

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN

Scienze e Tecnologie Agrarie, Ambientali e  
Alimentari

Ciclo XXXI

Settore Concorsuale di afferenza: 07/B1 – Agronomia e Sistemi Culturali  
Erbacei ed Ortofloricoli

Settore Scientifico Disciplinare: AGR/02 – Agronomia e Coltivazioni Erbacee

**Variabilità spaziale del profilo fitochimico di *Triticum turgidum*  
*ssp. turanicum* coltivato in biologico**

**Presentata da: Dott. Rocco Enrico Sferrazza**

**Coordinatore Dottorato  
Prof. Massimiliano Petracchi**

**Relatore  
Prof. Giovanni Dinelli  
Correlatori  
Dott.ssa Sara Bosi  
Dott. Ambrogio Costanzo**

**Esame finale anno 2019**



## INDICE

<b>1.1 Agricoltura Convenzionale e Agricoltura a Basso Impatto</b> .....	1
1.1.1 Agricoltura Convenzionale.....	2
1.1.2 Agricoltura Biologica.....	3
1.1.3 Il Mercato del Biologico.....	5
<b>1.2 L'importanza delle Cultivar Antiche</b> .....	8
<b>1.3 Aspetti Nutrizionali del Frumento</b> .....	13
1.3.1 L'amido .....	14
1.3.2 I Carboidrati Strutturali .....	16
1.3.3 Le Proteine.....	16
1.3.4 I Lipidi.....	18
<b>1.4 Aspetti Nutraceutici del Frumento Duro</b> .....	19
1.4.1 Le Fibre .....	19
1.4.2 I Polifenoli.....	21
1.4.3 I Flavonoidi.....	23
1.4.4 L'Attività Antiossidante .....	23
<b>1.5 Il Caso Studio KAMUT®</b> .....	24
1.5.1 Produzione Globale di Frumento Duro.....	26
<b>2. SCOPO</b> .....	<b>29</b>
<b>3. MATERIALE E METODI</b> .....	<b>31</b>
3.1 Collezione di Frumento Khorasan.....	31
3.2 Analisi dei Macronutrienti e Composti Funzionali.....	31
3.2.1 Proteine .....	31
3.2.2 Fibre .....	32
3.2.3 Amido Resistente e non Resistente .....	32
3.2.4 Polifenoli .....	33
3.2.5 Flavonoidi .....	33
3.3 Analisi Geostatistica.....	33
3.4 Analisi statistica delle aziende con 3 anni di sperimentazione .....	33
<b>4. RISULTATI E DISCUSSIONE</b> .....	<b>35</b>
4.1 Analisi Ambientale.....	35
4.1.1 Variabili Ambientali .....	36
4.2 Performance produttive .....	40
4.2.1 Resa .....	40
4.2.2 Peso Ettolitrico .....	42

4.2.3	Proteine .....	44
4.2.4	Amido Totale .....	46
4.2.5	Amido Resistente.....	49
4.3	Analisi dei composti funzionali .....	52
4.3.1	Fibre Solubili e Insolubili .....	52
4.3.2	Polifenoli e Flavonoidi .....	58
4.4	Analisi statistica delle aziende con 3 anni di sperimentazione.....	71
4.4.1	Effetto dei fattori principali sulle componenti analizzate.....	71
4.4.2	Performance produttive .....	72
4.4.3	Analisi composti funzionali .....	75
4.4.4	Analisi Path.....	81
5.	CONCLUSIONI.....	85
6.	BIBLIOGRAFIA.....	89
	Sitografia.....	98

# **1. INTRODUZIONE**

## **1.1 Agricoltura Convenzionale e Agricoltura a Basso Impatto**

L'uso sostenibile delle risorse necessarie alla produzione di cibo è attualmente argomento di grande interesse scientifico. Sempre più spesso, poi, i consumatori mostrano maggiore attenzione nel considerare non solo la qualità intrinseca dei prodotti ma anche la qualità estrinseca, legata alla filiera di produzione e, quindi, alla salvaguardia dell'ambiente nella sua più ampia accezione. L'attenzione verso il tema della sostenibilità, infatti, sia da parte dei consumatori che del mondo della produzione agroalimentare è oramai un pilastro saldo, ed è sempre più al centro delle politiche di sviluppo del nostro Paese. Tuttavia, gli attuali modelli di produzione, distribuzione e consumo alimentare inquinano costantemente l'ambiente e contribuiscono al cambiamento climatico. La moderna agricoltura ha determinato una crescente standardizzazione degli agroecosistemi, con conseguente perdita di biodiversità e delle risorse genetiche tradizionali, oltre ad una maggiore dipendenza dagli input "esterni" come i fertilizzanti di sintesi, i prodotti fitosanitari, l'energia da combustibili fossili. L'agricoltura moderna si deve confrontare, oltre che con problematiche pregresse (quali l'erosione, la siccità, la compattazione, la salinizzazione, l'inquinamento chimico del suolo e delle acque, la perdita di sostanza organica e lo sbilanciamento dei nutrienti) anche con le nuove criticità causate dalla rapida alterazione dei cicli biogeochimici di alcuni gas serra, dalla perdita di biodiversità e dall'insorgenza di nuovi parassiti e patogeni. Tutte queste problematiche stanno contribuendo pesantemente allo squilibrio dell'agro-ecosistema con ripercussioni sull'intero settore agricolo mondiale. Preso atto che non è perseguibile un incremento delle aree coltivate a livello mondiale, né un aumento della quantità di acqua per irrigazione, il recupero dei suoli e delle aree agricole antropizzate diviene pertanto una necessità. Per favorire una produzione alimentare sostenibile e competitiva, bisogna dunque, contribuire a sviluppare e promuovere una gestione sistemica a diversi livelli dell'agroecosistema, puntando ad incrementare la produzione agricola e salvaguardando, allo stesso tempo, l'ambiente e la salute umana. Inoltre, nel corso degli ultimi trent'anni si è verificata una profonda trasformazione del concetto di alimentazione; infatti mentre nel passato gli

alimenti erano considerati quasi esclusivamente come fattori indispensabili per lo sviluppo e la crescita dell'individuo, oggi viene riconosciuto loro un ruolo chiave nella determinazione della qualità della vita. Si è andato così sviluppando il concetto di alimenti funzionali cioè di alimenti capaci di svolgere, al di là dei normali effetti nutrizionali, un'azione benefica su una o più funzioni dell'organismo, per il miglioramento dello stato di salute e di benessere. I cereali, da sempre prodotti base della dieta mediterranea, possono rivestire un ruolo importante anche nella società moderna come materia prima per alimenti funzionali, in quanto contengono alcuni componenti regolatori di importanti funzioni vitali.

### **1.1.1 Agricoltura Convenzionale**

Con il termine agricoltura convenzionale si identifica di fatto l'agricoltura moderna e industriale che si diffuse a partire dal XX secolo con la "Rivoluzione Verde". Dalla seconda metà del Novecento, infatti, il paesaggio fu radicalmente modificato dal vertiginoso boom della produzione agricola ottenuto grazie alla selezione di piante ad alto rendimento, all'allevamento intensivo, allo sviluppo e la diffusione di prodotti agrochimici (pesticidi e fertilizzanti) e all'utilizzo di nuovi e moderni macchinari per la lavorazione dei campi. Inizialmente tutto ciò apparve come un successo senza precedenti. All'aumento della richiesta di cibo corrispondeva la crescita degli approvvigionamenti alimentari. Ben presto però, ci si rese conto che questa impennata produttiva avrebbe avuto costi ambientali e sociali enormi: la biodiversità agricola risultò drasticamente ridotta perché la scelta di coltivare nuove varietà migliorate e di allevare nuove razze di bestiame provocò l'estinzione di molte varietà locali e tradizionali; l'uso massiccio di pesticidi e altri prodotti chimici in alcune aree causò un serio degrado ambientale minacciando anche la salute pubblica. L'agricoltura convenzionale o chimica comporta un massiccio uso di fertilizzanti e pesticidi che possono contaminare l'ambiente circostante e danneggiare la struttura del suolo, favorendo alcuni fenomeni negativi quali: l'erosione, la perdita di sostanza organica e la riduzione della fertilità (Herencia et al., 2008). L'approccio agricolo convenzionale, dunque, sta probabilmente causando ancora oggi danni notevoli all'uomo e all'ambiente. L'uso massiccio di agrofarmaci ha determinato, nel tempo, grossi

