrispondenti a circa 7 GigaByte di dati grezzi. Le reads pulite, allineate al genoma di riferimento, hanno portato all'identificazione di 2,9 milioni di SNPs. Dopo il filtraggio, questo numero è stato ridotto a 10.441 polimorfismi utilizzati per l'analisi filogenetica.

Variabilità Genetica: Il dendrogramma UPGMA costruito a partire da un sottoinsieme di genotipi campionati entro ciascun ecotipo, ha messo in evidenza l'ottenimento di un unico e specifico *fingerprinting* molecolare per ciascuno dei genotipi analizzati. I cinque genotipi appartenenti a ciascuna delle tipologie esaminate hanno costantemente formato un cluster ben

definito. I dieci cluster così ottenuti sono evidenziati nel dendrogramma riportato in Figura 3, con le immagini delle rispettive spighe affiancate a ciascun gruppo di genotipi. Emergono chiaramente cinque gruppi, o rami, principali. Nel primo (A), gli "Ottofile" bianchi, rossi e gialli si sono raggruppati insieme, mentre il secondo (B) ha raggruppato i "Pignoletto" gialli e rossi. Le tipologie a granella nera "Pignoletto Nero" e "Ottofile Nero" hanno evidenziato una maggiore somiglianza e si sono raggruppati insieme con "Ostenga" nel ramo (C). "Nostrano dell'Isola" e "Quarantina" sono stati identificati come gli ecotipi più distanti (rami D ed E).

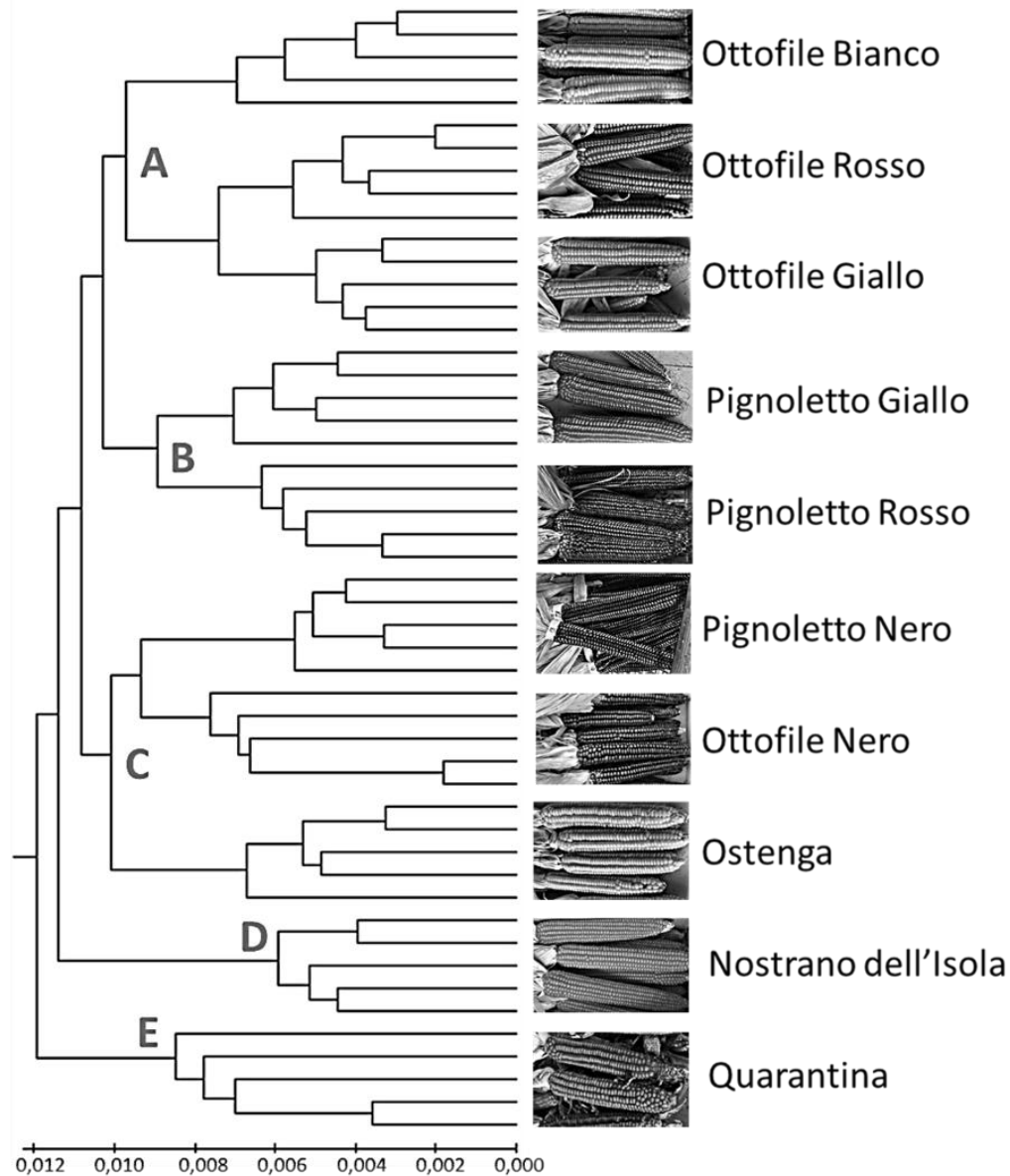


Figura 3. Dendrogramma UPGMA basato su 10,441 SNPs.

A titolo di esempio, la Figura 4 illustra le relazioni genetiche rilevate tra le piante selezionate di 'Ottofile Giallo'. Questi genotipi sono stati scelti per la loro distinta espressione delle caratteristiche fenotipiche uniche dell'ecotipo e sono stati analizzati unitamente a campioni di DNA provenienti dalle tipologie in conservazione presso la Banca del germoplasma del DISAFA, Università di Torino, utilizzati come termine di confronto varietale. Sei genotipi (più scuri in Figura 4) hanno mostrato una significativa differenziazione genetica, dimostrando la minore somiglianza con il cluster contenente tutte le altre piante e con i genotipi di riferimento della collezione della banca del germoplasma. Di conseguenza, questi genotipi sono stati esclusi dai successivi campionamenti di semente sia per la conservazione *in situ* che *ex situ*.

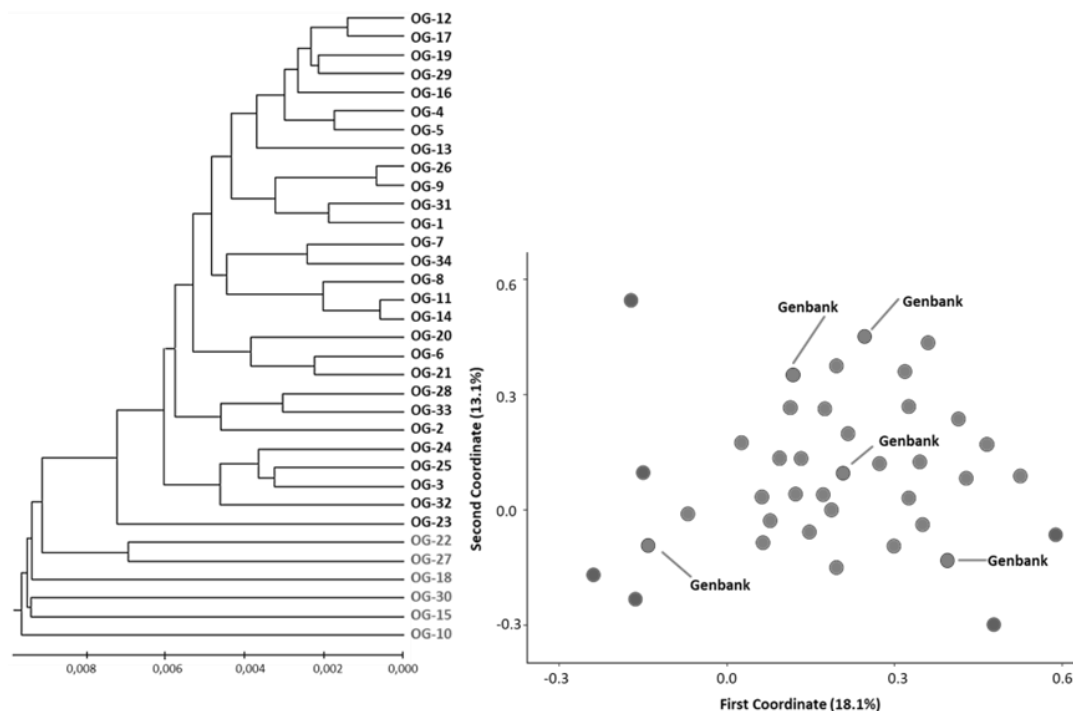


Figura 4. Dendrogramma UPGMA (sinistra) e grafico PCA (destra) che riportano le relazioni filogenetiche evidenziate nell'ambito di 34 spighe della tipologia 'Ottofile giallo'.

Le attività condotte nell'ambito del Progetto GER-MAIS hanno consentito, nel complesso, di mantenere alta l'attenzione sulla tutela della biodiversità, attraverso indagini di campo e analisi genetiche, ma anche mediante momenti di incontro e di divulgazione con cittadini e istituzioni locali. Questo studio contribuirà ad ampliare le conoscenze sulla diversità genetica del mais e, potenzialmente, fornirà indicazioni pratiche per la gestione e la conservazione delle risorse genetiche locali, fondamentali per il futuro dell'agricoltura piemontese e italiana.

Bibliografia

- Doyle J.J., Doyle J.L. 1990. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue, *Phytochem. Bull.* 19, pp. 11-15.
- Martina M., Acquadro A., Portis E., Barchi L., Lanteri S. 2023. Diversity analyses in two ornamental and large-genome Ranunculaceae species based on a low-cost Klenow NGS-based protocol. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1187205.
- Kim et al Nat gen 2014 seq pepper.
- Portis E., Pinna M., Gamba U., Spagnolo S., Arnoulet M., Lanteri S. 2011. Recupero e valorizzazione di ecotipi piemontesi di mais da polenta. *Atti 8° Convegno AISTEC*, pp. 44-48.
- Schnable P.S., Ware D., Fulton R.S., Stein J.C., Wei F., Pasternak S. 2009. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. *Science* 20, 326(5956): 1112-5.
- Sneath P. H. A., Sokal R. R. 1973. Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification (W. H. Freeman and Co).
- Tamura K., Stecher G., Kumar S. 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027.
- Sneath and Sokal, 1973.
- Zheng X., Levine D., Shen J., Gogarten S. M., Laurie C., Weir B. S. 2012. A high-performance computing toolset for relatedness and principal component analysis of SNP data. *Bioinformatics*, 28(24): 3326-3328.
- Ziarsolo P., Hasing T., Hilario R., Garcia-Carpintero V., Blanca J., Bombarely A., Cañizares J. 2021. K-seq, an affordable, reliable, and open Klenow NGS-based genotyping technology. *Plant Methods*, 17: 1-11.

Prodotti innovativi a base di cereali minori: cous cous e malto da grano monococco

F. Nocente, E. Galassi, F. Taddei, C. Natale, P. Cacciatori, L. Sereni, L. Gazza*

Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di Ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Via Manziana 30, 00189 Roma (RM).

*E-mail: francesca.nocente@crea.gov.it

Abstract

Einkorn was the first domesticated wheat species. Nowadays, einkorn has been reintroduced thanks to its adaptation to poor soils and low-input agriculture and to its distinctive nutritional value in terms of high protein content, lutein, fructans, iron and zinc, and a very weak gluten. Recognizing the potential of this cereal, within the project COSMO funded by the Italy-Rural Development Programme (Regional)-Sicily (2014-2020), technological processes have been developed for the production of malt and cous cous from the two einkorn varieties Norberto (hulled) and Hammurabi (de-hulled). Malting aptitude was evaluated in terms of germination capacity and energy, test weight, 1000-kernel weight, protein and total starch content, α and β -amylase activity. Different malting protocols were customized for the two varieties, presenting hulled or naked kernels. The technological process for the production of cous cous required the use of parboiling in order to increase the kernel hardness of einkorn, resulting in a greater flour particle size necessary for the formation of cous cous agglomerates by consecutive steps of rolling and sieving. Subsequently, cous cous was steamed and dried and some nutritional compounds were analysed. Both einkorn varieties have been shown to be suitable for malt and cous cous production.

Riassunto

Il grano monococco è il più antico cereale ad essere stato coltivato dall'uomo. Negli ultimi anni, si è assistito ad un rinnovato interesse per questo frumento grazie alla sua "rusticità" e ad alcune proprietà nutrizionali, quali un elevato contenuto di proteine, di luteina, di fruttani, di ferro e di zinco e un glutine molto debole. Considerando le potenzialità di questo cereale, nell'ambito del progetto COSMO (PSR Sicilia 2014-2020), sono stati messi a punto i processi tecnologici per la produzione di cous cous e di malto da due varietà di monococco Norberto (vestito) e Hammurabi (nudo). L'attitudine alla maltazione è stata valutata analizzando: capacità ed energia germinativa, peso ettolitrico, peso 1000 semi, contenuto in proteine ed in amido, attività amilasica. Inoltre, sono stati messi a punto due differenti protocolli di maltazione, essendo le due varietà una a cariosside nuda e una vestita. Per la produzione di cous cous, il processo tecnologico ha previsto l'utilizzo della parboilizzazione della granella di monococco per aumentarne la durezza ed ottenere uno sfarinato con una granulometria maggiore, necessaria per la formazione dei granelli di cous cous attraverso diversi passaggi di *rolling* e setacciamento. Il cous cous è stato quindi sottoposto a una cottura a vapore ed essiccamento ed analizzato per alcuni parametri nutrizionali. Entrambe le varietà sono risultate adatte alla produzione di malto da birra e cous cous.

Introduzione

Il grano monococco (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*) è il più antico cereale ad essere stato coltivato dall'uomo circa 5000 anni fa. Sebbene nel tempo la sua coltivazione sia stata abbandonata, perché sostituito dai più produttivi frumenti tenero e duro, negli ultimi anni si è assistito ad un rinnovato interesse per questo frumento, grazie alla crescente richiesta di

cibi sani prodotti in modo sostenibile. Il monococco, infatti, rispetto agli attuali frumenti coltivati, oltre ad essere adatto ad una coltivazione *low input* anche in ambienti marginali, risulta interessante dal punto di vista nutrizionale grazie ad un elevato contenuto proteico (16-20%) anche in assenza di concimazione azotata, alla presenza di acidi grassi essenziali, di microelementi (Fe e Zn) e di composti antiossidanti (carotenoidi, tocoli, fitosteroli, polifenoli). Inoltre, il monococco presenta un glutine molto debole e più digeribile, con un ridotto contenuto dei peptidi immunostimolanti, tossici per le persone affette da patologie glutine-correlate. Nonostante la presenza di un glutine debole, alcune varietà di monococco hanno mostrato delle buone proprietà tecnologiche e sono risultate adatte alla trasformazione in pasta, pane e prodotti da forno (Gazza *et al.*, 2023). Le interessanti proprietà di questo cereale hanno dato via ad un progetto PSR 2014-2020, il progetto COSMO “Cooperazione per lo sviluppo in Sicilia della filiera del grano Monococco”, volto all’organizzazione di una filiera monococco in Sicilia, dalla produzione primaria alla trasformazione. Tra gli obiettivi del progetto vi era la realizzazione di nuovi prodotti a base di monococco come il malto da birra ed il cous cous. La scelta di produrre malto di monococco è stata dettata dall’attuale richiesta da parte del settore brassicolo di materie prime non convenzionali per la produzione di birre innovative, mentre il cous cous è stato scelto in quanto alimento tipico della dieta Mediterranea, iscritto nel 2020 nella lista del patrimonio culturale immateriale dell’UNESCO. Nell’ambito del progetto, sono stati pertanto messi a punto i processi tecnologici per la produzione di malto e di cous cous di monococco utilizzando le due varietà costituite dal CREA IT, Norberto (cariosside vestita) e Hammurabi (cariosside nuda), al fine di valorizzare questo antico cereale attraverso la realizzazione di prodotti tipici non ancora presenti sul mercato.

Materiali e metodi

Per la produzione di cous cous precotto, la granella di monococco delle varietà Norberto e Hammurabi è stata condizionata in acqua per 4,5 ore fino a raggiungere una umidità del 40%. Successivamente la granella è stata parboilizzata a 120 °C per 10 min alla pressione di 2,1 bar ed è stata asciugata a 35 °C per riportarla ad un valore di umidità del 10%. L’indice di durezza delle cariossidi è stato determinato con il sistema Perten SKCS 4100. La granella parboilizzata è stata macinata con il mulino Buhler MLU202. Allo sfarinato è stata aggiunta una soluzione di NaCl 0,5% per permettere la formazione dei granelli di cous cous attraverso progressivi passaggi di “rolling” e setacciamento. I granelli sono stati sottoposti a cottura a vapore ed essiccati a 35 °C per 20 h. Sul cous cous precotto sono stati determinati il contenuto in proteine (ICC 105-2), fibra (AOAC 991.43), amido e amilosio (Megazyme kits K-TSTA e K-AMYL), ceneri (AACC 08-01.01) e capacità antiossidante totale (Martini *et al.*, 2014). Inoltre sono state condotte prove di reidratazione con acqua calda secondo i rapporti cous cous/acqua (p/v) di 2:1,1:1 e 1:1,5.