problemi per l'intero agroecosistema, dovuti all'inquinamento delle falde acquifere, dei corsi d'acqua e dei terreni, contribuendo così al fenomeno della degradazione dei suoli. Lo stesso discorso vale per i concimi chimici che hanno provocato casi di contaminazione delle acque sotterranee e superficiali. Senza la "Rivoluzione Verde" le problematiche della fame e delle carestie sarebbero probabilmente ancora più gravi di quanto non siano oggi, ma attualmente si è passati dalla ricerca di una soluzione al problema di "sicurezza alimentare", inteso come quantità di cibo sufficiente per tutti, al cercare risposte alle preoccupazioni sulla "sicurezza ambientale", forse più difficili da risolvere. Di conseguenza, la crescente attenzione verso le sfide ambientali, economiche e sociali del nostro pianeta, ha ampliato la necessità di trovare un'alternativa ai sistemi agricoli convenzionali. L'agricoltura biologica, con la sua notevole e continua crescita, sembra essere una valida soluzione, anche se la sua effettiva sostenibilità risulta spesso fonte di grande scetticismo.

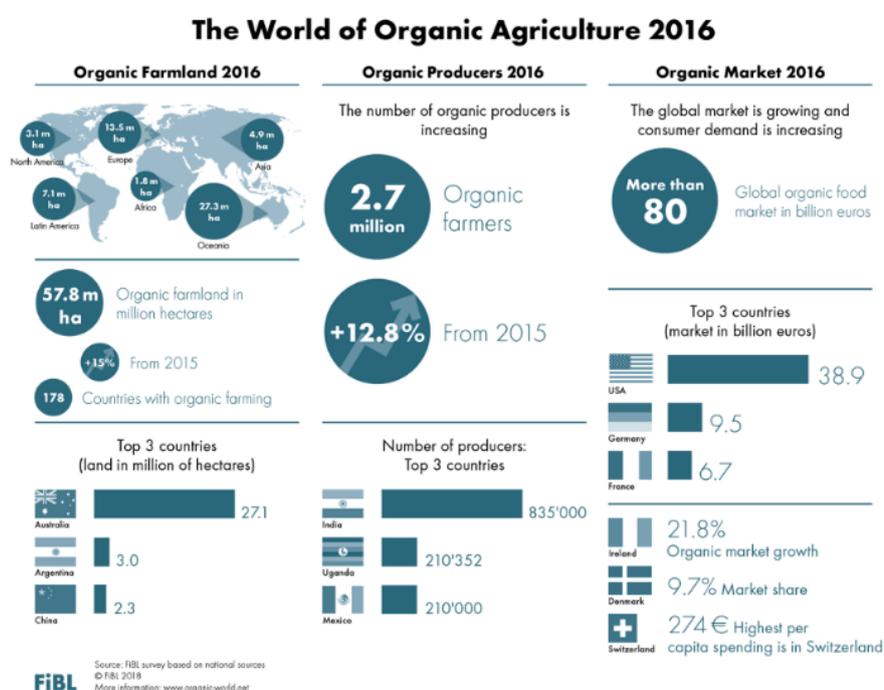
### **1.1.2 Agricoltura Biologica**

L'agricoltura biologica è nata nella prima metà del novecento, in Germania, Austria e Svizzera salvo poi estendersi successivamente nel resto d'Europa, compresa l'Italia. Inizialmente, però, non ebbe una grande diffusione in quanto il mercato non risultava molto vantaggioso soprattutto per via dell'aspetto poco invitante e l'elevato costo dei prodotti coltivati con questa metodologia. Solo a partire dagli anni Novanta, ci fu uno sviluppo sorprendente del settore biologico, col raggiungimento di standard qualitativi ed estetici elevati. Aumentò infatti la richiesta di tali prodotti soprattutto nel campo degli alimenti destinati alla prima infanzia e questo portò l'Unione Europea, nel 1991, ad emanare dei primi regolamenti riguardanti l'applicazione del biologico stesso (Reg. CEE 2092/91). Attraverso il termine "agricoltura biologica" si fa riferimento ad un metodo di coltivazione e di allevamento che ammette solo l'impiego di sostanze naturali, escludendo l'utilizzo di sostanze di sintesi (concimi di sintesi, diserbanti, insetticidi). Questa teoria indica il bisogno di sviluppare un modello di produzione che eviti lo sfruttamento eccessivo delle risorse naturali, soprattutto del suolo, ma anche dell'acqua e dell'aria, utilizzando invece tali risorse all'interno di un modello di sviluppo che possa durare nel tempo. Il punto centrale dell'agricoltura

biologica, infatti, è la salvaguardia e il mantenimento della fertilità del terreno; il principio appena enunciato risulta applicabile adottando appropriate tecniche colturali come la concimazione organica o i sovesci. Un altro principio fondamentale è costituito dalla rotazione colturale, andando ad alternare colture depauperanti del terreno a colture da rinnovo, quindi, miglioratrici. I vantaggi di questa tecnica, molto importante, sono riconducibili proprio alla salvaguardia del terreno in quanto non coltivando consecutivamente sullo stesso terreno la stessa pianta, da un lato si va ad ostacolare la diffusione dei parassiti principali delle specifiche colture e dall'altro si sfruttano in modo più razionale e meno intensivo le sostanze nutrienti del terreno. Per quanto riguarda le lavorazioni con mezzi meccanici, esse sono ridotte molto in quanto causano ripetuti turbamenti per l'assetto generale del terreno ed ostacolano il raggiungimento dell'equilibrio tra humus e sostanze da decomporre; proprio per questo, se vengono effettuate, vengono predilette quelle interessanti solo gli strati più superficiali. La difesa delle colture si effettua innanzitutto cercando di prevenire le varie malattie o parassiti, selezionando specie resistenti e, in caso di necessità, si interviene con sostanze naturali vegetali, quali estratti di piante ed insetti utili che predano i parassiti (lotta biologica). Esistono anche aspetti negativi in merito all'agricoltura biologica soprattutto a livello produttivo; in termini quantitativi infatti la resa produttiva risulta essere incostante e inferiore (dal 20 al 50%). Dal punto di vista qualitativo, è stata a volte riscontrata una maggiore contaminazione fungina sia in fase di coltivazione che in fase di immagazzinamento, con conseguente possibile produzione di micotossine. Tali composti sono caratterizzati da elevata tossicità e riconosciuta attività cancerogena (La Torre, 2002). Gli aspetti positivi nella difesa biologica riguardano in particolar modo il benessere e la salute dei consumatori, infatti, i prodotti biologici non presentano residui o impurità dovute ai diversi trattamenti chimici che vengono svolti durante una conduzione aziendale "convenzionale". Quest'ultimo punto è forse il più importante, all'interno del concetto del "biologico" in quanto abbassare i contenuti di queste sostanze diminuisce drasticamente gli effetti negativi che certi residui possono provocare, se somministrati quotidianamente, agli individui consumatori.

### 1.1.3 Il Mercato del Biologico

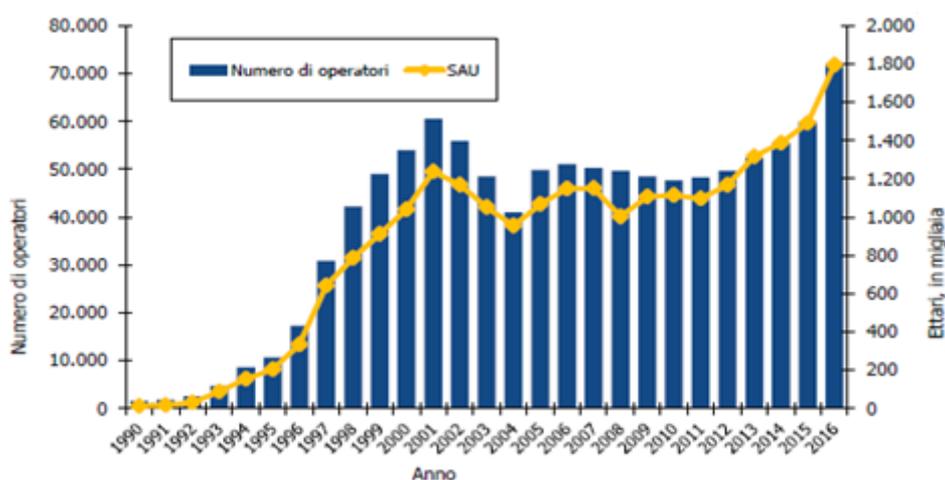
Secondo i dati presentati dall'Istituto svizzero FIBL e da IFOAM (International Federation of Organic Agriculture Movements) sono 80 i miliardi di euro di fatturato, 2,7 milioni di produttori coinvolti e 57,8 milioni gli ettari di terreno destinato all'agricoltura biologica a livello globale. Ottimo risultato per l'Italia che tra i paesi europei è quella con la più alta crescita di superficie coltivata. Infatti, come confermano le statistiche fornite dal *Sistema di Informazione Nazionale sull'Agricoltura Biologica* presso il MIPAAF (SINAB) siamo di fronte ad un incremento del mondo biologico, sia in termini di superficie che di numero di aziende e di fatturato.



**Figura 1.** Numeri del mercato biologico. Fonte: FIBL

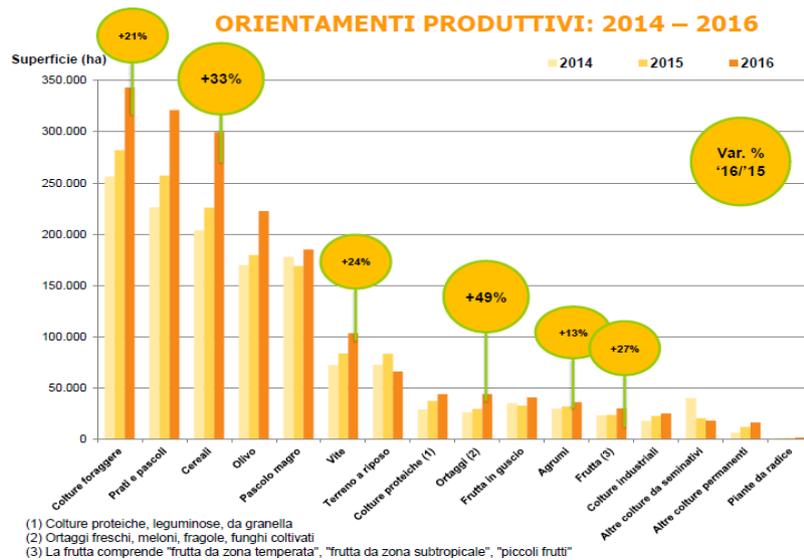
L'Italia si posiziona al secondo posto in Europa, dopo la Spagna e al quinto posto nel mondo per superficie biologica. A livello nazionale la superficie agricola destinata all'agricoltura biologica risulta essere molto importante, infatti, nel 2016 era pari a 1794.558 ettari, con un aumento complessivo rispetto all'anno precedente del 20.2%. Nel corso del 2015 si sono infatti convertiti al biologico oltre 104.000 ettari (SINAB, 2016). L'incidenza del biologico sul totale della

SAU nazionale secondo dati ISTAT (2013) rappresenta il 12% ed è in atto un costante aumento della cifra appena citata. Riguardo al numero di aziende certificate, i dati SINAB indicano che ne esistano circa 60 mila tra produttori, trasformatori, e, in misura residuale, importatori. Nel corso del 2015 hanno scelto di convertire la propria impresa oltre 4.500 operatori il che, rispetto ai dati del 2014, permette di rilevare un aumento complessivo del numero di operatori dell'8,2%. Questo dato conferma l'Italia ai primi posti tra gli operatori dei paesi europei (SINAB, 2016).



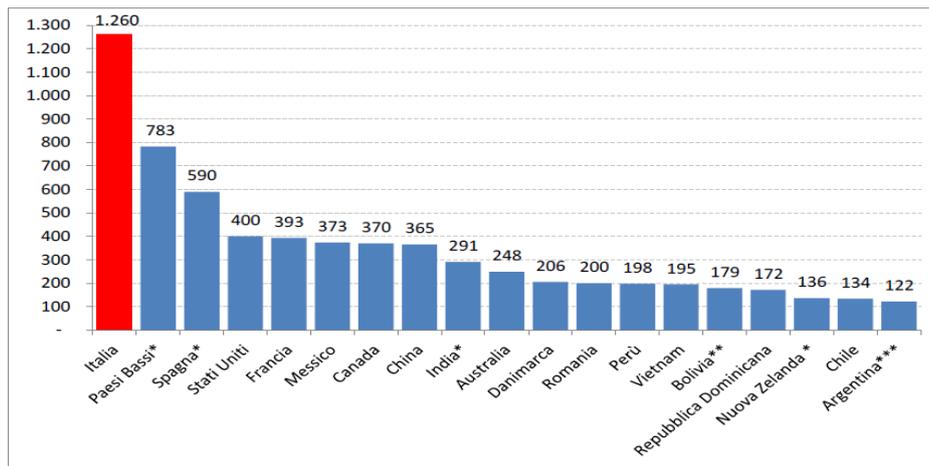
**Figura 2.** Andamento storico di operatori e superfici biologiche in Italia dal 1990 al 2016 (SINAB, 2016).

Il 47,6% della SAU biologica è investita a foraggiere e a prati e pascoli, più facilmente convertibili all'agricoltura biologica rispetto a colture più specializzate come, ad esempio, l'ortofrutta, la vite e l'olivo (SINAB, 2016).



**Figura 3.** Orientamenti produttivi per il settore biologico (SINAB, 2016)

Dal 2005 il mercato interno degli alimenti biologici nel nostro Paese risulta in continua crescita, raggiungendo, nel 2016, i 3,02 miliardi di Euro, incluse le vendite da parte di ristorazione, bar e food service (dati Ismea e Assobio). Se a tale valore si aggiunge quello delle esportazioni (1,91 miliardi di Euro), dirette prevalentemente verso l'Europa continentale e del Nord e, sebbene in misura più limitata, verso gli USA, il Giappone e i Paesi emergenti (in particolare, Cina, Federazione Russa, Brasile e Argentina), il mercato complessivo si attesta sui 4,93 miliardi di Euro (dati Ismea, Assobio e Nomisma, 2016). L'Italia, inoltre, è il paese maggior esportatore al Mondo di prodotti biologici tra quelli per i quali FIBL-AMI dispone del dato aggiornato al 2013, evidenziando, nel periodo 2007-2014, una crescita a un tasso di variazione media annuo del 9,5% (Dati Fibl-AMI e Nomisma per il 2014).



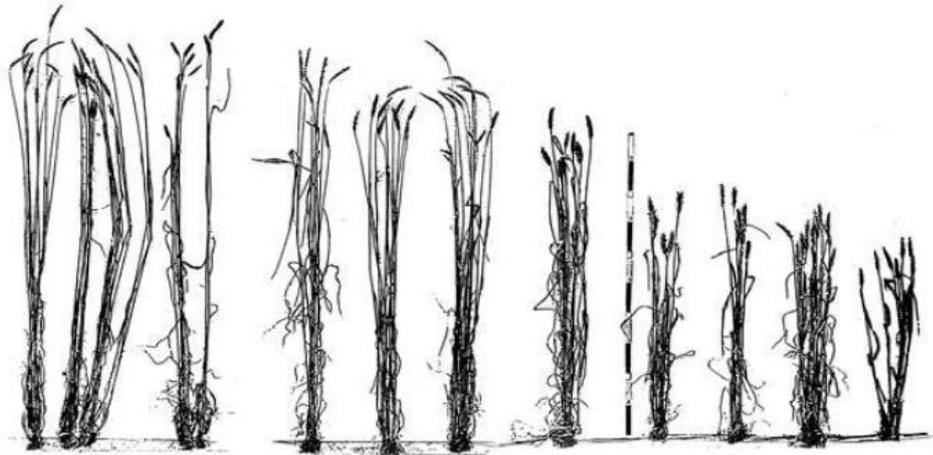
\* Dato al 2012; \*\* Dato al 2011; \*\*\* Dato al 2009