Per la produzione di malto, le cariossidi della varietà Hammurabi sono state utilizzate svestite, poiché alla trebbiatura circa l’85-90% di cariossidi risultano nude; diversamente, per la varietà Norberto si è proceduto alla maltazione delle cariossidi vestite. L’attitudine alla maltazione del monococco è stata valutata attraverso l’analisi di alcune caratteristiche della granella quali: capacità germinativa (n° semi germinati dopo 5 giorni/n° semi analizzati × 100/1), peso 1000 semi (ISO 520:2010), peso ettolitrico (ISO 7971-1:2009), contenuto in amido (Megazyme kit K-TSTA) e proteine (ICC 105-2), umidità (ASAE Standard S352.2). Per la produzione di malto sono stati utilizzati due diversi programmi di maltazione per le due varietà di monococco, come riportato in Tabella 1. Sul malto è stata determinata l’attività amilasica (Megazyme kits Betamyl-3 e Ceralpha) e la *malting loss*, calcolata come differenza del peso 1000 semi prima e dopo la maltazione.

Tabella 1. Programmi di maltazione

	Hammurabi (nudo)	Norberto (vestito)
BAGNATURA	2 h, 15 °C	4 h, 15 °C
PAUSA ARIA	19 h, 15 °C	19 h, 15 °C
BAGNATURA	2 h, 15 °C	2 h, 15 °C
GERMINAZIONE	96 h, 15 °C	72 h, 15 °C
ESSICCAMENTO	6 h, 40 °C	6 h, 40 °C
	15 h, 50 °C	20 h, 50 °C
	5 h, 60 °C	5 h, 60 °C
	2h, 80 °C	2h, 80 °C

Risultati e discussione

La sfida tecnologica per la produzione di cous cous di monococco derivava dall'estrema sofficità della cariosside e dalla conseguente ridotta granulometria della farina. Il processo di parboilizzazione pre-macinazione ha permesso di aumentare la durezza della cariosside e, conseguentemente, la granulometria degli sfarinati. Infatti, il processo idrotermico ha determinato in Hammurabi un aumento dell'indice di durezza (HI) da 3 a 73, mentre in Norberto l'HI è aumentato da 16 a 44. I risultati dell'analisi nutrizionale effettuata sul cous cous precotto delle due varietà di monococco sono mostrati in Figura 1.

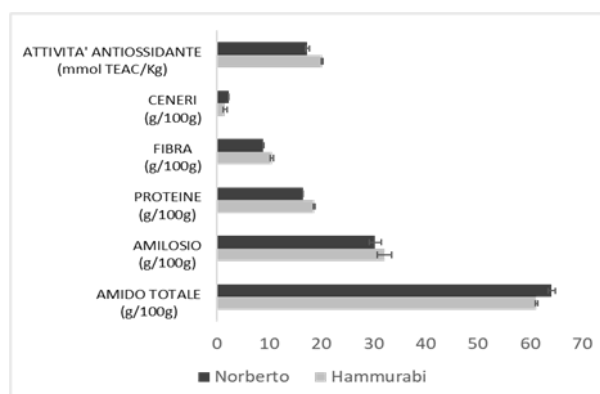


Figura 1. Risultati dell'analisi nutrizionale del cous cous delle varietà Norberto e Hammurabi

Sebbene il cous cous delle due varietà sia risultato simile dal punto di vista nutrizionale, quello ottenuto dalla varietà Hammurabi ha mostrato valori significativamente maggiori del contenuto proteico (18,6 vs. 16,5%), della fibra (10,6 vs. 8,9%), dell'amilosio (32,1 vs. 30,3%) e della capacità antiossidante totale (20,2 vs. 17,3 mmol TEAC/kg). Le prove di reidratazione effettuate aggiungendo al cous cous acqua bollente in 3 diversi rapporti peso/volume, hanno evidenziato come miglior rapporto quello 1:1 p/v.

Prima di procedere alla produzione di malto, è stata valutata l'attitudine alla maltazione delle due varietà di monococco (Tab. 2).

Tabella 2. Valutazione dell'attitudine alla maltazione delle due varietà di monococco

	HAMMURABI	NORBERTO
CAPACITA' GERMINATIVA (%)	92	96
PESO 1000 SEMI (g)	33,4	23,8
PESO ETTOLITRICO (Kg/hL)	79,4	80,1
AMIDO (%)	54,9	51,9
PROTEINE (%)	19,3	19,9

La capacità germinativa è un parametro fondamentale per la maltazione e viene considerata ottima quando raggiunge valori superiori a 96%. La varietà Hammurabi ha mostrato una minore capacità germinativa rispetto a Norberto, dovuta alla sua caratteristica di presentare un seme nudo alla trebbiatura che ne peggiora la germinabilità rispetto alle varietà vestite. Il peso 1000 semi ed il peso ettolitrico sono importanti parametri che influenzano la qualità del malto e della birra. Infatti, semi più grandi, con maggiore quantità di endosperma, presentano maggiori quantità di amido e conseguentemente una maggiore resa in malto (Fox *et al.*, 2003). Entrambe le varietà di monococco hanno mostrato buoni valori di peso 1000 semi e di peso ettolitrico, sebbene la varietà Hammurabi abbia mostrato semi più grandi rispetto alla varietà Norberto. Nei cereali utilizzati per la produzione di malto da birra, un eccessivo contenuto proteico (> 12%) si riflette in una riduzione della quantità di amido nell'endosperma e conseguentemente dell'estratto disponibile. Inoltre, un elevato contenuto proteico provoca problemi nella filtrazione del mosto e torbidità nella birra (Fox e Bettenhausen, 2023). Entrambe le varietà di monococco hanno mostrato un contenuto proteico molto elevato (> 19%), suggerendo per la produzione della birra di monococco l'adozione di alcune strategie, come l'utilizzo di proteasi esogene o una pausa proteica più lunga durante l'ammostamento. Sul malto delle due varietà è stata valutata l'attività amilasica e confrontata con quella dell'orzo (Fig. 2). Entrambe le varietà hanno mostrato un'attività della β -amilasi simile a quella dell'orzo (Hammurabi=11,3 B3U/g; Norberto=9,9 B3U/g; orzo=9,7 B3U/g), mentre l'attività della α -amilasi, che nell'orzo era pari a 194 CU/g, è risultata significativamente ridotta in Hammurabi (9,6 CU/g) rispetto a Norberto (45 CU/g). Inoltre, entrambe le varietà hanno mostrato buoni valori di *malting loss*, pari a 9% in Hammurabi e 6,5% in Norberto. Il grano monococco rappresenta pertanto un'importante risorsa, capace di conciliare innovazione e tradizione, promuovere la biodiversità e la sostenibilità vegetale e alimentare, offrendo al tempo stesso un'opportunità di reddito alternativo per i produttori e trasformatori locali.

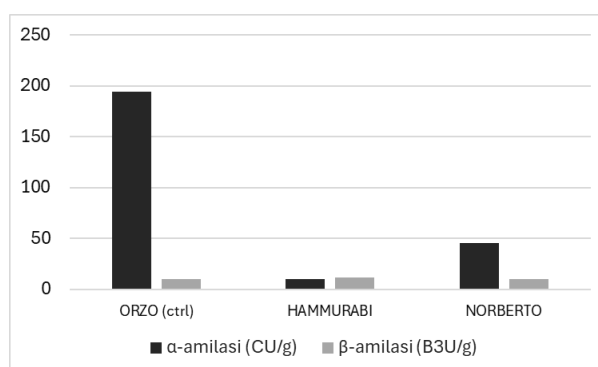


Figura 2. Attività α - e β -amilasica delle varietà Norberto e Hammurabi

La coltivazione e la trasformazione di questo antico cereale può infatti rappresentare un interessante sviluppo futuro per la creazione di micro-filiere di produzione ad alto valore aggiunto, strettamente legate al territorio di origine delle materie prime agricole. Entrambe le varietà di monococco studiate (Hammurabi e Norberto) si sono dimostrate idonee alla trasformazione in diverse tipologie di prodotti, tra cui il malto da birra e il cous cous. La presente ricerca ha evidenziato le potenzialità del monococco nell' inserirsi in un mercato in continua crescita come quello brassicolo e quello degli alimenti funzionali.

Bibliografia

- AACC 2013. *American Association of Cereal Chemists. Approved Methods of Analysis*, 08-01.01 Ash; St. Paul, MN, USA, 2013
- AOAC 1995. *Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis* 991, 16th ed.; Cunniff, P., Ed.; Gaithersburg, MD, USA, p. 42
- Fox G.P., Bettenhausen H.M. 2023. Variation in quality of grains used in malting and brewing. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1172028.
- Fox G.P., Panozzo J.F., Li C.D., Lance R.C.M., Inkerman P.A., Henry R.J. 2003. Molecular basis of barley quality. *Australian Journal of Agricultural Research*, 54: 1081-1101
- Gazza L., Hidalgo A., Brandolini A. 2023. A high protein ancient wheat species: Einkorn. *Journal of Cereal Science*, 103790.
- ICC 2003. *International Association for Cereal Science and Technology*, Standard Methods No. 105/2; Vienna, Austria.
- ISO 2009. *International Organization for Standardization. Determination of Bulk Density, Called Mass per Hectolitre-Part 1: Reference Method; Method 7971-1:2009*; ISO: Geneva, Switzerland.
- ISO 2010. *International Organization for Standardization. Cereals and Pulses-Determination of the Mass of 1000 Grains; Method 520:2010*; ISO: Geneva, Switzerland
- ISO 520:2010 e ISO 7971-1:2009; *International Organization for Standardization (ISO)*: Geneva, Switzerland, 2010; p.8 e p.10.
- Martini D., Taddei F., Nicoletti I., Ciccoritti R., Corradini D., D'Egidio M.G. 2014. Effects of genotype and environment on phenolic acids content and total antioxidant capacity in durum wheat. *Cereal Chemistry*, 91: 310-317.

Il progetto SOUL “Innovazione nella filiera del sorgo ad uso alimentare nel Lazio: sostenibilità, coltivazione, trasformazione e recupero funzionale degli scarti di trasformazione”

F. Taddei¹, L. Gazza¹, F. Nocente¹, E. Galassi¹, C. Natale^{1,2}, P. Cacciatori¹, A. Belocchi¹, V. Mazzon¹, M. Pagano³, D. Ceccarelli⁴, R. Ciorba⁴, R. Ciccoritti⁴

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Via Manziana 30 00189 Roma (RM).

²Università di Roma Campus Bio-Medico, Via Álvaro del Portillo 21, 00128 Roma (RM).

³Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Ingegneria e Trasformazioni agroalimentari, Via della Pascolare 16, 00015 Monterotondo (RM).

⁴Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Olivicoltura, Frutticoltura e Agrumicoltura, Via di Fioranello 52, 00134 Roma (RM).

*E-mail: federica.taddei@crea.gov.it

Abstract

The SOUL project has as its main objective the creation and experimentation in the Lazio region of a sorghum supply chain for human consumption. The choice of this crop lies in its hardiness, which makes it particularly suitable for the recovery of marginal areas and resilient to water stress. Its good content of nutrients and bioactive compounds also makes it particularly interesting from a nutritional point of view. The project is structured into 6 activities and includes, in addition to the coordination carried out by the lead partner CREA, the cultivation of sorghum under organic and conventional management, the characterization of the grain, the optimization of grain processing processes, the development of a production and management model for the circular supply chain, and outreach activities aimed at raising awareness of the potential of this cereal. Sorghum crop residues (stalks) may be classified as by-products, and there is a growing interest in investigating innovative approaches for their utilization and valorization.

Riassunto

Il progetto SOUL ha come obiettivo principale la creazione e la sperimentazione nell'areale laziale di una filiera del sorgo per l'alimentazione umana. La scelta di questa coltura risiede sia nella sua rusticità, che la rende particolarmente idonea per il recupero di aree marginali e resiliente allo stress idrico, sia nel buon contenuto di nutrienti e composti bioattivi, interessanti dal punto di vista nutrizionale e nutraceutico. Il progetto è articolato in 6 attività principali che prevedono, oltre al coordinamento effettuato dal capofila CREA, prove di coltivazione del sorgo in regime convenzionale e biologico, l'ottimizzazione dei processi di trasformazione della granella, la caratterizzazione biochimica delle produzioni e dei prodotti, lo sviluppo di un modello di produzione e gestione circolare della filiera, la divulgazione, diffusione e valorizzazione dei risultati del progetto volte alla valorizzazione delle potenzialità di questo cereale. Gli scarti di produzione del sorgo (stocchi) possono essere considerati un sottoprodotto e c'è un generale interesse nel trovare modi innovativi per valorizzarli.

Introduzione

Gli effetti del cambiamento climatico (aumento delle temperature, distribuzione disomogenea delle piogge e aumento di eventi meteorologici estremi) in agricoltura stanno influenzando significativamente le rese incidendo di fatto sulla possibilità di accesso al cibo da parte della

popolazione mondiale. Il settore cerealicolo è particolarmente esposto a tale problematica soprattutto per quanto riguarda le colture primaverili-estive.

Il sorgo (Fig. 1), è una pianta a ciclo fotosintetico C₄ come il mais ma grazie alla sua morfologia caratterizzata da stomi più piccoli e più numerosi, cuticola fogliare cerosa, apparato radicale molto sviluppato, riesce ad utilizzare in maniera più efficiente l'acqua, risultando così più resistente alla siccità. Inoltre, è in grado di sopportare bassi potenziali idrici grazie alla capacità di chiudere le aperture stomatiche e di entrare in stasi vegetativa durante il periodo di stress idrico. Questa specie potrebbe rappresentare una concreta alternativa ad altre colture primaverili-estive, quali il mais, negli ambienti pedoclimatici più difficili, consentendo di raggiungere il duplice obiettivo della tolleranza agli stress abiotici e della sostenibilità ambientale. In generale, il sorgo necessita minori input e si presta alla coltivazione sia in regime convenzionale che biologico. Da un punto di vista nutrizionale, può essere considerato comparabile ad altre specie di cereali, soprattutto per quanto riguarda il profilo amminoacidico, il contenuto in amido, proteine, vitamine, zinco, ferro, acidi grassi, magnesio e composti bioattivi (Kaur *et al.*, 2014). Il sorgo rappresenta l'alimento base per una buona parte delle popolazioni che vivono negli ambienti semi-aridi delle zone tropicali (Kulamarya *et al.*, 2009). Sebbene nei paesi occidentali sia principalmente destinato all'alimentazione animale e alla produzione di bioetanolo, negli ultimi anni è aumentato il suo interesse per l'alimentazione umana grazie alle sue caratteristiche nutrizionali e al fatto che risulta essere privo di glutine e per questo utilizzabile da persone affette da celiachia o da intolleranza al glutine (Del Giudice *et al.*, 2008).



Figura 1. Panicoli di sorgo

Il progetto SOUL “Innovazione nella filiera del sorgo ad uso alimentare nel Lazio: sostenibilità, coltivazione, trasformazione e recupero funzionale degli scarti di trasformazione” (Fig. 2), finanziato dalla Regione Lazio nell’ambito dei Piani di Sviluppo Rurale 2014-2020 (misura 16, sottomisura 16.2), articolato in 6 azioni (Fig.3), si prefigge lo scopo di sviluppare una filiera regionale del sorgo ad uso alimentare, al fine di porre le basi per il miglioramento della competitività dei produttori agricoli del Lazio. Il progetto è stato ideato tenendo conto delle strategie internazionali, come l’Agenda 2030 per lo sviluppo sostenibile, il Quadro strategico 2022-31 della FAO e il Green Deal europeo, che mirano ad ottenere sistemi agroalimentari più efficienti e sostenibili. Il recupero dei residui delle attività agricole è una strategia vincente per ridurre i costi ambientali della loro gestione e per favorire l'economia circolare (Assirelli *et al.*, 2020). Pertanto, è previsto anche lo studio per il recupero e il riutilizzo dei sottoprodotti

ottimizzando processi di *green extraction*, al fine di ottenere estratti titolati dagli scarti dell'intera filiera da poter utilizzare come materia prima in nuovi processi produttivi. Ulteriori prove riguarderanno il possibile impiego degli scarti per fini energetici e produzione di ammendanti.



Figura 2. Logo del progetto SOUL

Materiali e metodi

Il progetto è articolato in 6 attività (Fig. 3) e diverse sub attività che coinvolgono gli attori del Gruppo operativo costituito oltre che dal capofila CREA, anche da sei aziende agricole e tre di trasformazione. L'azione di coordinamento del progetto da parte del CREA ha come obiettivo principale quello di armonizzare le attività progettuali tra i diversi partner e di predisporre la documentazione tecnica e finanziaria alla Regione secondo le tempistiche e le forme previste. Le prove di coltivazione del sorgo verranno realizzate nelle aziende agricole partner oltre che nei campi sperimentali del CREA, al fine di valutare l'effetto della gestione agronomica (conduzione in regime convenzionale e biologico) e delle condizioni pedoclimatiche sulla *performance* delle cultivar riguardo i principali parametri agronomici e merceologici delle produzioni.

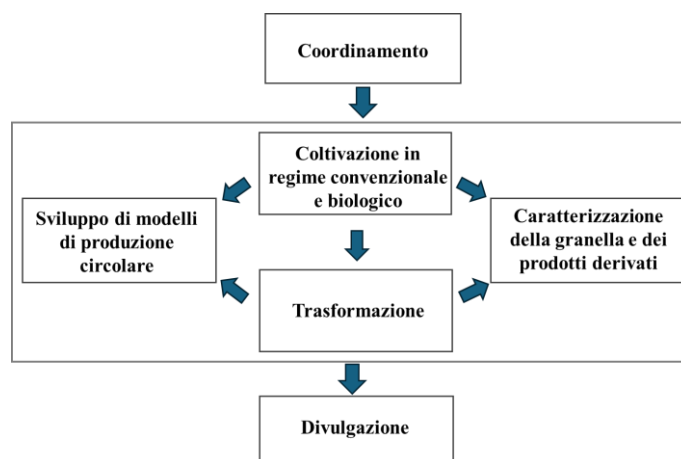


Figura 3. Attività previste nel progetto SOUL

L'ottimizzazione del processo di trasformazione primaria delle cariossidi, mediante l'utilizzo di impianti pilota innovativi, costituiti da decorticatori, micronizzatori e turboseparatori, e tradizionali, quali il mulino a pietra, si prefigge lo scopo di ottenere sfarinati di sorgo ad alto potenziale nutrizionale e nutraceutico da destinare alla trasformazione secondaria atta alla produzione di pasta, prodotti da forno e bevande fermentate (Fig. 4).