**Figura 4.** Valore delle esportazioni di prodotti biologici nel mondo (anno 2013 in euro) (fonte ISMEA, MIPAAF, 2016).

## 1.2 L'importanza delle Cultivar Antiche

Dall'inizio della vita stanziale delle popolazioni sono state coltivate le varietà di grano che maggiormente si adattavano alle condizioni pedo-climatiche della zona di permanenza; in questo modo, e non solo per il grano, si sono venuti a costituire diversi ecotipi di frumento con un'infinità di genotipi; questa caratteristica, definita successivamente *Biodiversità*, non è stata mantenuta con l'avvento della moderna agricoltura. Le varietà storiche sono state soppiantate da altre più produttive, più resistenti e più interessanti sotto il profilo economico e di mercato, causando una riduzione della base genetica con perdita di geni utili perché portatori di proprietà nutraceutiche, funzionali e salutistiche. Tali buone attitudini sono state riscoperte negli ultimi anni insieme al ritorno delle tecniche di coltivazione a basso impatto: la crescente attenzione alla salute ambientale e del consumatore hanno messo in discussione le cultivar di recente costituzione proprio per il loro bisogno di cospicui input agronomici. Tuttavia, al giorno d'oggi, la maggior parte dei prodotti a base di grano che consumiamo deriva da moderne varietà sviluppate dopo la cosiddetta "rivoluzione verde" (negli anni '60). L'introduzione dei geni nanizzanti ha portato a nuove linee di cultivar di grano duro ad alto rendimento e qualità tecnologica migliorata (De Vita et al., 2007a; 2007b). Sino a dopo la seconda guerra mondiale, infatti, furono realizzati intensi programmi di miglioramento genetico, che hanno portato alla progressiva

sostituzione delle razze locali con nuove *cultivars* a taglia ridotta (semi-dwarf), più resistenti all'alteamento, alle avversità biotiche e abiotiche e altamente produttive (high-yielding), con un conseguente ampliamento della disponibilità di varietà migliorate di frumento.



**Figura 5.** Riduzione della taglia dal '900 ad oggi. Si è passati da piante alte 1.5-1.6 m a piante di 60 cm.

Una delle caratteristiche che maggiormente ha determinato l'affermarsi delle moderne varietà oltre all'aspetto produttivo, è l'elevata forza del glutine, che garantisce un'ottima caratteristica tecnologica (impasti velocemente panificabili e paste resistenti alla cottura). Le migliori qualità tecnologiche delle farine e delle semole possono non trovare, però, correlazioni positive con le proprietà nutrizionali; negli ultimi anni, infatti, alcuni studi epidemiologici hanno dimostrato che l'elevata presenza di glutine di alta qualità tecnologica, produce una sensibilizzazione dell'organismo a questa proteina (S. Benedettelli, L. Ghiselli, T. Martinelli, 2013). Il tenore proteico della cariosside risente fortemente della concimazione azotata, sia nelle varietà storiche che in quelle moderne. Nelle farine ottenute da grani antichi la quantità di glutine risulta analoga (anzi spesso le varietà antiche hanno addirittura un contenuto totale di glutine superiore) a quella delle farine ottenute da cultivar moderne, pur variando la qualità (Logan, 1992). Secondo alcuni autori, il glutine delle varietà antiche contiene meno epitopi tossici rispetto alle moderne: particolari sequenze ricche di prolina e glutammina, amminoacidi riconosciuti dai linfociti nelle persone malate di celiachia (Van den Broeck et al., 2010). Merita comunque sottolineare che questo aspetto è ancora controverso, e non condiviso da alcuni autori, che viceversa non

hanno evidenziato alcuna differenza del glutine, in termini qualitativi tra frumenti di antica costituzione e quelli moderni (De Santis, et al., 2017). Le antiche varietà sono state recuperate grazie al lavoro di un gruppo di “Agricoltori Custodi”, che hanno continuato a produrre i frumenti dei loro avi, grani molto meno esigenti in fatto di nutrizione, cure e non selezionati solo per avere maggiori rese o per essere più adatte alle lavorazioni industriali, quindi decisamente appropriate alla coltivazione biologica e biodinamica e ai sistemi di lavorazione rispettosi di tutti i componenti utili contenuti nel chicco; sono frumenti dotati di un alto contenuto proteico, in particolare una buona composizione delle proteine che compongono il glutine. Si ritiene siano presenti anche notevoli quantità di componenti minori come le fibre solubili e insolubili, acidi grassi, lipidi, vitamine ma le prove finora effettuate non risultano ancora sufficienti per avere dei dati precisi. In generale è comunque certo che le varietà di frumenti antichi sono portatrici di una qualità pregiata sotto il profilo organolettico, di apporto di nutrienti e di composti funzionali che hanno sviluppato durante la loro evoluzione proprio per difendersi dagli input esterni sfavorevoli. Tali condizioni non si verificano nel caso di utilizzo di varietà moderne coltivate in regime convenzionale poiché alla difesa delle piante interviene la tecnica agronomica (biocidi, fertilizzanti, ecc.); questi caratteri sono stati via via abbandonati per far posto a geni adeguati che possano incrementare le rese, sopportare dosi massicce di fertilizzanti, non subire gli stress ambientali ed essere lavorati velocemente dalle industrie producendo trasformati dalla qualità standard. Infatti, dalla fine della seconda guerra mondiale, con l'avvio della Rivoluzione Verde il frumento è diventato una coltura sempre più importante sia per l'estensione degli ettari coltivati che per l'industria di trasformazione. Grazie al miglioramento genetico sono state aumentate le attitudini produttive e le resistenze agli stress abiotici e biotici ma, potenziando i geni portatori di questi caratteri, sono stati tralasciati quelli caratterizzanti il contenuto in micro e macronutrienti e composti funzionali. La moderna industria di trasformazione richiede grani molto proteici, con un alto tenore di glutine, per essere più adatti all'impasto veloce ed avere ridotti tempi di lievitazione e per anni la genetica ha lavorato in questa direzione trasformando una pianta naturalmente produttrice di amido in produttrice di proteine, quasi al pari delle leguminose. Le moderne varietà sono ottime in coltura intensiva, gestita con forti input, consumi

energetici (carburanti da fonti non rinnovabili) e uso di prodotti derivati dalla chimica (agrofarmaci e concimi). Sono state ridotte le altezze del culmo portandole ad un habitus seminano o nano (al massimo 90 cm) così da poter sopportare grosse quantità di concimi, in particolare quelli azotati che fanno accumulare proteine e carboidrati nella cariosside ma che, nelle varietà alte, provocano l'allettamento del culmo con conseguenti perdite di raccolto. Queste varietà basse non sono competitive verso le erbe infestanti perciò bisogna sostenerle almeno all'inizio del ciclo vitale con diserbanti chimici. Oltre a questo, si aggiunge il fatto che sono state selezionate e riprodotte piante che investono il carbonio nella sola produzione di metaboliti primari (carboidrati, lipidi e proteine), considerando il metabolismo secondario, che produce, tra gli altri, composti importanti come flavonoidi, antociani e arabinoxilani, un investimento di energie inutile. Le varietà antiche, infatti, presentano un quadro metabolico secondario più complesso. In figura 6 è riportato un confronto metabolico tra 6 cultivar moderne (blu) e 15 varietà antiche (rosso). Nelle analisi delle cariossidi sono stati ricercati 35 composti polifenolici con proprietà nutraceutiche e, da come si evince dalla figura, nelle varietà antiche ne sono stati rilevati 33 a fronte delle 22 trovate nelle moderne (Dinelli et al., 2007).

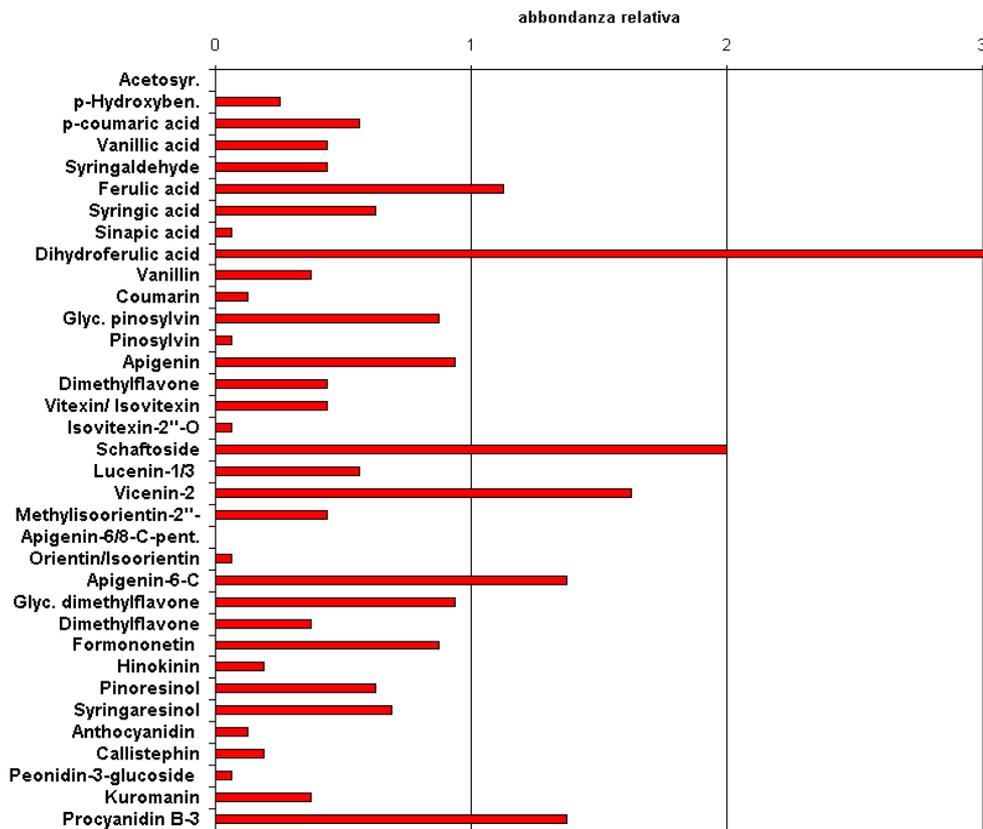
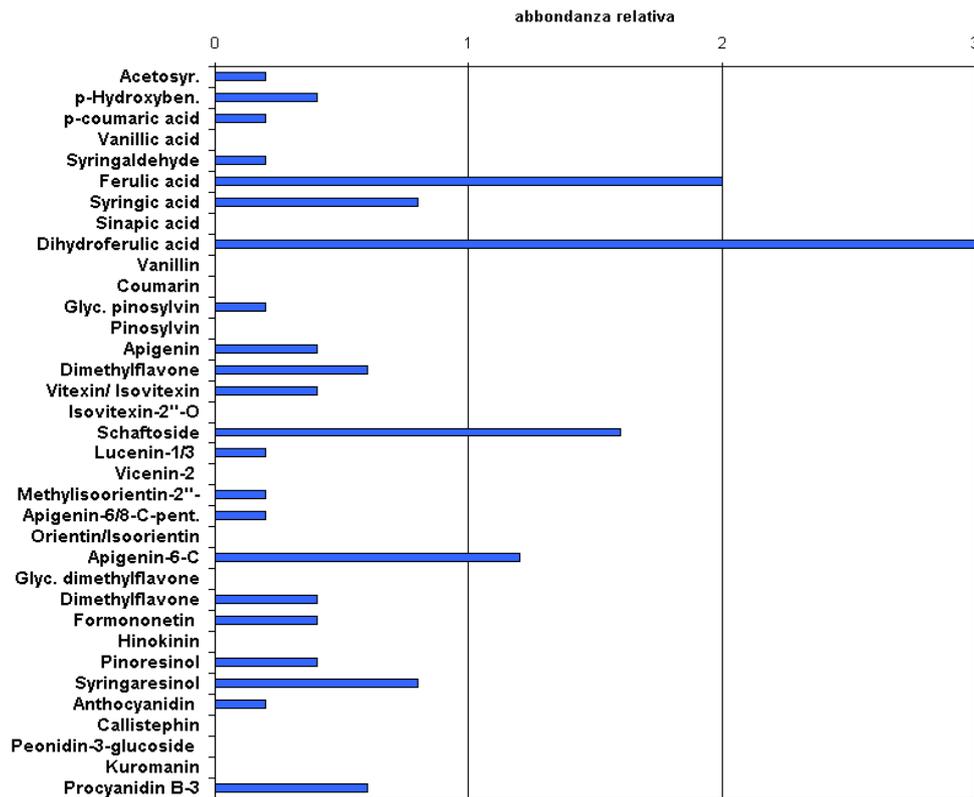


Figura 6. Confronto dei metaboliti secondari fenolici tra varietà storiche e cultivar moderne.

Si può concludere che le cultivar di nuova costituzione sono dipendenti in tutto e per tutto dalla chimica e negli ultimi anni hanno indotto diverse discussioni per il loro impatto sull'ambiente riguardo al potenziale inquinamento epigeo ed ipogeo da parte dei principi attivi che si usano nei trattamenti e per l'uso massiccio di carburanti derivati dal petrolio. L'opinione pubblica ha preso sempre maggiore coscienza dei problemi che può creare questo tipo di sfruttamento delle risorse e si è avvicinata ai concetti di biologico e al pensiero di poter aiutare la propria salute anche mangiando cibi che contengano composti nutraceutici. Visto che il frumento e i suoi derivati sono alla base della nutrizione mondiale, la promozione delle proprietà salutistiche in questo comparto diviene molto importante. Inoltre, questi "grani antichi" essendo popolazioni o materiale eterogeneo hanno dimostrato una forte adattabilità ai sistemi agricoli biologici rispetto alle cultivar moderne. Questa peculiarità adattativa fa sì che all'interno della popolazione, in funzione delle variazioni climatiche annuali, vi siano individui con fitness maggiori e minori. La popolazione risulta così avere un adattamento ondulatorio compensativo in funzione del clima mantenendo però una produzione costante, in più, data la plasticità genomica, le piante tenderanno ad aumentare la fitness in funzione della variazione climatica. La popolazione quindi tenderà ad adattarsi alle necessità di coltivazione e alle caratteristiche ambientali della zona nella quale si sviluppa. Più la base genetica della popolazione è ampia, maggiore sarà la sua capacità di adattamento alle continue variazioni climatiche. La capacità adattativa e produttiva dei frumenti antichi è stata comprovata da diversi studi, la loro rusticità, la richiesta di minori input e la loro diversità genomica garantisce ottimi risultati in agricoltura biologica a discapito delle varietà più moderne.

### **1.3 Aspetti Nutrizionali del Frumento**

Il frumento, come tutti gli altri cereali, presenta delle caratteristiche tali da averli resi da sempre presenti nella dieta delle popolazioni; il seme è povero d'acqua, ha il 13% di umidità che lo rende pratico e sicuro da conservare anche per lunghi periodi e può dare produzione in un'ampia varietà di climi ed ambienti. Nella dieta mediterranea (patrimonio dell'Unesco) il frumento rappresenta 1/3 del fabbisogno giornaliero di energia (in un soggetto adulto) fornendo 320 Kcal/100

gr, che provengono in maggioranza da carboidrati a lento assorbimento e solo per il 15% da proteine a basso tenore nutritivo.

Il chicco di grano, botanicamente è un frutto secco definito cariosside, rivestito dal pericarpo (8-10% del peso totale) che racchiude l'endosperma (75-83%) al cui interno si trova l'embrione (17% del peso totale). La crusca è costituita dai 6 strati di cellule morte del pericarpo e dallo strato di cellule rettangolari (aleurone), il più esterno dell'endosperma; la crusca, insieme all'embrione, viene separata dal resto della cariosside a causa dell'alto contenuto di grassi e oli che irrancidiscono e alterano la qualità e la conservabilità della farina ma bisogna anche considerare che con l'aumentare del processo di raffinazione, togliendo molti lipidi e amminoacidi essenziali, cala l'apporto nutritivo. L'endosperma è la riserva di energie che verrà sfruttata dall'embrione durante la germinazione, contiene il 75-80% amido, il 10-15% di proteine, piccole quantità di zuccheri (glucosio, emicellulose, fruttosani) e vitamine. Complessivamente l'endosperma contiene quasi tutto l'amido, il 90% delle proteine, il 43% di acido pantotenico (vitamina B5), il 32% di vitamina B2, il 12% di vitamina PP (B3); l'embrione racchiude il 2-3% degli oli e grassi contenuti nella cariosside, l'8% delle proteine, il 64% della vitamina B1 (tiamina) e il 21% della vitamina B6 (piridossina). La crusca nel suo complesso quindi corrisponde al 14-20% del peso dell'intera cariosside e contiene il 19% delle proteine, l'86% della vitamina B3, il 50% della proteina B2 (riboflavina), il 31% della vitamina B1 e gran parte dei sali minerali.