Figura 4. Prodotti della trasformazione che si svilupperanno nell'ambito del progetto regionale SOUL

La generazione di sottoprodotti, insita nei processi di produzione, verrà affrontata nell'ambito del presente progetto mediante l'applicazione di modelli di produzione circolare per il recupero di molecole bioattive da destinarsi ad altri cicli produttivi o all'utilizzo degli stessi per fini energetici o per la produzione di ammendanti. La peculiare composizione biochimica dei sottoprodotti dell'intera filiera di produzione, particolarmente ricchi in composti bioattivi e carboidrati complessi, rende quest'ultimi un'interessante fonte di sostanze fenoliche nonché materia prima seconda idonea per la produzione di ammendanti o alla cogenerazione di energia. In tal senso, verranno fornite indicazioni inerenti al potenziale riutilizzo dei sottoprodotti (Fig. 5) derivanti dalla coltivazione e trasformazione al fine di incrementare ulteriormente la redditività della coltura. L'ampliamento dell'offerta alimentare attraverso la diversificazione dei prodotti (sfarinati, alimenti e bevande) (Fig. 4) è di particolare importanza anche per la produzione di cibo a base di cereali senza glutine. Le azioni finora descritte verranno affiancate dalle caratterizzazioni dal punto di vista biochimico, chimico, nutrizionale e tecnologico della granella, dei prodotti derivati dal processo di trasformazione e dei relativi sottoprodotti. Infine, i risultati ottenuti saranno oggetto di divulgazione (Fig. 3), diffusione e valorizzazione attraverso la realizzazione di eventi partecipativi, di pubblicazioni a carattere tecnico e scientifico e la creazione di un database *open source*.

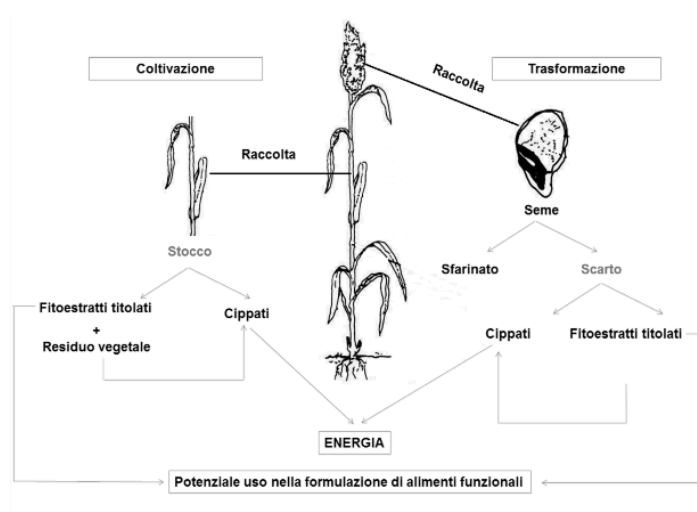


Figura 5. Riutilizzo degli scarti di produzione

Risultati e discussione

Il sorgo è una coltura che esige ridotti consumi idrici (2000-3000 m³/ha di acqua per ciclo produttivo, rispetto a 4000-5000 m³/ha del mais) e la sua maggior resilienza agli stress abiotici, compresi quelli derivanti dal cambiamento climatico, lo rendono una valida alternativa ad altre colture primaverili-estive. Il progetto pilota SOUL si prefigge l'obiettivo di creare una filiera del sorgo per alimentazione umana nel contesto agricolo regionale laziale. Con la realizzazione di tale filiera si intende favorire la diversificazione delle produzioni aziendali regionali, ampliare l'offerta dei prodotti trasformati e fornire un sostegno concreto alla composizione del reddito agricolo regionale.

Gli studi finora condotti nell'ambito del progetto SOUL hanno evidenziato che la coltivazione del sorgo incide in misura minore rispetto alla maiscoltura sul riscaldamento globale, sull'impovertimento delle risorse e sull'eutrofizzazione delle acque; i risultati raggiunti, seppur preliminari, indicano variazioni percentuali significative nei confronti del riscaldamento globale (-19%) e dell'eutrofizzazione (-18%). Dal punto di vista agronomico, le cultivar "Artista" e "Arabesk" utilizzate nelle prove di coltivazione del progetto hanno mostrato interessanti risultati in termini di produttività (con rese di circa 4 t/ha), di qualità della granella (peso ettolitrico pari a 72,2 kg/hl) e di contenuto proteico (13,5 g/100g ss).

Infine, le analisi merceologiche preliminari eseguite sulle cariossidi hanno evidenziato un buon contenuto in fibre, carboidrati e composti bioattivi, mostrando un contenuto medio di amido di 72 g/100g s.s., di fibra totale di 10 g/100g s.s. e un livello medio di capacità antiossidante pari a 33 mmol TEAC/kg, in accordo con quanto descritto da Galassi *et al.* (2008).

Ringraziamenti

Si ringraziano Loriana Sereni, Ferdinando Sereni, Roberto Mortaro, Alessandra Arcangeli, Ester Gosparini, Viviana Del Fate, Cristina Cecchini e Federico Malagesi, Roberto Tomasone, Carla Cedrola del CREA IT di Roma, per il supporto tecnico nella realizzazione delle attività.

Bibliografia

- Assirelli A., Beni C., Pagano, M. Cedrola C., Tomasone R., Santangelo E. 2008 Residues from mechanized nut harvesting: Preliminary tests to valorize walnut husks for biochar production and possible use as soil amendment. European Biomass Conference and Exhibition Proceedings, pp. 132-136.
- Del Giudice F., Massardo D.R., Pontieri P., Maddaluno L., De Vita P., Fares C., Ciacci C., Del Giudice L. 2008. Development of a sorghum chain in the Italian Campania Region: from the field to the celiac patient's table. *Journal of Plant Interactions*, 3: 49-55.
- Galassi E., Taddei F., Ciccoritti R., Nocente F., Gazza L. 2020. Biochemical and technological characterization of two C4 gluten-free cereals: Sorghum bicolor and Eragrostis tef. *Cereal Chemistry*, 97(1): 65-73.
- Kaur K. D., Jha A., Sabikhi L., Singh A. K. 2014. Significance of coarse cereals in health and nutrition: A review. *Journal of Food Science & Technology*, 51: 1429-1441.
- Kulamarva A. G., Venkatesh R. S., Raghavan V. G.S. 2009. Nutritional and Rheological Properties of Sorghum. *International Journal of Food Properties*, 12: 55-69.
- Taddei F., Gazza L., Nocente F., Quaranta F., Ciccoritti F. 2021. Lazio, Innovazione e sostenibilità nella filiera del sorgo ad uso alimentare: il progetto SOUL. *Pianeta PSR* <https://www.pianetapsr.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/2498>

Effetto dei processi di estrusione di farine di mais per la produzione di snack e pasta sul contenuto di fumonisine libere e coniugate e delle principali micotossine normate ed emergenti in farine di mais

V. Scarpino, F. Vanara, M. Blandino*

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DISAFA), Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO).

*E-mail: francesca.vanara@unito.it

Abstract

In recent decades, maize has been widely used in gluten-free formulations. However, maize is often contaminated with fumonisins (FBs), as well as other major and emerging mycotoxins, such as deoxynivalenol (DON), deoxynivalenol-3-glucoside (DON-3-G), moniliformin (MON), and aflatoxins. Such contamination can be modulated along the transformation process starting from the raw materials up to the end product. In fact, the results obtained have highlighted how the transformation process and the interaction with the characteristics of the flours used (type of starch, particle size) play a fundamental role in determining the total content of these mycotoxins in maize-based products, sometimes promoting their conjugation to the food matrix at the expense of free forms, as in the case of fumonisins.

Riassunto

Negli ultimi decenni, il mais è stato ampiamente utilizzato nelle formulazioni gluten-free. Tuttavia, il mais è spesso contaminato dalle fumonisine (FBs), nonché da altre micotossine principali ed emergenti, quali il deossinivalenolo (DON), il deossinivalenolo-3-glucoside (DON-3-G), la moniliformina (MON) e le aflatossine. Tale contaminazione può essere modulata lungo il processo di trasformazione a partire dalle materie prime fino al prodotto finito. Infatti, i risultati ottenuti hanno evidenziato come il processo di trasformazione e l'interazione con le caratteristiche delle farine utilizzate (tipologia di amido, granulometria) eserciti un ruolo fondamentale nel determinare il contenuto totale di queste micotossine nei prodotti a base di mais, a volte promuovendo la loro coniugazione alla matrice alimentare a scapito delle forme libere, come nel caso delle fumonisine.

Introduzione

Il mais è un cereale estremamente suscettibile alle infezioni fungine, che possono causare problemi di co-contaminazione da diverse micotossine. Tale contaminazione che parte dalla sua coltivazione in campo si ripercuote lungo la filiera attraverso le diverse fasi del processo di trasformazione a cui sono sottoposti gli sfarinati di mais.

A porre l'accento sulla rilevanza del problema delle micotossine per la salute pubblica, ed in particolar modo per quei gruppi di popolazione più vulnerabili, l'Unione Europea attraverso il Reg. (UE) 1886/2006 e le successive modifiche Reg. (UE) 1126/2007 e Reg. (UE) 2023/915 ha regolamentato i tenori massimi negli alimenti per alcune di esse (ad es. FBs e DON) imponendo dei limiti. Tuttavia, nella normativa attuale vi è un *gap*, cioè la mancata considerazione e regolamentazione delle forme modificate di alcune micotossine, che in opportune condizioni si vengono a formare, e di altri metaboliti fungini, i quali, possono avere un effetto cumulativo in una determinata matrice alimentare, aumentandone il rischio intrinseco per la salute del consumatore.

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare diverse tipologie di materia prima sottoposte a processi di estrusione-cottura e la loro interazione rispetto alla concentrazione delle forme libere e coniugate di fumonisine e delle principali micotossine normate ed emergenti.

Materiali e metodi

La prova ha previsto un confronto fattoriale di 5 tipologie di ibridi di mais per la composizione dell'amido (convenzionale, alto amiloso, waxy e le loro miscele 50% - 50%), due granulometrie delle farine (fioretto, 250 – 500 µm e fumetto, < 250µm) e 2 processi tecnologici (estrusione-cottura a secco, per la produzione di snack ed estrusione ad umido, per la produzione di pasta). Per la pasta sono stati valutati il prodotto finale crudo e cotto in acqua. Gli ibridi usati nella sperimentazione sono stati caratterizzati per il contenuto di amiloso e di amilopectina, nella farina fioretto e fumetto sono riportate in Tab. 1.

Tabella 1. Analisi della ripartizione percentuale tra amiloso e amilopectina nelle farine per gli ibridi utilizzati per la produzione di snack e pasta di mais.

<i>Granulometria</i>	<i>Ibrido</i>	<i>Amiloso (%)</i>	<i>Amilopectina (%)</i>
Farina fioretto	<i>Convenzionale</i>	18	82
	<i>Waxy</i>	2	98
	<i>Alto amiloso</i>	42	58
Farina fumetto	<i>Convenzionale</i>	18	82
	<i>Waxy</i>	2	98
	<i>Alto amiloso</i>	41	59

Le farine e i prodotti estrusi sono stati analizzati attraverso un metodo multi-micotossina HPLC-ESI-TQ-MS/MS (Scarpino et al., 2019; Scarpino et al., 2024), che ha previsto l'adozione di procedure estrattive differenziate per permettere l'estrazione delle due forme, libere e coniugate, di fumonisine.

Risultati e discussione

Le materie prime si sono differenziate per il contenuto di tutte le micotossine rilevate, evidenziando una maggiore suscettibilità dell'ibrido waxy rispetto all'ibrido convenzionale (Tab.2).

Tabella 2. Contenuto di micotossine nelle farine degli ibridi utilizzati per la produzione di snack e pasta di mais.

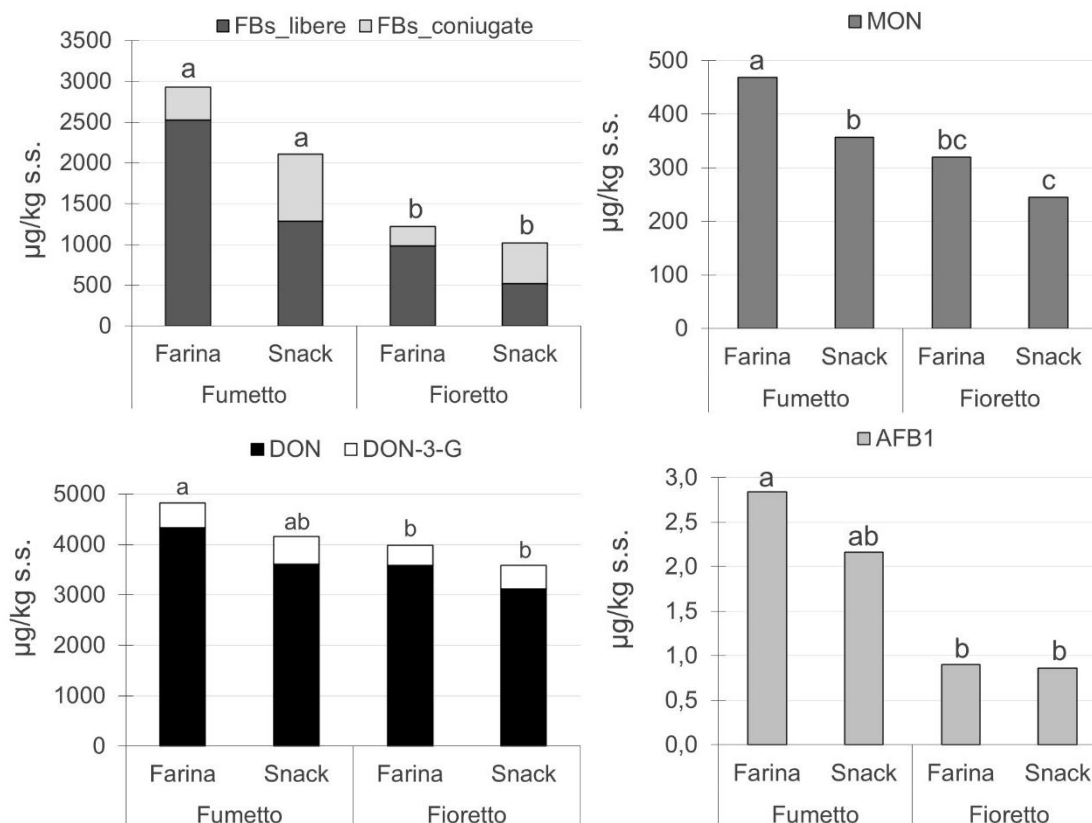
<i>Granulometria</i>	<i>Ibrido</i>	<i>MON</i>	<i>DON_{tot}</i>	<i>AFB1</i>	<i>FB_{tot}</i>
Farina fioretto	<i>Convenzionale</i>	293 <i>c</i>	3115 <i>e</i>	0.90 <i>b</i>	981 <i>d</i>
	<i>Waxy</i>	472 <i>b</i>	5491 <i>b</i>	0.90 <i>b</i>	1707 <i>c</i>
	<i>Alto amiloso</i>	203 <i>d</i>	3751 <i>d</i>	0.90 <i>b</i>	1074 <i>d</i>
Farina fumetto	<i>Convenzionale</i>	435 <i>b</i>	4052 <i>d</i>	0.91 <i>b</i>	1828 <i>c</i>
	<i>Waxy</i>	668 <i>a</i>	6243 <i>a</i>	7.88 <i>a</i>	5880 <i>a</i>
	<i>Alto amiloso</i>	285 <i>c</i>	4593 <i>c</i>	0.92 <i>b</i>	1971 <i>b</i>

MON: moniliformina; DON_{tot}: deossinivalenolo + deossinivalenolo-3-glucoside; AFB1: aflatossina B1; FB_{tot}: fumonisine (FB1+FB2) libere + fumonisine (FB1+FB2) coniugate. Le medie seguite da lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per $p (F) < 0.05$.

La presenza di un contenuto elevato di amilopectina degli ibridi waxy induce una minore velocità di dry down che fa sì che vengano mantenute le condizioni favorevoli per la colonizzazione e la crescita dei funghi per tempi più prolungati. Inoltre, come è riportato in letteratura, l'alto contenuto di amilopectina induce *F. verticillioides* alla produzione di fumonisine durante la colonizzazione delle cariossidi di mais, influenzandone l'espressione dei

geni coinvolti nella biosintesi delle FBs (Santiago et al., 2015; Bluhm e Woloshuk, 2005; Vanara et al., 2018).

Prendendo in considerazione la granulometria delle materie prime, il fumetto è risultato essere significativamente più contaminato del fioretto per tutte le micotossine rilevate, sia nelle materie prime sia negli snack (Fig. 1).