### **1.3.1 L'amido**

I glucidi, più comunemente denominati carboidrati o zuccheri, rappresentano il costituente preponderante delle cariossidi dei cereali. Particolarmente rappresentati sono, sotto forma di granuli di amido, due polimeri del D-glucosio, l'*amilosio* e l'*amilopectina*. L'amido ha essenzialmente funzioni di riserva ed è localizzato esclusivamente nell'endosperma della cariosside, sotto forma di granuli piccoli o di tipo B (0,2- 1 millesimi di millimetro di diametro) e granuli grandi o di tipo A (10-20 millesimi di millimetro di diametro).

L'amilosio è un polimero lineare formato da diverse migliaia di unità di glucosio; l'amilopectina, anch'essa costituita da solo glucosio, presenta invece una struttura

molecolare ramificata, di dimensioni notevoli. Nel granulo d'amido di quasi tutti i cereali l'amilosio rappresenta solo il 20-25% dell'amido, ma questi valori possono essere inferiori nelle varietà cosiddette cerose (o *waxy*). La possibilità di intervenire e manipolare il rapporto amilosio/amilopectina nei cereali può dare origine ad alcune interessanti prospettive correlate sia ad ottimizzare alcuni processi industriali (quali il prolungamento della *shelf-life* dei prodotti finiti) sia inerenti la salute umana e la nutrizione (ottenimento di alimenti con basso indice glicemico) (Lafiandra *et al.*, 2010). La disposizione di amilosio e amilopectina all'interno del granulo non è casuale ma organizzata secondo una precisa struttura che gli conferisce, peraltro, proprietà semicristalline. L'amido è insolubile in acqua a fredda, ma cambia totalmente il proprio comportamento se, in presenza d'acqua, è sottoposto a riscaldamento: a partire dai 50-60 °C, i granuli sono interessati dal fenomeno della gelatinizzazione. Inizialmente si realizza un sensibile rigonfiamento della struttura amilacea con incremento della viscosità del sistema, cui segue la rottura della struttura così rigonfiata con fuoriuscita e parziale solubilizzazione del materiale amilaceo nell'acqua, e formazione di quella che è comunemente definita *salda d'amido*. A seguito di tali trasformazioni l'amido è reso così disponibile in numerose preparazioni industriali, come agente addensante o stabilizzante di gel ed emulsioni, o ancora come agente legante (Sajilata *et al.*, 2006; Flagella 2006). La gelatinizzazione induce interessanti modificazioni sulla digeribilità dell'amido stesso: infatti le macromolecole di amido gelatinizzato sono più facilmente idrolizzabili ed attaccabili da parte dei sistemi enzimatici della digestione (*alfa* e *beta* amilasi) (Holm *et al.*, 1988; Lucisano & Pagani, 1997). Un altro fenomeno associato alla natura biochimica dell'amido è invece la cosiddetta retrogradazione. Tale fenomeno, indotto dal raffreddamento, viene determinato dalla riorganizzazione della struttura amilacea attraverso la formazione di legami intermolecolari delle macromolecole costituenti l'amido. Questo fenomeno, può ridurre la digeribilità dell'amido e contribuire a rendere rafferma il pane e altri prodotti da forno. Recenti studi hanno evidenziato che ai granuli di amido di alcuni cereali (in particolare nel frumento tenero) sono associate alcune particolari proteine della classe delle triptofanine, le puoindoline; queste, anche se presenti in percentuale bassissima, svolgono una funzione nel definire la durezza delle cariossidi (*hardness*) e pertanto sono

correlate alla qualità tecnologica definita dalla macinazione (Cannella & Pogna, 2007). Queste proteine sono comunemente assenti nel frumento duro e determinano pertanto l'ottenimento di sfarinati più grossolani e una maggiore frantumazione dei granuli di amido che risultando maggiormente "danneggiati" si prestano ad assorbire più acqua durante l'impasto. L'amido contenuto nel frumento duro, così come quello di molti cereali (Mikulikova *et al.*, 2006), è costituito in parte da una frazione cosiddetta "resistente" che non viene attaccata dagli enzimi della digestione e svolge funzioni favorevoli al nostro metabolismo, alle quali si farà riferimento nel paragrafo successivo. Nella cariosside matura dei cereali si ritrovano infine (in modeste quantità) forme più semplici di carboidrati, quali glucosio, fruttosio, maltosio e saccarosio (Flagella, 2006). La concentrazione di molte di queste molecole può sensibilmente aumentare a seguito della germinazione, complesso fenomeno che mobilita tutte le sostanze di riserva della cariosside per poter dare luogo allo sviluppo di una nuova pianta.

### **1.3.2 I Carboidrati Strutturali**

I carboidrati sono rappresentati da molecole con funzione biologica strutturale. Tra queste troviamo la cellulosa, un polimero costituito da solo beta-glucosio, non idrolizzabile da parte dei sistemi amilolitici, che rientra nella frazione della fibra alimentare. L'effetto positivo di quest'ultima sulla peristalsi intestinale è stato ampiamente descritto in letteratura scientifica. Un altro interessante componente delle pareti cellulari è rappresentato dalla frazione dei pentosani, polimeri assai complessi formati da zuccheri diversi dal glucosio (pentosi) (Flagella, 2006). I pentosani sono presenti in forme diverse per dimensioni, composizione e solubilità. In questi ultimi anni è stato loro riconosciuto un ruolo attivo anche nella formazione dell'impasto, dovuto all'elevata capacità di legare acqua.

### **1.3.3 Le Proteine**

Le proteine presenti nei cereali sono distribuite in percentuale diversa a seconda della regione del chicco. Sebbene interessanti per quantità (la loro percentuale nella sostanza secca oscilla mediamente tra l'8% ed il 16% circa dell'intero chicco), si può affermare che la componente proteica dei cereali, soddisfa solo in parte le esigenze nutrizionali dell'uomo in quanto carente di alcuni amminoacidi

cosiddetti essenziali, come la lisina e il triptofano.

Le molecole proteiche contenute nelle cariossidi del grano duro possono essere suddivise in 4 differenti classi a seconda della loro solubilità: albumine e globuline (proteine solubili in acqua, che sono proteine con funzioni enzimatiche), gliadine e glutenine (proteine insolubili in acqua, che hanno funzione di riserva).

### **1.3.3.1 Le Proteine Solubili**

La maggior parte di queste proteine è localizzata negli strati esterni della cariossidi di frumento (aleurone) e nell'embrione; altre sono distribuite nell'endosperma. Le albumine sono più numerose rispetto alle globuline. La principale differenza nella composizione amminoacidica tra le proteine che costituiscono il glutine e le albumine e globuline, è che queste ultime hanno un basso contenuto in triptofano, asparagina, glutammato e maggiore contenuto in lisina. È stato osservato che le proteine solubili comprendono enzimi metabolici, idrolitici, inibitori di enzimi (Payne and Rhodes, 1982). Sono presenti, inoltre, le triticine, che rappresentano circa il 5% delle proteine totali del seme e sono note come allergeni. Un'ampia caratterizzazione delle proteine metaboliche è stata eseguita da Vensel et al. (2005). Usando un approccio classico basato su elettroforesi 2D, sono state identificate in questa frazione 254 proteine, coinvolte in 13 differenti processi biochimici tra i quali: reazioni di interconversione ATP, metabolismo dei carboidrati, divisione cellulare, citoscheletro, metabolismo dei lipidi, metabolismo dell'azoto, sintesi e assemblaggio delle proteine, turnover proteico, segnali di trasduzione, proteine di riserva, stress/difesa, trascrizione/traduzione e trasporto.

### **1.3.3.2 Le Proteine Insolubili**

La qualità e la quantità delle proteine costituenti il glutine sono i maggiori fattori che influenzano le caratteristiche tecnologiche delle farine di frumento ed in particolare le proprietà visco-elastiche degli impasti da esse ottenute, quali l'estensibilità, l'elasticità e la loro forza (Shewry and Tatham, 1997). Gliadine e glutenine si organizzano in un reticolo complesso stabilizzato da legami covalenti (legami disolfuro) e da legami di natura secondaria (legami ad idrogeno e di

natura idrofobica) e costituiscono circa l'80% delle proteine totali (Seilmeier, 1991, Belton, 1999; Shewry et al., 2001). In particolare, mentre le glutenine sono proteine polimeriche le cui singole unità componenti sono unite fra di loro da legami disolfuro inter-molecolari e conferiscono agli impasti le caratteristiche di forza ed elasticità, le gliadine sono proteine monomeriche che prendono parte alla formazione del glutine mediante legami idrogeno inter-catena, grazie ai numerosi residui di glutammina presenti, e mediante legami di natura idrofobica fra le catene non polari degli amminoacidi. Le gliadine sono i componenti più importanti nel determinare le caratteristiche di estensibilità dei relativi impasti (Khatkar et al., 2002).

### **1.3.4 I Lipidi**

I lipidi della granella di frumento, pur costituendo una componente minore, si trovano in tutte le parti anatomiche della cariosside in un'ampia varietà di forme ed assolvono ad importanti funzioni fisiologiche, strutturali e di riserva (Konopka et al., 2004). La cariosside di frumento è costituita da lipidi per una percentuale dell'1,5-2%. In generale i cereali sono poveri in lipidi. I lipidi presenti nella cariosside di frumento sono sia di tipo polare (glicolipidi e fosfolipidi) che apolare (soprattutto trigliceridi). Una parte di essi si lega all'amido formando gli amido-lipidi; un'altra parte si lega alle proteine della farina durante la lavorazione dell'impasto influenzando notevolmente le caratteristiche reologiche (Goesaert et al, 2005). D'altro canto i loro derivati volatili possono conferire l'aroma ai prodotti cerealicoli. Di tutte le frazioni, soprattutto la composizione dei lipidi liberi ha un impatto considerevole sulle proprietà tecnologiche della farina. L'effetto dei glicolipidi liberi è ben documentata, specialmente per mono e digalatto-gliceridi che sono quelli correlati più positivamente (Bekes et al, 1986; Ohm e Chung, 2002). La cosiddetta frazione lipidica della granella comprende anche i pigmenti responsabili del colore di pasta e semola, che è un carattere essenziale nel determinare la qualità della pasta. Il colore è il risultato di una componente gialla desiderabile e di una componente bruna dovuta allo sviluppo di colori indesiderabili. I pigmenti gialli dell'endosperma includono tre classi principali di composti: xantofille, carotenoidi e flavoni. I carotenoidi si trovano in tutte le parti anatomiche della cariosside, e il frumento duro ha un contenuto in pigmenti gialli

marcatamente superiore rispetto alle specie esaploidi.

#### **1.4 Aspetti Nutraceutici del Frumento Duro**

Negli ultimi anni studi epidemiologici hanno associato il consumo di cereali integrali e derivati ad una ridotta incidenza di malattie cardiovascolari, diabete e cancro (Fardet et al.,2010; Gil. et al.,2011). È stato, inoltre, recentemente dimostrato come siano gli effetti additivi e/o sinergici dei diversi composti bioattivi a determinare l'effetto protettivo degli alimenti piuttosto che i composti singoli (Eberhardt et al., 2000). Gli effetti salutistici del consumo di granella sono stati, tuttavia, molto meno indagati rispetto a quelli dovuti a prodotti ortofrutticoli nonostante le linee guida della nutrizione pongano i cereali ed i loro derivati alla base della piramide alimentare tradizionale. Questi positivi effetti salutistici sono stati attribuiti a composti biologicamente attivi (nutraceutici) tipici dei cereali e presenti nelle diverse componenti della cariosside, pericarpo, germe ed endosperma.

##### **1.4.1 Le Fibre**

Il valore salutistico del frumento duro è strettamente legato al contenuto in fibra. La fibra alimentare è una miscela molto complessa di polisaccaridi ed oligosaccaridi quali cellulosa, emicellulosa, pectine, gomme e  $\beta$ -glucani e di sostanze ad essi associati quali composti fenolici, lignani e lignina. Essa è definita come “parti di pianta commestibili o carboidrati analoghi resistenti alla digestione e all'assorbimento nell'intestino tenue e soggetti a completa o parziale digestione nell'intestino crasso” (Mongeau, 2003). Gli effetti fisiologici della fibra alimentare dipendono dalla sua struttura chimica, dal suo stato fisico e dai composti ad essa associati. Gli effetti fisiologici delle sostanze associate alla fibra comprendono: azione antiossidante, modulazione dell'attività enzimatica e aumento della massa fecale. La fibra è convenzionalmente classificata in due categorie in relazione alla solubilità in acqua: fibra dietetica insolubile (cellulosa, parte delle emicellulose e lignina) e fibra dietetica solubile (pentosani, pectine, gomme e mucillagini). L'effetto fisiologico principale connesso all'assunzione di fibra dietetica insolubile è il miglioramento della peristalsi intestinale legato alla capacità di trattenere acqua ed all'influenza sulla viscosità (Schneeman, 1999).

D'altro canto la fibra solubile ha molteplici funzioni: rappresenta un buon substrato per alcuni ceppi di batteri lattici e bifido batteri, benefici per la salute intestinale, svolgendo quindi un'azione prebiotica e, inoltre, è in grado di controllare l'indice glicemico e di ridurre il colesterolo plasmatico (Marotti et al., 2012). Il meccanismo di queste sostanze non è ancora del tutto noto, tuttavia la correlazione inversa esistente fra l'assunzione di fibre solubili ed il rischio di malattie cardiovascolari e di cancro è fermamente stabilito ed attestato dalla Food and Drug Agency.

#### **1.4.1.1 I Betaglucani**

I betaglucani sono polisaccaridi non amidacei, lineari, costituiti da molecole di glucosio unite insieme da legami glicosidici  $\beta$  (1-3) e  $\beta$  (1-4). Sono componenti della fibra solubile, capaci di apportare diversi effetti benefici alla salute umana. I betaglucani mostrano comprovate capacità ipocolesterolemizzanti, ed inoltre se introdotti nell'alimentazione quotidiana, hanno un effetto positivo anche sulla glicemia postprandiale e sulla risposta insulinemica. Sono inoltre in grado di aumentare il senso di sazietà fornito da un alimento, grazie ad un'ottima capacità di trattenere l'acqua. Numerosi studi clinici attribuiscono ai betaglucani anche un'attività prebiotica, sono in grado di favorire la selezione e la crescita nell'intestino della flora batterica lattacida (bifidobatteri, lattobacilli) la cui fermentazione produce acidi grassi a catena corta (SCFA). Gli SCFA sembrano in grado di diminuire l'incidenza di varie patologie del colon. Per poter beneficiare dei loro molteplici effetti salutistici è consigliato un apporto giornaliero di almeno 3 g di betaglucani, come suggerito dall'European Safety Authority (EFSA Journal 2009).

#### **1.4.1.2. Gli Arabinoxilani**

Gli arabinoxilani (AX) costituiscono la componente principale della fibra alimentare della cariosside di frumento. Essi possono costituire fino al 50% della fibra alimentare e sono presenti principalmente nella crusca e nello strato aleuronico (Marotti *et al.*, 2012). Gli AX sono emicellulose costituite da una catena di xilosio con catene laterali di arabinosio, nella cui struttura i residui di arabinosio possono anche essere sostituiti con molecole di acido ferulico

(Wakabayashi *et al.*, 2009).