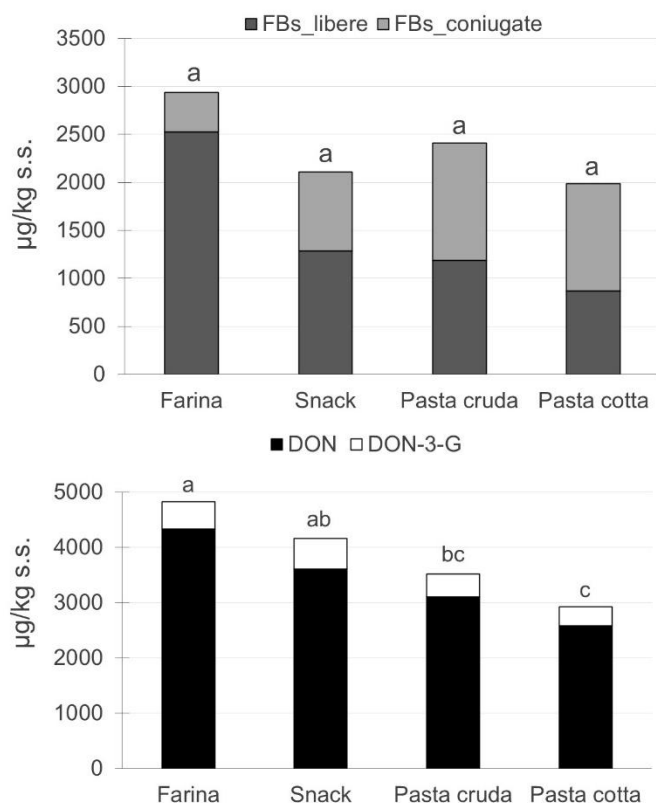
FBs_libere: fumonisine (FB1+FB2) libere; FBs_coniugate: fumonisine (FB1+FB2) coniugate; DON: deossinivalenolo; DON-3-G: deossinivalenolo-3-glucoside; MON: moniliformina; AFB1: aflatossina B1. Medie di 5 tipologie di ibridi. Le medie seguite da lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per $p(F) < 0.05$.

Figura 1. Effetto della granulometria delle farine sulla contaminazione da micotossine principali ed emergenti nella produzione degli snack.

Le FBs coniugate sono state quantificate già nelle materie prime non trasformate ed hanno interessato il 19% in media delle fumonisine totali.

I due processi di estrusione hanno influenzato in modo differente il contenuto di micotossine presenti nelle matrici. Il processo di estrusione a secco per la produzione di snack ha agito in modo più efficace nel ridurre il contenuto delle FBs totali (libere+coniugate: 27% vs 10%) e libere (50% vs 48%), e di MON (24% vs 18%) rispetto a quello per la produzione della pasta, ad eccezione del DON (15% vs 22%) (Fig. 2). Quest'ultimo processo, tuttavia, ha presentato un maggiore fenomeno di mascheramento delle tossine, determinando nella pasta cruda un contenuto di FBs coniugate 2.1 volte superiore rispetto a quello osservato negli snack (Fig. 2). Il contenuto di DON-3-G è invece aumentato (+14%) nel processo di estrusione-cottura a secco e ridotto (-7%) in quello di estrusione a umido (Fig. 2).

L'azione della cottura della pasta ha portato ad una riduzione del contenuto di FBs libere del 26% nella pasta, mentre le forme coniugate non sono state influenzate. Analogamente, tutte le altre micotossine rilevate hanno subito una riduzione durante la cottura: MON (-64%), DON (-22%), DON-3-G (-7%) e aflatossina B1 (-7%) (Fig. 2).



FBs_libere: fumonisine (FB1+FB2) libere; FBs_coniugate: fumonisine (FB1+FB2) coniugate; DON: deossinivalenolo; DON-3-G: deossinivalenolo-3-glucoside. Medie di 5 tipologie di ibridi. Le medie seguite da lettere differenti indicano differenze statisticamente significative per $p (F) < 0.05$.

Figura 2. Effetto dei processi di estrusione-cottura della farina fumetto sulla coniugazione delle micotossine.

Dai risultati si evidenzia che le fumonisine modificate sono già presenti nelle materie prime, ma il loro contenuto aumenta considerevolmente durante i processi di estrusione. Questo aumento delle forme coniugate, può aumentare l'esposizione dei consumatori alle fumonisine, per cui occorre tener conto anche del rischio dovuto alla co-contaminazione di diverse micotossine.

Ringraziamenti

Progetto finanziato dalla Regione Piemonte (POR FESR 2014-2020) nell'ambito del progetto EXFREE.

Bibliografia

Bluhm B. H., Woloshuk C. P. 2005. Amylopectin induces fumonisin B₁ production by *Fusarium verticillioides* during colonization of maize kernels. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 18(12): 1333-1339.

Regolamento (CE) N. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*, L 364/5.

Regolamento (CE) N. 1126/2007 della Commissione del 28 settembre 2007 che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari per quanto riguarda le Fusarium-tossine nel granoturco e nei prodotti a base di granoturco. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*, L 255/14.

Regolamento (UE) 2023/915 della commissione del 25 aprile 2023 relativo ai tenori massimi di alcuni contaminanti negli alimenti e che abroga il regolamento (CE) n. 1881/2006. *Gazzetta ufficiale dell'Unione europea*, L 119/103.

Santiago R., Cao A., Butrón A. 2015. Genetic factors involved in fumonisin accumulation in maize kernels and their implications in maize agronomic management and breeding. *Toxins*, 7(8): 3267-3296.

Scarpino V., Reyneri A., Blandino M. 2019. Development and Comparison of Two Multiresidue Methods for the Determination of 17 *Aspergillus* and *Fusarium* Mycotoxins in Cereals Using HPLC-ESI-TQ-MS/MS. *Frontiers in Microbiology*, 10: 1-12.

Scarpino V., Bresciani A., Blandino M. 2024. The effects of the extrusion process used for the production of maize snacks and pasta on the free, bound, and total B fumonisin contents. *LWT - Food Science and Technology*, 198: 115977.

Vanara F., Scarpino V., Blandino M. 2018. Fumonisin distribution in Maize dry-milling products and by-products: Impact of two industrial degermination systems. *Toxins*, 10(9): 357-372.

Grani storici lombardi: germoplasma da caratterizzare e da valorizzare

V. Pozzi^{1*}, F. Sansoni¹, L. Sena^{1,2}, P. Vaccino¹

¹Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Strada Statale 11 per Torino km 2,5, 13100 Vercelli (VC).

²Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia (STEBA), Via Amendola 2, 42122 Reggio Emilia (RE).

*E-mail: patrizia.vaccino@crea.gov.it

Abstract

Bread wheat (*Triticum aestivum*) is the most widely cultivated cereal in the world. In Italy, in 2023, production reached 3.081 million tons on a cultivated area of 598,000 ha (Istat). In the last twenty years, there has been a gradual increase in interest towards historical varieties, cultivated in the beginning of the XX century, before the green revolution, with the aim of creating supply chains with strong territorial value consisting of organic farming techniques, stone milling, and bread making. In the Transfer project, funded by Regione Lombardia, 40 accessions of bread wheat historically cultivated in Lombardy from the late 19th and the early 20th century, selected from the germplasm bank collection of CREA-CI in Vercelli, were analysed for their agronomic and qualitative traits. The most important agronomic traits were recorded (heading date, flowering date, plant height, lodging, and susceptibility to the most common fungal diseases). After harvesting, the material was characterized for protein content and kernel hardness using NIR spectroscopy, for sedimentation volume in SDS, and for α -amylase activity using the Hagberg test. Preliminary results allowed the identification of some interesting genotypes, both for agronomic and qualitative characteristics.

Riassunto

Il frumento tenero (*Triticum aestivum*) è il cereale più coltivato a livello mondiale. In Italia, nel 2023, la produzione si è attestata a 3.081 milioni di tonnellate su una superficie coltivata di 598.000 ettari. Negli ultimi venti anni si è assistito ad un graduale aumento dell'interesse verso le varietà "antiche" (più propriamente "storiche"), risalenti all'inizio del secolo scorso, quindi antecedenti alla rivoluzione verde, con l'obiettivo di creare delle filiere a forte valenza territoriale costituite da agrotecnica biologica, macinazione a pietra e lavorazione artigianale degli impasti. La caratterizzazione di varietà storiche può essere importante per l'istituzione di una rigorosa filiera controllata. Nel contesto del progetto Transfer, finanziato dalla Regione Lombardia, 40 accessioni di frumento tenero storicamente coltivate in Lombardia dalla fine del XIX fino all'inizio del XX secolo, sono state selezionate dalla collezione della banca del germoplasma del CREA - Centro Cerealicoltura e Colture Industriali di Vercelli. Il materiale è stato caratterizzato per i parametri agronomici e per: contenuto proteico e tessitura (*hardness*) della cariosside mediante spettroscopia NIR, volume di sedimentazione in SDS e attività α -amilasica. I dati raccolti sono stati sottoposti ad analisi statistiche utilizzando il programma RStudio. I risultati preliminari hanno permesso l'identificazione di alcuni genotipi interessanti, sia per caratteristiche agronomiche che qualitative.

Introduzione

Il frumento tenero (*Triticum aestivum*) è uno dei cereali fondamentali nell'alimentazione umana in tutto il mondo. Si è assistito, negli ultimi anni, a un graduale aumento dell'interesse verso le

varietà “antiche” (più propriamente “storiche”), risalenti all’inizio del secolo scorso, quindi antecedenti alla rivoluzione verde, con l’obiettivo di creare delle filiere a forte valenza territoriale costituite da agrotecnica biologica, macinazione a pietra e lavorazione artigianale degli impasti. Al giorno d’oggi, non è presente una certificazione riguardante farine derivanti da queste varietà e al fine di istituire una filiera controllata è importante effettuare la caratterizzazione puntuale delle varietà. In tale contesto, il Progetto Transfer, finanziato da regione Lombardia, si prefigge la caratterizzazione e valorizzazione di varietà storiche di mais e frumento tenero lombardo. Il presente lavoro riporta i dati del primo anno di caratterizzazione delle linee di frumento prese in esame.

Materiali e metodi

Il materiale oggetto di studio è costituito da 40 accessioni di frumento tenero, comprendente popolazioni locali e varietà storiche, tradizionalmente coltivate in Lombardia a cavallo tra la fine del XIX e la metà del XX secolo chiamata Collezione ‘storico Lombarda’. Le linee sono state seminate nell’autunno 2022 in parcelle costituite da due file di 2 metri di lunghezza in 5 località differenti, Gaminara, Torrazza Coste e San Paolo nell’Oltrepò Pavese, Cigliano (VC) e Stezzano (BG). In campo, sono stati effettuati i rilievi dei principali tratti agronomici (data di spigatura, data di fioritura, altezza della pianta, allettamento e suscettibilità alle più comuni malattie fungine). Dopo la raccolta, sono stati acquisiti i tratti morfologici relativi alla spiga (Fig.1) (ad es. forma, lunghezza e colore) ed è stato determinato il peso dei mille semi. Aliquote di ogni accessione sono state macinate mediante Cyclotec (Foss) e lo sfarinato è stato caratterizzato mediante spettroscopia NIR, per contenuto proteico ($N \times 5.7$, sostanza secca, AACC 39-11) e tessitura della cariosside (AACC 39-70). In seguito, sono stati determinati il volume di sedimentazione in SDS, in accordo a Preston et al (1982) e l’attività α -amilasica (Test *Falling number*). I dati raccolti sono stati sottoposti ad analisi statistiche utilizzando Excel e il programma R Studio.



Figura 1. Immagine di spighe e granella di due varietà parte della collezione ‘storica lombarda’

Risultati e discussione

Nella Tabella 1 sono riportate, per alcuni parametri agronomici e qualitativi, le medie ottenute dalle varietà nelle 5 località e le medie di campo delle varie località.

Tabella 1. Valori medi per alcuni parametri agronomici e qualitativi nelle 5 località di sperimentazione

ID	Nome	Altezza delle piante (cm)	Susct. oidio (0-9)	Peso dei mille semi (g)	Contenuto proteico (% ss)	Volume di sedimentazione (mL)
TA00062	Ardito mutico	123	2	54.3	15.8	54
TA00059	Ardito	110	2	38.3	16.2	51
TA00087	Attilio Fabrini	120	2	38.2	15.7	37
TA00161	Brescia	86	2	43.5	14.4	54
TA00185	Cantore	138	2	50.2	15.9	45
TA00267	Damiano Chiesa	101	2	37.9	14.4	61
TA00271	Damiano Cremona	93	4	36.2	13.7	54
TA00276	Dante/1	117	2	40.9	14.6	49
TA00354	Fausto Sestini	104	3	43.9	16.5	54
TA00367	Fiume	142	4	48.8	16.2	44
TA00440	Gentil Bianco	123	2	49.1	14.4	51
TA00441	Gentil Rosso	139	4	50.0	15.8	51
TA00442	Gentil Rosso	144	3	55.3	15.4	58
TA00443	Gentil Rosso	143	3	47.5	16.0	56
TA00444	Gentil Rosso	144	2	54.8	15.2	61
TA00448	Gentil Rosso 13	124	2	44.1	14.7	49
TA00449	Gentil Rosso 160	147	2	44.1	16.3	56
TA00450	Gentil Rosso 4	140	2	49.1	15.5	60
TA00452	Gentil Rosso 48	133	2	49.4	14.1	39
TA00454	Gentil Rosso 58	144	1	55.8	16.5	62
TA00553	Italo Giglioli	106	5	41.5	15.7	61
TA00701	Mentana	119	2	45.0	14.3	48
TA00705	Mentana mutico/1	122	3	45.3	14.9	49
TA00739	Noè/A	133	2	45.4	17.3	47
TA00740	Noè/B	125	4	49.3	15.1	58
TA00755	O. 24	113	5	44.6	14.2	41
TA00835	Quaderna	127	4	46.3	13.7	52
TA00836	Quaderna	134	3	49.8	16.0	60
TA00909	Rosso Olona	142	3	50.0	15.2	47
TA00945	S. Michele	115	1	46.8	15.7	67
TA00958	Edda	105	3	49.1	17.2	47
TA00959	Edda/ 1	103	2	50.6	16.9	44
TA00960	Edda Sabina	103	2	47.9	16.5	51
TA01068	Strampelli Francesco	133	2	36.8	15.6	55
TA01088	Tevere	117	1	48.1	14.5	59
TA01091	Tevere basso	109	0	47.4	16.0	55
TA01198	Villa Glori	123	2	43.0	14.5	50
TA01199	Villa Glori	128	2	43.0	12.6	43

TA01217	Vittorio Veneto/ 1	131	3	40.2	14.1	50
TA01218	Vittorio Veneto/ 2	137	3	38.1	14.1	52
	Cigliano (VC)	111	3	47.2	13.9	48
	Gaminara (PV)	131	2	48.2	15.9	64
	Torrazza Coste (PV)	117	-	45.2	13.3	48
	San Paolo (PV)	135	2	43.5	14.8	50
	Stezzano (BG)	123	3	45.9	13.7	46

Per il parametro “altezza della pianta” si è riscontrato un valore minimo di 86 cm nella varietà Brescia e un valore massimo di 147 cm nella varietà Gentil rosso 160. L’altezza media delle accessioni oggetto di studio (123 cm) risulta più elevata rispetto all’altezza media registrata dalle varietà moderne coltivate nella stessa regione e nello stesso anno (84 cm; Vaccino, comunicazione personale). Per quanto riguarda la ‘susceptibilità all’oidio’, il range è variato da 0 (Tevere Basso) a 5 (Italo Giglioli e O.24). Il peso dei mille semi ha oscillato tra il minimo di 36.2 g nella varietà Damiano Cremona e il massimo di 55.8 g nella varietà Gentil rosso 58. Il contenuto proteico è variato da 12.6% (Villa Glori) a 17.3% (Noè/A). Il contenuto proteico medio delle accessioni oggetto di studio risulta essere del 15.3 %. Paragonato a quello medio registrato nelle varietà moderne coltivate nella stessa regione e nello stesso anno (13,9%, Vaccino, comunicazione personale), è risultato quindi maggiore di quasi due punti percentuali. Il volume di sedimentazione ha mostrato un range di variazione da 37 mL (Attilio Fabrini) a 67 mL (San Michele), con una media di 52 mL. Nonostante l’elevato contenuto proteico medio (15,3%), il valore del volume di sedimentazione è piuttosto basso. Tuttavia, questo risultato è atteso: è noto, infatti, che le varietà ‘storiche’ abbiano contenuti proteici elevati, ma forza del glutine scadente, dovuta principalmente alla componente genetica del glutine, in particolare alle glutenine ad alto peso molecolare, con prevalenza di subunità (es. 2+12 al locus *Glu-D1*) associate a scarsa tenacità.

Le condizioni pedo-climatiche hanno influenzato in modo evidente la *performance* delle varietà. Per tutti i parametri analizzati si è osservata una grande variabilità sia tra le diverse province sia tra i comuni adiacenti. A titolo di esempio il contenuto proteico medio registrato a Gaminara (15.9%) è risultato di un punto percentuale superiore rispetto a San Paolo (14.8%): le due località dell’Oltrepò Pavese sono separate da meno di 5 km. Considerando i risultati del primo anno di sperimentazione, sono emerse accessioni che risultano interessanti, in quanto adattabili ai differenti ambienti. Si attende di completare il secondo anno di sperimentazione per la conferma dei risultati e per effettuare l’Iscrizione all’Anagrafe Nazionale della Biodiversità per le varietà più importanti.

Ringraziamenti

Lo studio è stato finanziato dalla Regione Lombardia nell’ambito del Progetto TRANSFER Caratterizzazione e valorizzazione di varietà storiche di mais e frumento lombarde -Programma di sviluppo rurale 2014-2020, Operazione 10.2.01 “Conservazione della biodiversità animale e vegetale”.

Bibliografia

AACC 2000. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 10th ed. The Association, St Paul, MN

Preston K.R., March P.R., Tipples K.H. 1982. An assesment of SDS-sedimentation test for prediction of Canadian bread whear quality. *Canadian J. Plant Sci.*, 62: 545-553.

R.studio, version 4.3.1 (2023-06-16 ucrt)

[zwww.istat.it](http://www.istat.it)

Valorizzazione di antiche popolazioni siciliane di *Triticum*: valutazione qualitativa e nutrizionale di nuovi prodotti a base di cereali

F. Sciacca*, A. Zappalà, S. Licciardello, E. Li Puma, A. Leonardi, A. Pesce, M. Palumbo, N. Pecchioni, N. Virzì

Consiglio per la ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, Laboratorio di Acireale, Corso Savoia 190, 95024 Acireale (CT).

*E-mail: fabiola.sciacca@crea.gov.it

Abstract

As part of the project “IN.TE.GRA. - INnovazioni TEcnologiche GRani Antichi”, funded by the P.S.R. Sicilia 2014/20, a commercial, qualitative, and biochemical evaluation was conducted on four Sicilian populations of durum wheat (Timilia, Margherito, Russello, and Farro Lungo) and two of soft wheat (Romano and Maiorca). The project's goal was to identify those most suitable for developing new cereal-based products with high nutritional value, such as bulgur and flour blends suitable for making pizza dough. The results allowed the identification of Margherito as the durum wheat landrace with the highest protein content, making it, from a nutritional perspective, the most suitable for bulgur production. Among the tested blends, the combination of Timilia (70%) and Romano (30%) showed the highest gluten index, representing the best formulation for pizza dough preparation. To ensure traceability of the *Triticum* germplasm under study and to define the fingerprinting of individual accessions, a capillary electrophoresis analysis (SDS CE) was carried out, which enabled the determination of protein composition by studying glutenin subunits.

Riassunto

Nell'ambito del progetto “IN.TE.GRA. - INnovazioni TEcnologiche GRani Antichi”, finanziato dal P.S.R. Sicilia 2014/20, è stata condotta una valutazione merceologica, qualitativa e biochimica su quattro popolazioni siciliane di frumento duro (Timilia, Margherito, Russello e Farro Lungo) e due di frumento tenero (Romano e Maiorca). L'obiettivo del progetto era individuare quelle più adatte alla realizzazione di nuovi prodotti a base di cereali ad alto valore nutrizionale, come il *bulgur* e miscele di sfarinati idonee alla preparazione di panetti per pizza. I risultati ottenuti hanno permesso di identificare nel Margherito la *landrace* di frumento duro con il più alto contenuto proteico, risultando quindi la più idonea, da un punto di vista nutrizionale, per la produzione di *bulgur*. Tra le miscele testate, la combinazione di Timilia (70%) e Romano (30%) ha mostrato l'indice di glutine più elevato, rappresentando la migliore formulazione per la preparazione di panetti per pizza. Per la tracciabilità del germoplasma di *Triticum* in studio e la definizione del *fingerprinting* delle singole accessioni, è stata condotta un'analisi di elettroforesi capillare (SDS CE), che ha consentito la determinazione della composizione proteica, attraverso lo studio delle subunità gluteniniche.

Introduzione

La Sicilia rappresenta una delle poche aree dell'Europa meridionale in cui la coltivazione di antiche varietà locali di frumento duro e tenero è ancora diffusa. Negli ultimi decenni, tuttavia, la loro coltivazione era quasi scomparsa a causa dell'introduzione di varietà moderne più produttive. Recentemente, la riscoperta delle tradizioni alimentari locali, unita alle peculiari proprietà qualitative e organolettiche di queste varietà locali, ha suscitato un rinnovato interesse da parte dei consumatori (Sciacca *et al.*, 2023). Infatti, l'interesse crescente per gli alimenti funzionali è un fenomeno influenzato da vari fattori sociali, economici e culturali. Gli alimenti

funzionali sono definiti come quegli alimenti che, oltre a fornire nutrimento di base, offrono benefici per la salute e il benessere, contribuendo alla prevenzione di malattie. In questo contesto, il CREA - Centro di Ricerca per la Cerealicoltura e le Colture Industriali, sede di Acireale, ha continuato a coltivare e mantenere in collezione le *landraces* siciliane di *Triticum*, studiandone le caratteristiche morfologiche, biochimiche, qualitative e tecnologiche.

Materiali e metodi

Sulle cariossidi delle *landraces* di *Triticum* in studio, “Timilia”, “Margherito”, “Russello” e “Farro Lungo”, per quanto riguarda i frumenti duri e “Maiorca” e “Romano”, per i frumenti teneri, sono state condotte analisi per la determinazione dei parametri qualitativi e merceologici. In particolare, sono stati individuati: contenuto proteico e in glutine, umidità e peso ettolitrico (Infratec Grain Analyzer). Sulle miscele semola/farina, preparate al 50 e al 70% di integrazione, sono stati determinati: indici farinografici (Farinografo di Brabender metodo AACC n° 54-21), indici alveografici (Alveografo di Chopin metodo UNI n° 10453), indice di glutine (Sistema Glutomatic). Per la definizione del *fingerprinting* dei genotipi di *Triticum* in studio, è stata condotta una caratterizzazione delle proteine di riserva delle cariossidi, attraverso elettroforesi capillare (SDS CE - Sistema Capel 105). Per la comparazione dei *pattern* elettroforetici dei genotipi in studio con quelli di genotipi noti, sono state utilizzate varietà di frumenti duro e tenero, mantenuti e conservati presso la sede del CREA-CI di Acireale.

Risultati e discussioni

Tra le accessioni di frumento duro valutate per la produzione di *bulgur*, noto come "grano spezzato" e ricco di proprietà benefiche (Zappalà *et al.*, 2022), la *landrace* Margherito si è rivelata la più idonea dal punto di vista nutrizionale, grazie al suo contenuto proteico, il più elevato tra i genotipi considerati. (Tab. 1).

Tabella 1. Caratterizzazione qualitativa dei genotipi di *Triticum*

<i>Landraces</i>	Proteine (% s.s.)	Peso ettolitrico (Kg/hL)
Frumenti duri		
Russello	12,6	73,6
Margherito	16,9	74,8
Timilia	13,2	83,7
Perciasacchi	11,6	73,8
Frumenti teneri		
Maiorca	11,3	66,3
Romano	11,3	76,4

Gli sfarinati, derivati da un processo di macinazione dotato di una nuova tecnologia che ha consentito l’abbassamento della temperatura mediante l’impiego di un apposito prototipo, sono stati caratterizzati da un punto di vista tecnologico, per lo studio di formulazioni di panetti per pizza. La caratterizzazione tecnologica ha riguardato la valutazione delle proprietà viscoelastiche degli impasti, tramite la caratterizzazione delle proteine e del glutine e la determinazione dell’indice di glutine e degli indici farinografici, alveografici. Al fine di ottenere una ottimale formulazione di miscele composte da semola di frumento duro e farina di frumento tenero, da cui ricavare panetti per pizza, sono state testate due diverse percentuali di integrazione: al 50% e al 70% (70% semola e 30% farina). La miscela al 50% ottenuta dalla

combinazione Margherito/Romano ha fatto registrare il più alto valore di indice di glutine, pari a 47,46% (Fig. 1).

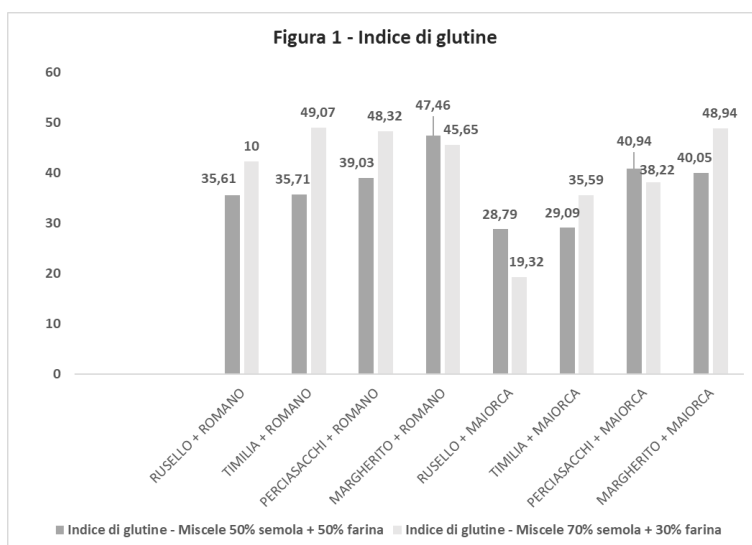


Figura 1. Indice di glutine delle miscele ottenute al 50 e al 70% di sostituzione.

Anche le combinazioni Perciasacchi/Maiorca e Margherito/Maiorca hanno mostrato, comunque, valori di indice di glutine elevati e quindi idonei alla trasformazione. Al contrario, la miscela Russello/Maiorca ha fatto registrare il valore più basso. Nella combinazione al 70% di frumento duro e 30 di frumento tenero, la miscela Timilia/Romano ha mostrato un alto valore di indice di glutine, pari a 49,07. Le miscele Margherito/Maiorca e Perciasacchi/Romano hanno riportato, comunque, valori di indice di glutine che denotano la loro attitudine alla trasformazione. Riguardo gli indici farinografici, la migliore qualità farinografica è stata registrata per le miscele Perciasacchi 70% + Romano 30% e Margherito 70% + Maiorca 30%, con un valore pari a 200. (Fig. 2).

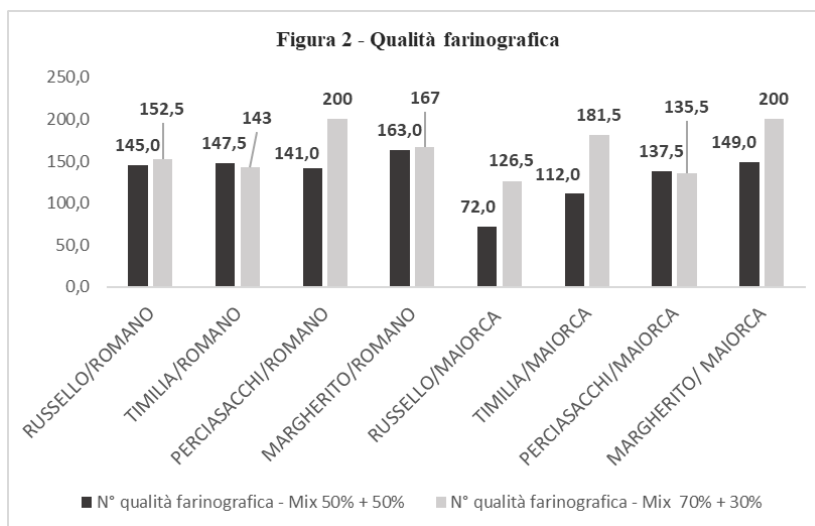


Figura 2. Qualità farinografica determinata sulle miscele con le due diverse percentuali di sostituzione.

Come è noto, la verifica dell'identità genetica dei genotipi di frumento viene effettuata tramite la determinazione delle subunità gluteniniche e gliadiniche, utilizzate come marcatori biochimici. Per definire il *fingerprinting* delle accessioni di *Triticum* oggetto di studio, è stata condotta una caratterizzazione delle proteine di riserva delle cariossidi mediante analisi di elettroforesi capillare (SDS CE). Le composizioni proteiche ottenute sono riportate nelle tabelle 2 e 3.

Tabella 2. Composizione proteica delle *landraces* di frumento duro

Frumenti duri	Cromosoma	Cromosoma	
	1 A APM	1 B APM BPM	
Margherito	N	20	2
Russello	N	13 + 16	1
Timilia	N	7+ 8	2
Perciasacchi	N	20	2

Tabella 3. Composizione proteica delle *landraces* di frumento tenero

Frumenti teneri	Cromosoma	Cromosoma	Cromosoma
	1 A APM	1 B APM	1 D APM
Maiorca	2*	20	2 + 12
Romano	2	17 + 18	2 + 12

Per ciascuna delle accessioni, è stato realizzato un elettroferogramma i cui picchi indicano le bande gluteniniche ad alto e a basso peso molecolare. In figura 3 viene riportato l'elettroferogramma della *landrace* di frumento tenero “Maiorca”.

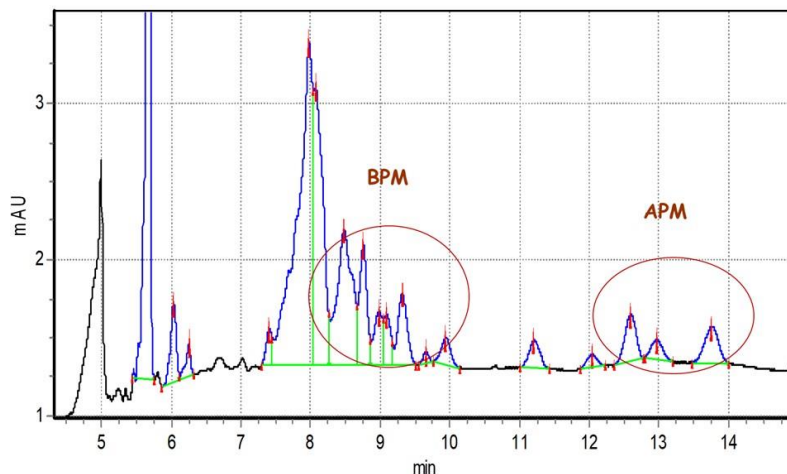


Figura 3. Elettroferogramma della *landrace* di frumento tenero “Maiorca”.

I risultati ottenuti dalla caratterizzazione effettuata hanno messo in evidenza la peculiarità della *landrace* Russello che presenta una composizione di glutenine ad alto peso molecolare (APM), di tipo “13 + 16”, non più riscontrabile nelle varietà di frumento duro di nuova costituzione. In conclusione, l'allineamento del processo produttivo con la crescente consapevolezza dei consumatori riguardo alla salute e al benessere ha portato a un aumento della domanda di alimenti con alto valore nutrizionale. In Sicilia, antiche popolazioni di frumento, come le *landraces* oggetto di questo studio, offrono un'opportunità unica per rispondere a questa esigenza.

Ringraziamenti

L'attività sperimentale mostrata nel presente lavoro è stata realizzata nell'ambito delle attività previste dal progetto "IN.TE.GRA. - INnovazioni TEcnologiche GRani Antichi", finanziato dal P.S.R. Sicilia 2014/20.

Bibliografia

AACC. *Approved Methods of Analysis, 11th Edition. Cereals & Grains Association. Available online: <https://www.cerealsgrains.org/resources/Methods/Pages/54PhysicalDoughTests.aspx> (accessed on 23 June 2022).*

Sciacca F., Palumbo M., Zappalà A., Bizzini M., Licciardello S., Li Puma E., Leonardi A., Lo Scalzo A., Pesce A., Barbera A., Virzì N. 2023. *Alla ricerca di nuovi prodotti dai cereali: il CREA indaga sul bulgur da grani antichi*. Agrisicilia (ISSN 2039-8212), 5: 48-50.

Zappalà A., Sciacca F., Palumbo M., Pesce A., Bizzini M., Licciardello S., Li Puma E., Leonardi A., Spina G., Barbera A., Virzì N. 2022. *Realizzazione di nuovi prodotti a base di cereali ad elevato valore nutrizionale. Il progetto "IN.TE.GRA. - INnovazioni TEcnologiche GRani Antichi"*. In: Atti del 12° Convegno AISTEC "Cereali e Scienza: resilienza, sostenibilità e innovazione" (ISBN: 978-88-906680-7-4), Portici (NA), 15-17 giugno 2022: 373-376.

UNI 10453. 1995. *Durum Wheat and Semolina-Determination of Rheological Properties Using an Alveograph*. UNI: Milan, Italy.

Caratterizzazione di farine per la produzione di pane a ridotto contenuto di FODMAPs

F. Galgano^{*}, A. Tramutola¹, T. Scarpa¹, M. Di Cairano¹, A. Lomonaco¹, N. Condelli¹, A. Reale²

¹Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali, Università degli Studi della Basilicata, Viale dell'Ateneo Lucano 10, 85100 Potenza (PZ).

²Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Scienze dell'Alimentazione, Via Roma 64, 83100 Avellino (AV).

*E-mail: fernanda.galgano@unibas.it

Abstract

In recent years, there has been a growing interest in a diet low in fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, and polyols (FODMAPs) as a promising therapeutic approach to reduce the symptoms associated with irritable bowel syndrome (IBS).

Among the various foodstuffs associated with the intake of FODMAPs, cereal-based products represent an issue. In fact, although their FODMAPs content is limited, their large use in diet can be an important factor in developing IBS symptoms.

Obtaining cereal-based products with a reduced FODMAPs content would therefore be an excellent solution for the diet of IBS sufferers; by optimizing a series of guidelines, a production process can be developed that takes into account careful selection of the most suitable raw materials and considers all the phases of the bread-making process.

The aim of this study was to characterize different flour samples and, based on the results obtained, select the flours with the lowest total fructans content, to be subsequently used for the formulation of low-FODMAP breads suitable for consumers with IBS.

Riassunto

Negli ultimi anni si è assistito ad un crescente interesse verso una dieta a basso contenuto di oligosaccaridi fermentabili, disaccaridi, monosaccaridi e polioli (FODMAPs) come un promettente approccio terapeutico per ridurre i sintomi associati alla sindrome dell'intestino irritabile (IBS). Tra i vari prodotti alimentari associati all'assunzione di FODMAPs, quelli a base di cereali rappresentano un problema, in quanto, anche se il loro contenuto in FODMAPs è limitato, il loro grande uso nella dieta può rappresentare un fattore importante nell'insorgenza dei sintomi da IBS. Riuscire ad ottenere prodotti a base di cereali con un ridotto contenuto di FODMAPs sarebbe, quindi, un'ottima soluzione per l'alimentazione dei soggetti affetti da IBS. Ottimizzando una serie di linee guida si può mettere a punto un processo di produzione che tenga conto di un'accurata scelta delle materie prime più adatte e che consideri tutte le fasi del processo di panificazione.

Lo scopo di questo studio è stato quello di caratterizzare diversi campioni di farine e, sulla base dei risultati ottenuti, selezionare le farine con il più basso contenuto in fruttani totali, da utilizzare successivamente per formulare pani a ridotto contenuto di FODMAPs adatti a consumatori con IBS.

Introduzione

I FODMAPs (Fermentable Oligo-, Di-, Mono-saccharides And Polyols) sono un gruppo di carboidrati a catena corta che possono causare disturbi intestinali in soggetti che soffrono della sindrome dell'intestino irritabile (IBS), in quanto vengono scarsamente assorbiti a livello dell'intestino tenue e vengono fermentati dai batteri nel colon (Occhipinti *et al.*, 2012; Biesiekierski *et al.*, 2011).

I FODMAPs includono galattosio (GOS), fruttani e fruttooligosaccaridi (FOS), lattosio, fruttosio, sorbitolo, xilitolo e mannitolo; tuttavia, i FODMAPs maggiormente presenti nei prodotti a base di cereali sono i fruttani (Pejcz *et al.*, 2019).

La sindrome IBS è un disturbo gastrointestinale cronico e debilitante che colpisce il 9%-23% della popolazione mondiale (Saha 2014). Pertanto, negli ultimi anni sono stati sviluppati diversi approcci al fine di ridurre il contenuto dei FODMAPs negli alimenti trasformati, tra i quali, i prodotti da forno. La selezione accurata degli ingredienti, l'uso di enzimi, l'impiego di batteri lattici o lieviti opportunamente selezionati, l'impiego di lievito madre nel processo di panificazione, rappresentano delle strategie utilizzate da sole o in combinazione, per ridurre il contenuto di FODMAPs, in particolare di fruttani, nei prodotti a base di cereali (Galgano *et al.*, 2023).

In questo studio sono state determinate le caratteristiche reologiche ed il contenuto in fruttani totali, proteine, ceneri, di farine per la produzione di pane a ridotto contenuto di FODMAPs, allo scopo di scegliere la farina con le migliori caratteristiche tecnologiche ed il più basso contenuto in fruttani da usare successivamente in panificazione, previo trattamento biotecnologico per ridurre ulteriormente il contenuto di tali nutrienti.

Materiali e metodi

Sedici campioni di sfarinati, nello specifico 9 di grano tenero e 7 di grano duro, fornite da differenti produttori, sono stati analizzati per le caratteristiche chimico-fisiche e reologiche come di seguito riportato:

- determinazione del contenuto di umidità, mediante essiccazione del campione (metodi standard: GU n.285 del 15-11-1967; ICC 110/1; UNI EN ISO 712);
- determinazione del contenuto in ceneri, mediante incenerimento del campione di farina in muffola a $550\text{ °C} \pm 10$ (metodi standard in uso: ICC 104/1; AACCC 08-12; UN EN ISO 2171);
- determinazione dell'attività dell'acqua, mediante analizzatore aw Novasina Labmaster;
- determinazione del contenuto in proteine, indice di giallo, indice di glutine attraverso il Foss XDS;
- determinazione dell'assorbimento di acqua e stabilità mediante Farinograph Brabender;
- rilevazione dei dati alveografici (W, P/L) mediante AlveoPC Chopin;
- determinazione del contenuto in fruttani mediante kit enzimatico K-FRUC (Megazyme International, Ireland).

L'Analisi Statistica dei dati è stata condotta con il software XLSTAT 2020.

Risultati e discussione

Al fine di avere informazioni sulle variabili chimico-fisiche che maggiormente hanno caratterizzato i campioni, è stata effettuata l'Analisi delle Componenti Principali (PCA) (Fig.1). Dal grafico è possibile osservare come i campioni si siano differenziati prevalentemente lungo la prima componente in funzione della tipologia di sfarinati: le farine di grano tenero sono

risultate maggiormente caratterizzate da alcuni parametri chimico-fisici, quali a_w , umidità, assorbimento di acqua, stabilità ed indice di glutine.

Differenze significative sono state riscontrate tra i campioni di farina di grano tenero e semole di grano duro analizzati, per il contenuto in ceneri, proteine, W, P/L, assorbimento di acqua (Tab.1).

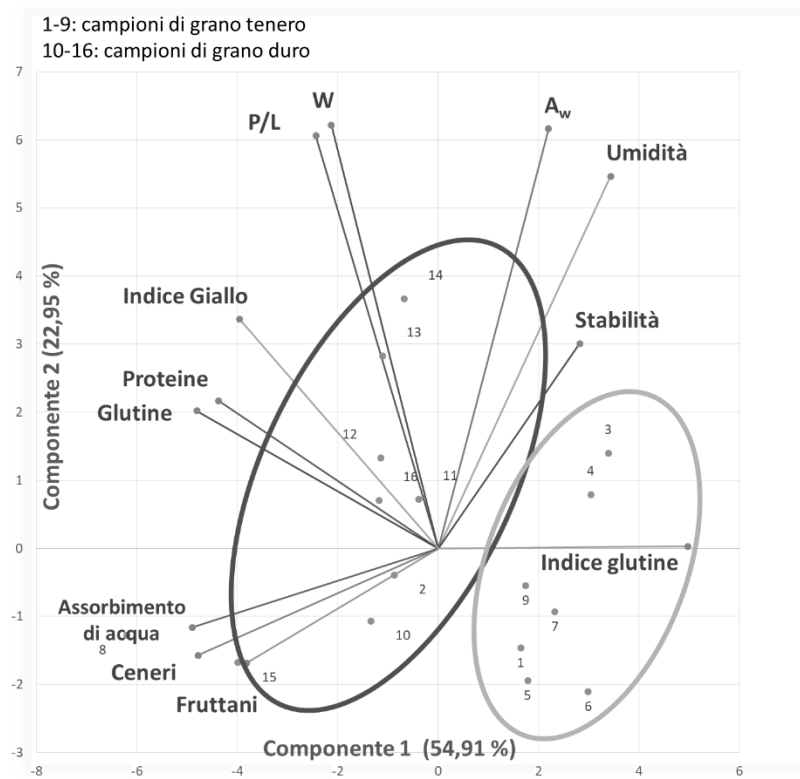


Figura 1. Score plot dei campioni di farina e loading plot delle variabili chimico-fisiche per le 2 Componenti Principali del modello PCA

Tabella 1. Campioni di grano tenero e grano duro: analisi della varianza

Variabili	Grano Tenero	Grano duro	Livello di significatività
Umidità (%)	14,06 ± 1,075	12,011 ± 1,46	n.s.
Ceneri (%)	0,63 ± 0,30	1,35 ± 0,83	0,031
Proteine (% s.s.)	11,16 ± 1,29	13,47 ± 1,66	0,007
W	171 ± 29,71	212 ± 25,95	0,012
P/L	1,01 ± 0,35	2,26 ± 0,80	0,001
Assorbimento di acqua (%)	55,22 ± 2,51	64,72 ± 8,24	0,005
Fruttani (g/100 g s.s.)	1,26 ± 0,28	1,65 ± 0,48	n.s.
Stabilità (min)	4,22 ± 2,87	2,87 ± 1,62	n.s.

I valori sono medie di 3 repliche ± d.s.; T-test ($p < 0,05$).

Seppure il contenuto in fruttani totali sia risultato maggiore nei campioni di grano duro rispetto a quelli di grano tenero, le due tipologie di sfarinati non hanno presentato valori statisticamente differenti, come riscontrato in letteratura (Ribeiro et al., 2022).

In letteratura è riportato che nelle cariossidi di grano il contenuto in fruttani è maggiormente concentrato nella crusca (Haska et al., 2008). Ciò è confermato dalla correlazione positiva riscontrata nei campioni analizzati tra il contenuto in ceneri e il contenuto in fruttani ($R=0,797$ per $p<0,05$). Le caratteristiche reologiche delle farine, in particolare la percentuale di assorbimento di acqua, è risultata correlata positivamente al contenuto in ceneri ($R=0,954$ per $p<0,05$) ed al contenuto in fruttani ($R=0,776$ per $p<0,05$), rispettivamente, come riscontrato in letteratura (Pejcz et al., 2019). Il contenuto in fruttani totali nei campioni di farina era compreso tra 0,93 e 2,14 g/100 g s.s., in linea con quanto riportato in letteratura (Haska et al., 2008) (Fig.2). Sono emerse tuttavia delle differenze significative all'interno dei campioni sia di grano tenero che di grano duro.

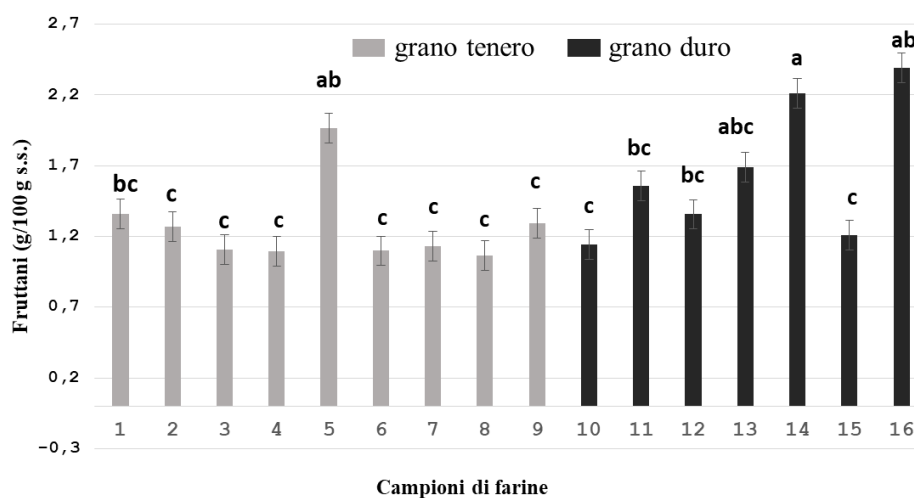


Figura 2. Contenuto in fruttani nei campioni di farina analizzati

La forza degli sfarinati (W) (parametro reologico scelto come esempio per la diversificazione dei campioni analizzati) è risultata compresa tra 118 a 248, anche in questo caso con valori statisticamente diversi sia inter che intra campione (Fig.3).

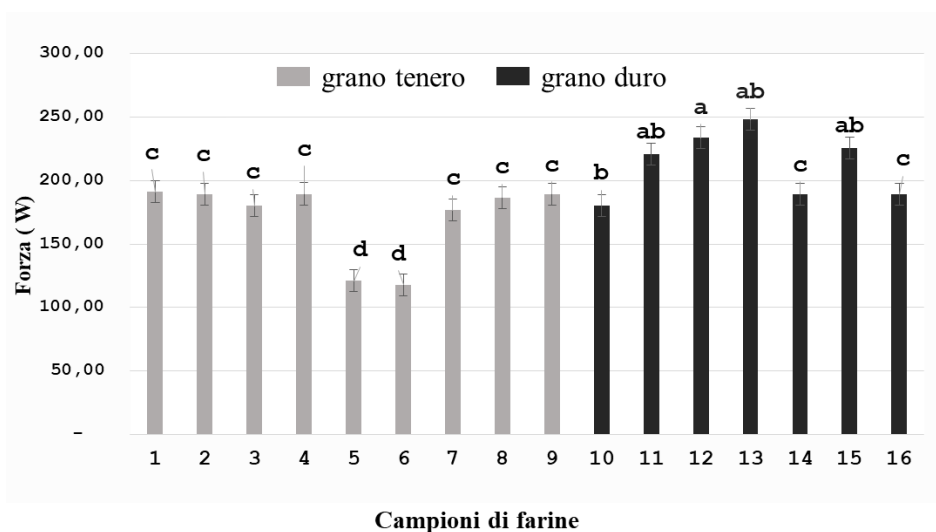


Figura 3. Forza (W) dei campioni di farina analizzati

Sulla base di questi risultati preliminari, sei farine di grano tenero (campioni n. 2, 3, 4, 7, 8 e 9) e due semole di grano duro (campioni n. 10 e 15), hanno mostrato le migliori caratteristiche tecnologiche ed un minore contenuto in fruttani totali. Cinque di queste farine di grano tenero (che generalmente hanno un più basso contenuto in ceneri rispetto alle semole di grano duro) verranno sottoposte a trattamento biotecnologico per testare la capacità di ceppi selezionati di batteri lattici e lieviti di ridurre ulteriormente il contenuto di tali nutrienti. Due degli sfarinati migliori, assieme allo starter più idoneo, verranno impiegate per formulare pani a ridotto contenuto di FODMAPs, da caratterizzare dal punto di vista chimico e sensoriale, che siano adatti a consumatori con IBS.

Ringraziamenti

Le attività di ricerca sono state finanziate dall'Unione Europea – *Next Generation EU* nell'ambito del PNRR, nel Progetto BREADS4IBS, “Biotechnological strategies to formulate bread with low fodmaps content for consumers with irritable bowel syndrome: technological, nutritional, sensory and clinical aspects” (Missione 4, Componente 2, Investimento 1.1 Fondo per il programma nazionale e progetti di rilevante interesse nazionale-PRIN).

Bibliografia

- Biesiekierski J.R., Rosella O., Rose R., Liels K., Barret J. S., Shepherd S. J., Gibson P. R., Muir J. G. 2011. Quantification of fructans, galacto-oligosaccharides and other short-chain carbohydrates in processed grains and cereals. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 24: 154-176.
- Galgano F., Mele M.C., Tolve R., Condelli N., Di Cairano M., Ianiro G., D'Antuono I., Favati F. 2023. Strategies for Producing Low FODMAPs Foodstuffs: Challenges and Perspectives. *Foods*, 12: 856.
- Haska L., Nyman M., Andersson R. 2008. Distribution and characterisation of fructan in wheat milling fractions. *Journal of Cereal Science*, 48: 768-774.
- Occhipinti K., Smith J. W. 2012. Irritable bowel syndrome: a review and update. *Clinics in Colon and Rectal Surgery*, 25: 46-52.
- Pejcz E., Szychaj R., Gil Z. 2019. Technological Methods for Reducing the Content of Fructan in Wheat Bread. *Foods*, 8: 663.
- Ribeiro M., Ferreira D., Siopa J., Rodriguez-Quijano M., Nunes F. M. 2022. Natural Variation in the Content and Degree of Polymerization of Fructans in Wheat: Potential for Selection of Genotypes with Beneficial Health Composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70: 10929-10939.
- Saha L. 2014. Irritable bowel syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment, and evidence-based medicine. *World Journal of Gastroenterology*, 20: 6759-6573.

Applicazione di una metodologia statistica di selezione a intervalli per il monitoraggio dello stress climatico sulla produzione di composti volatili nel frumento

R. De Flaviis, V. Santarelli, G. Sacchetti*

Dipartimento di Bioscienze e Tecnologie Agro-Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Teramo, Via R. Balzarini 1, 64100 Teramo (TE).

*E-mail: gsacchetti@unite.it

Abstract

Extreme climate events associated with global warming are increasingly affecting the quality of crops, including wheat. Assessing the impact of these events as a function of the phenological stage of the plant is extremely important. The aim of this study is to evaluate the impact of temperature in specific periods before harvest on the profile of volatile organic compounds (VOCs) of wheat. For this purpose, six varieties of soft and durum wheat were grown for three consecutive years in four experimental fields located at three different altitudes. Climate data were monitored by meteorological stations. The VOC profile was analyzed by SPME-GC-MS. The datasets obtained from the analyses conducted on soft and durum wheat were processed using a regression by Interval Latent Structure Projection (iPLS). The results indicate that the average temperature influences VOC production more in the phases following tillering, related to sudden heat or spring cold returns; temperature excursions instead influence VOC production in the periods following the flag leaf. To the authors' knowledge, this study represents the first attempt to use iPLS to predict the change in the profile of volatiles as a function of the temperature time series recorded from sowing to harvest.

Riassunto

Gli eventi climatici estremi legati al riscaldamento globale stanno sempre più influenzando la qualità delle coltivazioni, compreso il frumento. È cruciale valutare l'impatto di questi eventi in relazione alle diverse fasi fenologiche della pianta. L'obiettivo di questo studio è valutare come le temperature in specifici periodi prima della raccolta influenzano il profilo dei composti organici volatili (VOC) del frumento. A questo scopo, sei varietà di frumento tenero e duro sono state coltivate per tre anni consecutivi, in quattro campi sperimentali situati a tre altitudini diverse. I dati climatici sono stati monitorati tramite stazioni metereologiche. Il profilo dei VOC è stato analizzato tramite SPME-GC-MS. I set di dati ottenuti dalle analisi condotte su frumento tenero e duro sono stati elaborati utilizzando una regressione mediante Proiezione su Strutture Latenti a intervalli (iPLS). La temperatura media influenza maggiormente la produzione di VOC nelle fasi successive all'accestimento, legate a caldi improvvisi o ritorni di freddo primaverili; le escursioni termiche invece influenzano la produzione di VOCs nei periodi successivi allo sviluppo della foglia a bandiera. A conoscenza degli autori questo studio rappresenta il primo tentativo di usare la iPLS per predire il cambiamento nel profilo dei volatili in funzione delle temperature registrate dalla semina alla raccolta.

Introduzione

Gli eventi climatici estremi associati al riscaldamento globale stanno influenzando sempre più la qualità delle coltivazioni, tra cui il frumento (White *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2022). Valutare l'impatto di questi eventi in funzione alla fase fenologica della pianta è estremamente importante. È stato già osservato come il profilo dei composti volatili del frumento sia influenzato da variabili climatiche tra cui l'escursione termica giornaliera (ΔT) (De Flaviis *et al.*, 2023).

Obiettivo di questo studio è valutare l'effetto della variazione della temperatura in specifici periodi prima della raccolta, sul profilo dei composti volatili del frumento.

Materiali e metodi

Sei varietà di frumento tenero e duro, tra cui due tradizionali e quattro moderne, sono state coltivate per tre anni consecutivi in quattro campi sperimentali, situati a tre altitudini diverse. I dati climatici sono stati monitorati tramite stazioni metereologiche e standardizzati in funzione del tempo. Gli intervalli delle fasi fenologiche sono stati definiti tramite i gradi giorno (GDD) e confermati da diverse osservazioni in campo (Fig. 1).

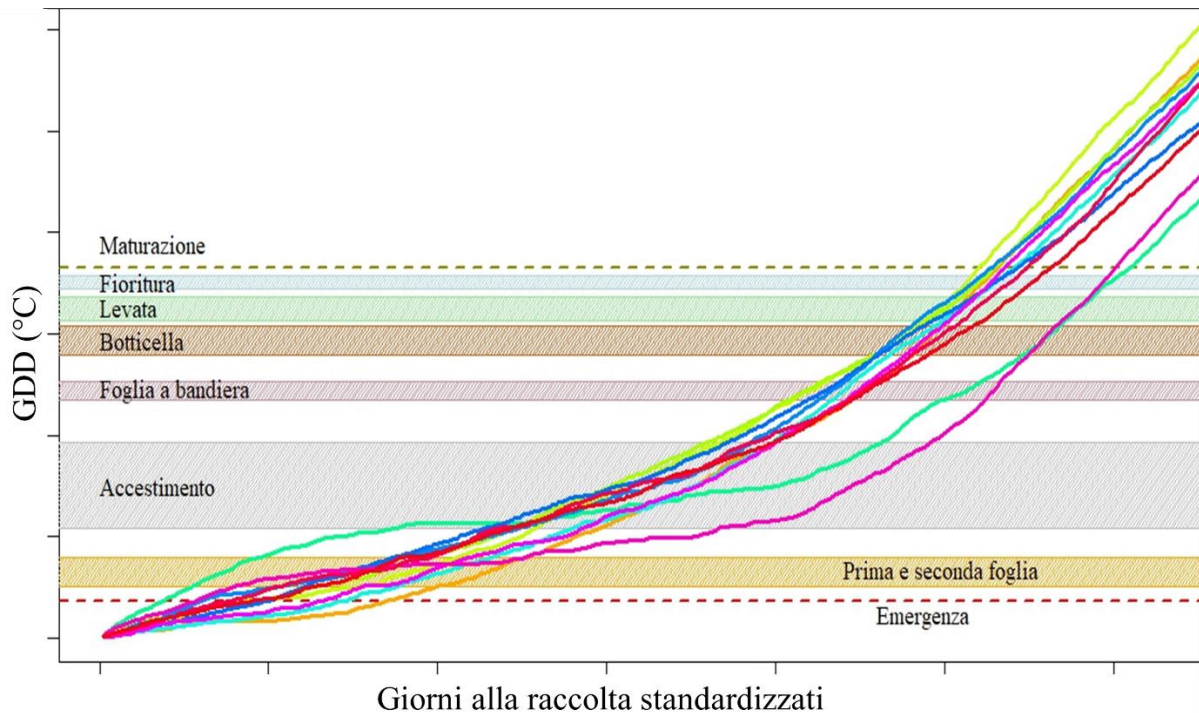


Figura 1. Andamento dei gradi giorno (GDD) nei diversi campi sperimentali e le relative fasi fenologiche.

I composti organici volatili (VOC) sono stati analizzati con un metodo SPME-GC-MS ottimizzato per il frumento (De Flaviis et al., 2021).

I set di dati ottenuti dalle analisi condotte su frumento tenero e duro sono stati elaborati utilizzando una regressione mediante Proiezione su Strutture Latenti a intervalli (iPLS). Questa tecnica, sviluppata per gli spettri NIR, è capace di analizzare dati multidimensionali, con variabili collineari, interferenti o rumorose.

Risultati e discussione

L'escursione termica giornaliera ΔT , variabile cruciale nella determinazione del profilo dei VOC del frumento, sembra influenzare maggiormente la pianta per il periodo che comprende la botticella e la fioritura; infatti, la fioritura del grano è un periodo molto delicato per quanto riguarda gli stress termici (Figura 2).

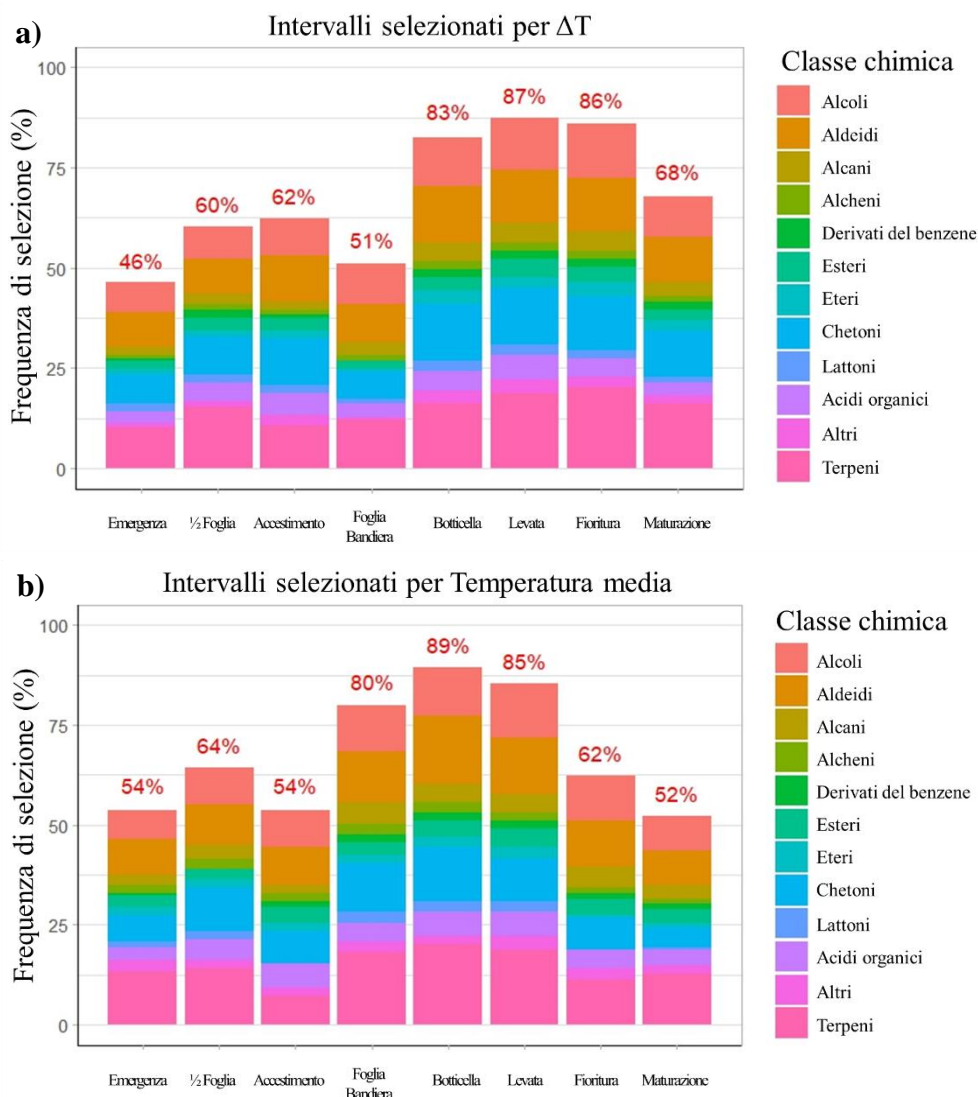


Figura 2. Frequenze di selezione dei VOC in base alla variabile ΔT (a) e temperatura media (b) considerando tutto il periodo monitorato dalla semina alla raccolta diviso per fase fenologica in base ai GDD.

Se invece si considera la temperatura media, il periodo che va dallo sviluppo della foglia bandiera alla levata è cruciale per la formazione di diversi composti volatili e questo risultato può essere di interesse per valutare l'effetto dell'aumento di temperatura associato ai cambiamenti climatici sulla qualità del grano. L'emergenza invece è il periodo meno influente in entrambi i casi. I terpeni rappresentano sempre la maggioranza dei VOC selezionati per ogni fase fenologica. Gli alcoli hanno un interessante incremento lineare nel tempo fino alla levata e alla fioritura per T e ΔT rispettivamente (Figura 2).

Poiché molti VOC sono sintetizzati come conseguenza di uno stress abiotico, questi risultati potrebbero indicarci in quale periodo la pianta abbia subito quel determinato stress termico, o più in generale, quale fase fenologica è più soggetta a questi tipi di stress. La temperatura media influenza maggiormente la produzione di VOC nelle fasi successive all'accostamento, legate a caldi improvvisi o ritorni di freddo primaverili; le escursioni termiche invece influenzano la produzione di VOCs nei periodi successivi alla foglia a bandiera. A conoscenza degli autori questo studio rappresenta il primo tentativo di usare la iPLS per predire il cambiamento nel profilo dei volatili in funzione della serie temporale di temperature registrate dalla semina alla raccolta.

Bibliografia

De Flaviis R., Sacchetti G., Mastrocola D. 2021. Wheat classification according to its origin by an implemented volatile organic compounds analysis. *Food chemistry*, 341: 128217.

De Flaviis R., Santarelli V., Sacchetti G., Mastrocola D. 2023. An insight into the impact of climate factors associated with altitude on wheat volatiles' fingerprints at harvest using multivariate statistical analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(13): 6664-6679.

White M. A., Diffenbaugh N. S., Jones G. V., Pal J. S., Giorgi F. 2006. Extreme heat reduces and shifts United States premium wine production in the 21st century. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(30): 11217-11222.

Zhang T., van der Wiel K., Wei T., Screen J., Yue X., Zheng B., Selten F., Bintanja R., Anderson W., Blackport R., Glomsrød S., Liu Y., Cui X., Yang X. 2022. Increased wheat price spikes and larger economic inequality with 2° C global warming. *One Earth*, 5(8): 907-916.

Caratterizzazione di sfarinati ottenuti dalla macinazione di frumenti pigmentati e produzione di alimenti ad alto valore dietetico nutrizionale

I. Gaeta^{1}, M.C. Messia¹, E. Marconi², M.C. Trivisonno¹, L. Falasca¹, P. De Vita³*

¹Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti (DiAAA), Università degli Studi del Molise, Via Francesco De Sanctis, 86100 Campobasso (CB).

²Facoltà Dipartimentale di Scienze e Tecnologie per l'Uomo e l'Ambiente (STUA), Università Campus Bio-Medico di Roma, Via Álvaro del Portillo 21, 00128 Roma (RM).

³Consiglio per la Ricerca in Agricoltura e l'Analisi dell'Economia Agraria (CREA), Centro di Ricerca Cerealicoltura e Colture Industriali, SS 673 km 25,200, 71122 Foggia (FG).

*E-mail: i.gaeta@studenti.unimol.it

Abstract

Anthocyanins are a class of pigmented compounds belonging to polyphenols that can bestow different colors, commonly found in fruits and vegetables. Synthesized by activating a defense mechanism against excessive light exposure, typical of field-grown crop species, anthocyanins are found in some varieties of pigmented wheat. These wheat varieties, as evidenced by numerous studies, have countless bioactive compounds that can provide health benefits to the organism.

In this study, six pigmented wheat genetic lines were characterized so that the most promising ones could be selected for their nutritional value and anthocyanin content. One line of durum wheat and one soft wheat were milled using pilot plants. Their milling fractions were analyzed to identify the ideal recombination to produce flour for cereal-based food production with high nutritional profiles.

Riassunto

Gli antociani sono una classe di composti pigmentati, appartenenti ai polifenoli, responsabili delle colorazioni comunemente rinvenibili in frutta e verdura. Sintetizzati come risultato dell'attivazione di un meccanismo di difesa contro l'eccessiva esposizione luminosa, tipico ad esempio delle specie erbacee coltivate in pieno campo, si ritrovano in alcune varietà di frumento pigmentato. Questi frumenti, come evidenziato da molteplici studi, presentano numerosi composti bioattivi, tra cui gli antociani, in grado di esplicare benefici per l'organismo.

Nel presente lavoro, sei linee genetiche di frumento pigmentato sono state caratterizzate in modo da poter selezionare quelle più promettenti dal punto di vista nutrizionale e del contenuto in antociani. Una linea di frumento duro e una di tenero sono state macinate mediante impianti pilota. Le frazioni ottenute sono state analizzate al fine di identificare la ricombinazione ideale per poter produrre sfarinati da impiegare nella realizzazione di prodotti a base di cereali con elevati profili nutrizionali.

Introduzione

Al giorno d'oggi, i consumatori mostrano un crescente interesse per gli effetti benefici correlabili all'assunzione di alimenti caratterizzati dalla presenza di composti bioattivi che possono avere un'influenza positiva sulla salute. In questo contesto, il frumento pigmentato emerge come una risorsa chiave nella realizzazione di alimenti che, oltre ad apportare nutrienti, siano in grado di veicolare sostanze capaci di fornire un beneficio all'organismo umano (Dangi *et al.*, 2023). L'accertamento della presenza di tratti genetici in grado di favorire la sintesi degli antociani nella cariosside di frumento risale intorno al XIX secolo, a partire da alcune varietà selvatiche di frumenti tetraploidi di origine etiope (Grausgruber *et al.*, 2016). La localizzazione negli strati più esterni della cariosside viene correlata alla loro struttura chimica che,

consentendogli di assorbire le lunghezze d'onda tipiche delle radiazioni ultraviolette, gli permetterebbe di svolgere un'azione protettiva, preservando l'integrità delle cellule vegetali da un eventuale stress ossidativo (He e Giusti, 2010). Lo stesso potenziale protettivo si esplicherebbe a livello del nostro organismo. Infatti, benché vengano attualmente impiegati nell'industria alimentare per scopi diversi, agli antociani vengono attribuite varie capacità fisiologiche, tra cui l'azione antiossidante che può contribuire a ridurre il rischio di insorgenza di malattie croniche come quelle cardiovascolari, il cancro e il diabete (Zhu, 2018). Tuttavia, i problemi legati alla sensibilità degli antociani alle condizioni utilizzate nei processi di trasformazione richiedono l'individuazione di parametri operativi idonei per salvaguardarne la stabilità.

L'obiettivo del lavoro consiste nella realizzazione di prodotti cerealicoli ad elevato valore nutrizionale, come pasta secca e prodotti da forno, ottenuti a partire da uno sfarinato integrale, ricco in antociani, risultato di una specifica ricombinazione delle frazioni di macinazione di linee genetiche di frumento pigmentato.

Materiali e metodi

Campioni oggetto di sperimentazione

Nell'ambito della sperimentazione, sei linee genetiche di frumento pigmentato, nello specifico due di frumento duro "CER 2474" e "CER 2473", e quattro di frumento tenero "CER 14037/2", "CER 17111", "CER 13240/4" e "CER 13246", riportate in Figura 1, sono state selezionate e campionate dal CREA-Centro di Ricerca Cerealcoltura e Colture Industriali (CREA-CI, Foggia).



Figura 1. Linee genetiche di frumento pigmentato oggetto della sperimentazione.

Caratterizzazione della granella e delle frazioni di macinazione

Un campione di granella di ciascuna linea genetica è stato preliminarmente sottoposto a macinazione utilizzando un mulino da laboratorio refrigerato, KNIFETEC 1095 Sample mill. Il contenuto di umidità e di ceneri dei campioni è stato determinato in accordo, rispettivamente, con il metodo ICC N° 110/1 e N° 104/1 (ICC, 1995). Il contenuto in grassi è stato determinato seguendo il metodo dell'idrolisi acida riportato sulla Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana N° 114/1995. Il contenuto in proteine è stato, invece, quantificato impiegando un sistema a combustione quale il Leco, modello FP-528 (Leco Corp., St. Joseph, MI, USA), in accordo con il metodo Dumas a combustione, AACC 46-30.01 (AACC, 2010).

Determinazione degli antociani totali

Il contenuto degli antociani totali nelle granelle e nelle frazioni di macinazione è stato determinato impiegando il metodo colorimetrico a pH differenziale, in accordo con quello descritto da Iannucci *et al.* (2022).

Macinazione con impianti pilota

La linea di frumento duro pigmentato "C 2474" è stata macinata impiegando il molino sperimentale della Buhler mod. MLU 202 (Buhler AG, Uzwil, Switzerland), mentre per la linea genetica di frumento tenero pigmentato "C 13246" è stato impiegato il molino sperimentale della Namad SG 2000 (Namad Impianti Srls, Roma).

Produzione di pasta secca, prodotti da forno e gallette

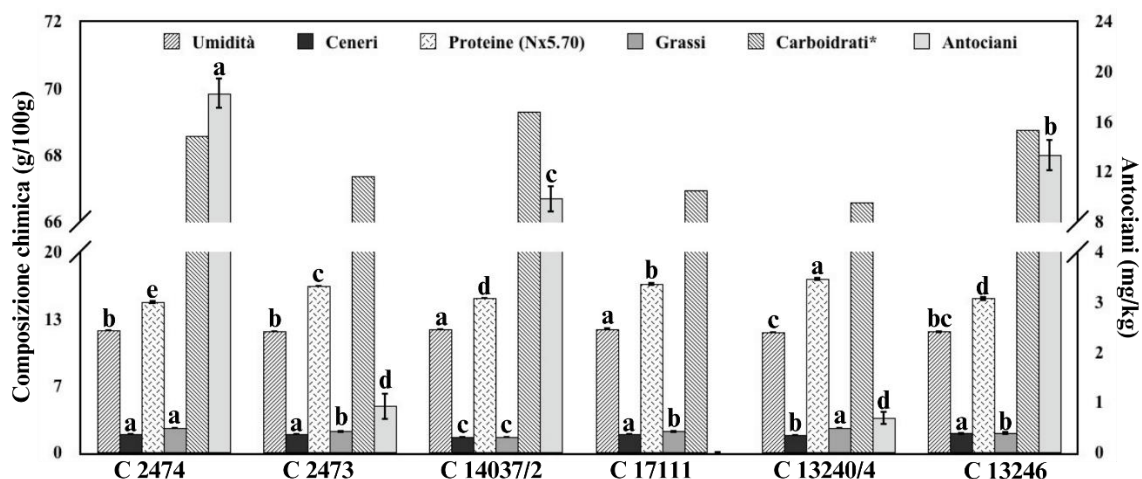
Gli sfarinati integrali pigmentati, ottenuti dalla ricombinazione delle frazioni di macinazione delle due linee genetiche di frumento duro e tenero selezionate, sono stati destinati rispettivamente alla produzione di pasta secca, taralli e biscotti. Per la pastificazione (formato tagliatelle), i taralli e i biscotti sono stati utilizzati degli impianti sperimentali. Il ciclo di essiccazione della pasta è stato condotto impiegando un essiccatore dinamico (Namad Impianti Srls, Roma) adottando temperature di max 75 °C.

Una parte della granella tal quale di frumento duro e tenero è stata anche destinata alla produzione di gallette, impiegando una pressa per gallette della SERIE MRC, modello MRC 2/R (Bake Italy, Re Pietro s.r.l., Gaggiano, Milano, Italia).

Risultati e discussione

Caratterizzazione delle granelle pigmentate

La combinazione dei risultati emersi dalla caratterizzazione chimico/fisica e dalla quantificazione degli antociani totali delle granelle (Fig. 2), ha permesso di individuare, tra le sei linee genetiche oggetto di sperimentazione, quelle più promettenti. Come evidente dalla figura, tutte le linee genetiche presentano un profilo chimico piuttosto simile mentre si differenziano per il contenuto in antociani. In virtù di questa considerazione, sono state selezionate per la macinazione le due linee che hanno mostrato un più elevato contenuto in antociani totali rispetto alle altre linee genetiche analizzate, ossia il frumento duro “C 2474” e il frumento tenero “C 13246”.

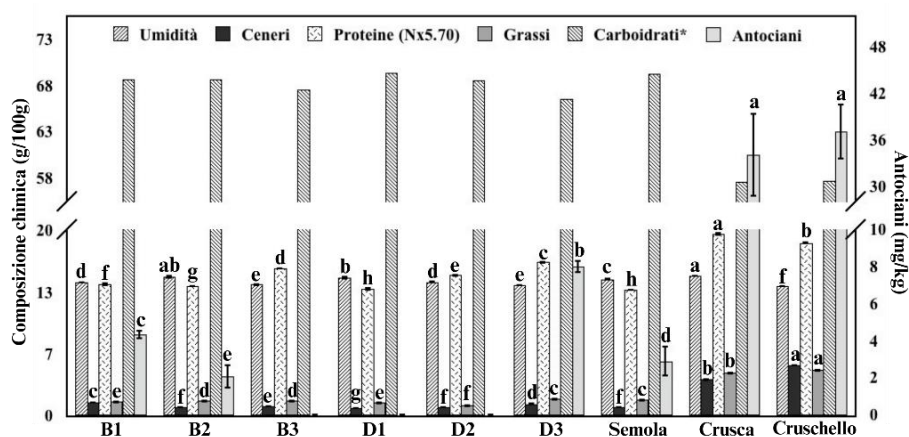


* i carboidrati sono stati calcolati per differenza. Lettere diverse per ciascun componente chimico indicano differenze statisticamente significative ($p < 0,05$)

Figura 2. Composizione chimica delle granelle e contenuto in antociani totali.

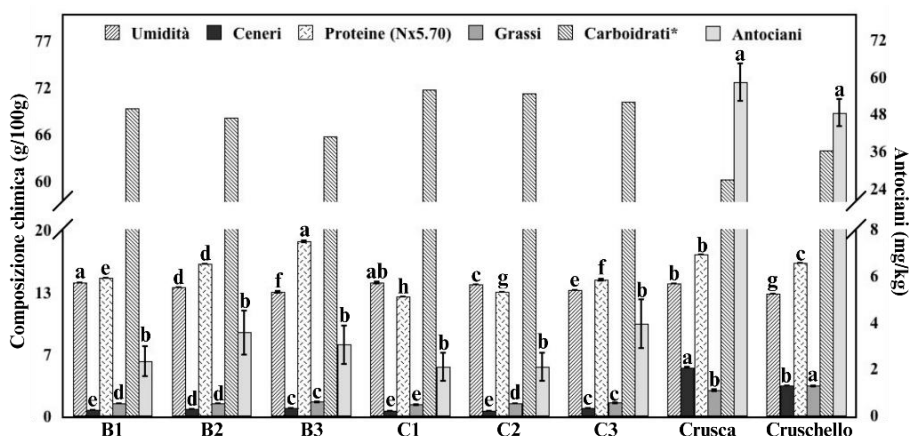
Ricombinazione per l'ottenimento di sfarinati integrali ricchi in antociani

A seguito della caratterizzazione chimico/fisica e della determinazione del contenuto in antociani delle frazioni ottenute dalla macinazione delle linee genetiche di frumento duro “C 2474” (Fig. 3) e tenero “C 13246” (Fig. 4), la ricombinazione ha previsto la ricerca di un giusto bilanciamento tra le frazioni più ricche in antociani, in particolare crusca e cruschetto, e quelle che, seppur presentando un minore quantitativo di antociani, consentissero di ottenere sfarinati integrali da destinare alla produzione di alimenti a base di cereali.



* i carboidrati sono stati calcolati per differenza. Lettere diverse per ciascun componente chimico indicano differenze statisticamente significative ($p < 0,05$)

Figura 3. Composizione chimica e antociani totali nelle frazioni di macinazione della linea di frumento duro pigmentato “C 2474”.



* i carboidrati sono stati calcolati per differenza. Lettere diverse per ciascun componente chimico indicano differenze statisticamente significative ($p < 0,05$)

Figura 4. Composizione chimica e antociani totali nelle frazioni di macinazione della linea di frumento tenero pigmentato “C 13246”.

Caratterizzazione degli sfarinati e produzione di pasta secca, prodotti da forno e gallette

Gli sfarinati integrali ricchi in antociani, impiegati nella produzione di alimenti ad elevato valore nutrizionale (la cui caratterizzazione viene riportata nella Tabella 1), sono stati ottenuti come risultato di una specifica ricombinazione delle frazioni di macinazione, in virtù della resa di macinazione, del profilo chimico e del relativo contenuto in antociani.

Tabella 1. Composizione chimica e contenuto di antociani totali dello sfarinato di frumento duro pigmentato “C 2474” e di frumento tenero pigmentato “C 13246”.

	Umidità (%)	Proteine (Nx5.70) (%)	Ceneri (%)	Grassi (%)	Antociani (mg/kg)
SFD	14,4±0,04 ^a	15,2±0,05 ^a	2,45±0,01 ^a	2,7±0,04 ^a	14,87±1,19 ^b
SFT	13,7±0,03 ^b	15,3±0,03 ^a	1,88±0,01 ^b	2,0±0,03 ^b	22,2±1,89 ^a

SFD: sfarinato integrale di frumento duro, SFT: sfarinato integrale di frumento tenero. Lettere diverse in colonna indicano una differenza statisticamente significativa ($p < 0,05$)

I prodotti realizzati con gli sfarinati integrali e le granelle tal quali sono riportati in Figura 5.



Figura 5. Pasta secca e gallette di frumento duro pigmentato “C 2474” (sulla sinistra, “A”), taralli, biscotti e gallette di frumento tenero pigmentato “C 13246” (sulla destra, “B”).

Conclusioni

Le valutazioni in corso sugli alimenti realizzati a partire dagli sfarinati integrali stanno mostrando come la ricombinazione specifica delle singole frazioni, ottenute dalla macinazione di linee genetiche pigmentate, in virtù del profilo nutrizionale e il contenuto in antociani, risulta utile alla realizzazione di alimenti caratterizzati da un elevato valore nutrizionale.

Ringraziamenti

Progetto di Ricerca e Sviluppo “Impiego di grani pigmentati per lo sviluppo di prodotti alimentari tracciabili ad alto valore aggiunto naturalmente ricchi di molecole bioattive”, acronimo ‘PIGRANI’. Ministero dello Sviluppo Economico - CUP B76G20000850005.

Bibliografia

- AACC 2010. *American Association of Cereal Chemists, Approved Methods*, 11th ed. St. Paul, MN, USA.
- Dangi P., Chaudhary N., Paul A., Sharma A., Dutta I., Razdan R. 2023. Pigmented Wheat: Nutrition Scenario and Health Benefits. In *Pigmented Cereals and Millets: Bioactive Profile and Food Applications*. Ed. S. P. Bangar, S. Maqsood, and A. K. Siroha, The Royal Society of Chemistry. *Food Chemistry, Function and Analysis*, ch.1, 38: 1-26.
- Grausgruber H., Fuchs C., Atzgersdorfer K., Baron J., Oberlerchner J.T., Böhmendorfer S. 2016. Phytochemicals in cereals and their use: A case study on anthocyanins. In: *Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs* (Ed.), “66. Jahrestagung 2015”, 23-25 November, Raumberg-Gumpenstein, pp. 23-27. University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna.
- He J., Giusti M.M. 2010. Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. In *Annual Review of Food Science and Technology*, 163-187.
- Iannucci A., Suriano S., Cancellaro S., Trono D. 2022. Anthocyanin profile and main antioxidants in pigmented wheat grains and related millstream fractions. *Cereal Chemistry*, Issue 6, 99: 1282-1295.
- ICC 1995. *Standard Methods of the International Association for Cereal Science and Technology*. Wien, Austria.
- Zhu F. 2018. Anthocyanins in cereals: Composition and health effects. Review on *Food Research International*, 109: 232-249.

LISTA DEGLI AUTORI

Abate A.; 113
Acquaticci L.; 67
Adinolfi P.P.; 77
Alamprese C.; 62
Alberti I.; 141
Angeloni S.; 67
Antonazzi F.; 179
Arcangeli A.; 22; 209

Bahri N.; 205
Balconi C.; 224
Balducchi R.; 82
Balmas V.; 141
Bassi F.; 205
Baviello G.; 82
Beccari G.; 141
Belocchi A.; 132; 239; 254
Ben Ghanem H.; 205
Ben Salem M.; 205
Beone G. M.; 52
Bertuzzi T.; 113; 202
Blandino M.; 37; 108; 113; 118; 164; 189;
234; 259
Blasi E.; 27
Bonacci S.; 42
Bonarrigo M.; 27
Borgogno-Mondino E.; 164
Bosco S.; 57
Bousslamti A.; 205
Brasili E.; 87
Bresciani A.; 92
Buonocore P.; 179
Buzzanca C.; 42

Caboni M.F.; 32; 174
Cacciatori P.; 214; 249; 254
Cammerata A.; 239
Canella M.; 155
Cappa C.; 62
Cappelletti E.; 141
Caprioli G.; 67
Carnia A.; 148; 152; 199
Cassetta C.; 132
Castellucci A.; 98

Cattaneo C.; 152
Ceccarelli D.; 254
Ceccarelli S.; 214
Cecchini C.; 22; 209
Cecire R.; 108
Celi L.; 52; 108
Ciccoritti R.; 254
Cimini A.; 169; 229
Cioffi G. M.; 77
Ciorba R.; 254
Colombatto P.; 108; 113
Comino C.; 244
Condelli N.; 274
Covarelli L.; 141
Cuomo F.; 184

D'Angelo D.; 137
Dall'Asta C.; 234
De Angelis B.; 122; 127
De Arcangelis E.; 179
De Caro S.; 47
De Falco E.; 77
De Flaviis R.; 72; 279
De Vita P.; 132; 283
Del Frate V.; 22; 209
Di Cairano M.; 274
Di Stasio L.; 47
Di Stefano V.; 42
Djellakh F.; 205

El Amil R.; 205
Errico S.; 82

Falasca L.; 283
Fantozzi E.; 145; 148; 152; 199
Farbo A.; 164
Folloni S.; 214; 219
Fontanella M. C.; 52
Fornara M.; 132
Fратиanni A.; 37
Frusciante E. L.; 77; 122; 127

Gaeta I.; 283
Galassi E.; 22; 209; 214; 239; 249; 254
Galaverna G.; 209; 214; 219
Galgano F.; 274
Gazza L.; 22; 103; 209; 214; 219; 249; 254
Ghizzoni R.; 160
Giannatiempo M.; 77
Giannelli G.; 219
Giorgione S.; 194
Giorni P.; 113; 202
Gogam R.T.; 160
Goritschnig S.; 224
Gosparini E.; 22; 209; 239
Grolì E.; 132
Guarino V.; 189

Iacovino S.; 184
Imeneo V.; 62
Infantino A.; 141
Iori A.; 132; 239
Iraci Capuccinello D.; 141

Lamanna R.; 82
Lelli S.; 179
Leonardi A.; 42; 137; 269
Li Puma E.; 42; 137; 269
Licciardello S.; 42; 132; 137; 269
Lo Scalzo A.; 137
Lombardi S.J.; 194
Lomonaco A.; 274

Mameli L.; 132
Mamone G.; 47
Mamula N.; 205
Marchini M.; 205
Marconi E.; 47; 160; 184; 283
Marti A.; 92
Martin M.; 52
Martina M.; 244
Marucci A.; 27
Maruccia S.; 108; 113
Marzocchi S.; 32; 174
Mascheroni S.; 132
Masci S.; 27
Mazzoli I.; 205
Mazzon V.; 132; 239; 254

Mele M.; 77
Melilli M. G.; 42
Meloni R.; 118; 164
Messia M.C.; 47; 184; 283
Messina B.; 103
Metelli G.; 27
Mezzalama M.; 57
Miele M.; 92
Migliorini P.; 244
Milani A.M.; 244
Mondillo A.; 122; 127
Montanari M.; 141
Morcia C.; 160
Moresi M.; 169; 229
Morgante L.; 169; 229
Mortaro R.; 22
Mottola N.; 132
Mrabet R.; 205

Narducci V.; 160; 179
Naso M.; 214
Natale C.; 22; 209; 214; 249; 254
Nocente F.; 22; 103; 209; 214; 249; 254

Ofensou S.; 141
Onofri A.; 141

Pagano M.; 254
Palumbo M.; 42; 137; 269
Panfili G.; 37
Paone S.; 132
Pasini F.; 32; 174
Pecchioni N.; 42; 132; 137; 269
Pedrazzani C.; 234
Pesce A.; 42; 132; 137; 269
Petrini A.; 132
Portis E.; 244
Pozzi V.; 264
Prodi A.; 141

Raffo A.; 160
Randazzo B.; 132
Ravagli C.; 174
Ravaglia S.; 132
Reale A.; 274

Redaelli R.; 224
Reyneri A.; 108; 113; 164
Ricciutelli M.; 67
Ritota M.; 179
Rizzello C. G.; 87
Romani M.; 52
Romani S.; 67
Rosati S.; 194
Rosso A.; 37
Ruggeri M.; 98
Ruggeri S.; 179
Rumpel C.; 219
Russo G.; 103

Sacchetti G.; 72; 279
Sangiorgio P.; 82
Sansoni F.; 155; 264
Santanatoglia A.; 67
Santarelli V.; 72; 279
Santi R.; 32
Sardella C.; 37; 234
Scapino M.; 118; 234
Scarpa T.; 274
Scarpino V.; 37; 189; 234; 259
Schouten M. A.; 67
Sciacca F.; 42; 137; 269
Sena L.; 155; 264
Sereni L.; 22; 249
Sergiacomo A.; 92
Sestili F.; 27
Simonelli C.; 145; 148; 152; 199
Spadaro D.; 57
Spagnolo S.; 244

Sulyok M.; 141

Taddei F.; 22; 209; 214; 239; 249; 254
Tenni D.; 52
Terzi V.; 160
Testa B.; 194
Tini F.; 141
Torreggiani A.; 87
Torri A.; 224
Toscano G.; 103
Tramutola A.; 274
Trivero F.; 145; 148; 152; 199
Trivisonno M.C.; 179; 184; 283
Troccoli A.; 132
Trotta N.; 77; 122; 127
Turfani V.; 160; 179

Vaccino P.; 132; 155; 264
Vanara F.; 37; 189; 234; 259
Védère C.; 219
Vergalito F.; 194
Verni M.; 87
Viola P.; 132
Virzì N.; 42; 132; 137; 141; 269
Visioli G.; 214; 219
Vittori S.; 67
Volta B.; 98

Zappalà A.; 269
Zito D.; 77

NOTE

NOTE



ISBN: 978-88-906680-8-1