Oltre al loro importante ruolo nutrizionale come componente della fibra, gli AX del frumento sono stati ampiamente studiati negli ultimi 50 anni per le funzioni svolte durante il processo di trasformazione, derivante soprattutto dalla capacità degli arabinoxilani solubili di formare soluzioni altamente viscosi e degli arabinoxilani insolubili di adsorbire acqua e rigonfiarsi (Courtin and Delcour, 2002). Gli AX rappresentano inoltre una nuova classe di composti prebiotici perché costituiscono un valido substrato per il metabolismo della flora intestinale del colon, capace di degradarli attraverso l'azione selettiva di enzimi endoxilanasici (Vardakou *et al.*, 2008). Il contenuto in AX della granella di frumento è altamente variabile e dipende sia fattori genetici che ambientali.

#### **1.4.2 I Polifenoli**

I polifenoli costituiscono la più rappresentativa classe di antiossidanti nel frumento ed esercitano elevata attività antiossidante agendo come *radical scavenger*. Studi epidemiologici in letteratura hanno dimostrato il loro ruolo nella prevenzione di tumori e in numerose patologie cardiovascolari (Fardet *et al.*, 2010). Nella cariosside di frumento, i composti fenolici sono accumulati principalmente negli strati più esterni della cariosside e possono esistere in forma solubile (liberi) o insolubile (legati). Spiccate proprietà benefiche sono state dimostrate per entrambe le frazioni fenoliche, in particolare per la loro azione anti radicalica. Inoltre, i composti fenolici insolubili, legati alle componenti della parete cellulare (es. arabinoxilani), possono resistere al processo di digestione e raggiungere il colon, dove sono parzialmente degradati dalla microflora intestinale. La frazione fenolica così liberata può esercitare direttamente i suoi benefici effetti, riducendo l'incidenza di cancro al colon, poiché essendo assorbiti dalle cellule endoteliali possono esercitare in loco una potente azione protettiva (antiossidante) (Kroon *et al.*, 1997). Durante lo sviluppo della cariosside, l'accumulo di composti fenolici può variare in funzione del genotipo e dell'ambiente. Precedenti studi hanno evidenziato un'elevata variabilità nel contenuto in polifenoli sia tra diverse varietà di frumento che tra diversi ambienti di coltivazione, specialmente in relazione alle condizioni ambientali e alle pratiche colturali adottate (Flagella, 2006). Generalmente, si ritiene che il

frumento prodotto in agricoltura biologica possa presentare un contenuto in composti fenolici maggiore rispetto alle varietà allevate in regime convenzionale, in seguito a un cambiamento del metabolismo della pianta verso la sintesi di composti contenenti carbonio (inclusi metaboliti secondari non azotati come polifenoli e flavonoidi). In accordo all'ipotesi del bilancio carbonio/azoto, la bassa disponibilità di azoto tipica dei sistemi biologici indurrebbe l'attivazione della via metabolica dei fenilpropanoidi, promuovendo la biosintesi di fenoli piuttosto che di proteine e di altri composti contenenti azoto (Kovacik et al., 2007). Tuttavia, i risultati disponibili in letteratura sono altamente contrastanti. Ad esempio, Zuchowski *et al.* (2011) ha rilevato un maggior contenuto in acidi fenolici nel frumento coltivato in conduzione biologica rispetto ad una coltivazione convenzionale.

Oltre alla funzione antiossidante, i polifenoli svolgono anche altre due tipologie di azioni:

- **IPOGLICEMIZZANTI:** Riducono la concentrazione di glucosio ematico post-prandiale, grazie alla loro capacità di inibire gli enzimi digestivi ( $\alpha$ -amilasi). Questo porta a un'incompleta digestione e conseguente mancata internalizzazione delle molecole glucidiche nell'enterocita. L'effetto dei polifenoli nel mantenere basso l'indice glicemico è dato da un'azione di queste molecole non solo a livello intestinale, ma più in generale con un intervento a livello sistemico. Essi infatti agiscono andando a stimolare la secrezione dell'insulina da parte delle cellule-pancreatiche, favorendo l'internalizzazione del glucosio all'interno delle cellule, riducendo il rilascio di glucosio epatico e permettendo quindi un mantenimento delle riserve di glicogeno.
- **CHELANTI:** i polifenoli e i flavonoidi hanno la capacità di chelare ioni metallici riducendone la presenza, che può favorire reazioni ossidative; in particolar modo, essi possono chelare gli ioni ferro e rame, impedendo la reazione di Fenton, una delle più importanti vie di formazione delle specie reattive dell'ossigeno (Morel et al., 1994).

### **1.4.3 I Flavonoidi**

I flavonoidi sono una classe di composti chimici, appartenenti al gruppo dei polifenoli, caratterizzata dalla presenza di due anelli aromatici uniti da un anello eterociclico, derivato dalla ciclizzazione di un residuo propanico. Fino ad oggi sono state identificate oltre 4000 strutture chimiche appartenenti alla classe dei flavonoidi. Le proprietà benefiche dei flavonoidi per l'organismo umano sono note già dagli anni '30. Inizialmente furono scoperti per la loro azione riparatoria dei danni provocati dallo scorbuto (dovuto a carenza di vitamina C), e furono identificati come vitamina P. Solo successivamente si scoprì che la cosiddetta vitamina P non era un'entità isolata ma una miscela di flavonoidi, i cui effetti migliorano l'assorbimento della vitamina C, sia sostituendosi ad essa in alcune funzioni biologiche sia proteggendola dall'ossidazione. Infatti la principale e più importante proprietà dei flavonoidi è data dalla loro capacità di agire come antiossidanti, neutralizzando i radicali liberi, molecole formate essenzialmente da ossigeno, che presentano uno o più elettroni liberi. Essi creano una situazione di grande instabilità nell'organismo finché il radicale non trova un'altra molecola a cui legarsi, scatenando così una serie di reazioni ossidative a catena. La stabilizzazione dei radicali liberi avviene attraverso una delocalizzazione o un legame idrogeno intramolecolare, o per mezzo di un'ulteriore ossidazione grazie ad una reazione con un altro radicale (Shahidi and Wanasundara, 1992). In genere un elettrone del gruppo ossidrilico del flavonoide viene donato ad un radicale libero, che è quindi stabilizzato ed inattivato. In questo processo il flavonoide diventa anch'esso un radicale, che risulta però più stabile e può fermare la catena ossidativa lesiva.

### **1.4.4 L'Attività Antiossidante**

Sembra che il principale effetto positivo della granella integrale di cereali sia la capacità antiossidante totale. È noto, infatti, che l'assunzione di antiossidanti mediante la dieta possa determinare un rafforzamento della barriera di protezione cellulare nei confronti dei fenomeni ossidativi (Duthie et al., 1996). Uno studio

condotto da Adom e Liu (2002) ha messo a confronto la capacità antiossidante totale della granella integrale di diverse specie cerealicole (mais, frumento, avena, riso) evidenziando che il frumento è al secondo posto preceduto dal mais e seguito da avena e riso. La maggior parte dei composti antiossidanti è costituita da composti fenolici, tocoli e carotenoidi (Adom e Liu, 2002). La granella dei cereali è ricca in acidi fenolici le cui quantità totali possono arrivare a 500 mg kg<sup>-1</sup>, mentre i flavonoidi sono presenti in piccole quantità (Senter et al., 1983). Adom e Liu (2002) e Carcea et al. (2003) hanno riportato che l'acido ferulico è il principale composto fenolico presente nel frumento e che i composti fenolici legati sono i principali responsabili dell'attività antiossidante totale della granella (90%). Valutando diversi genotipi di frumento duro si è osservato che la capacità antiossidante totale (37-46 µmol vit Cg<sup>-1</sup>) ed il contenuto in fenoli e flavonoidi totali non variava significativamente fra i genotipi, mentre il contenuto in acido ferulico mostrava differenze significative.

### **1.5 Il Caso Studio KAMUT®**

Il nome comune è frumento Khorasan, come la provincia persiana da cui si ritiene sia originario. L'effettivo recupero di tale varietà è da ricondurre alla fine degli anni '70 quando un agricoltore del Montana, Robert Quinn, decide di coltivare questa "cultivar". Verso la fine degli anni '80 il grano "gigante" venne introdotto nel mercato dei prodotti salutistici, grazie ad una pasta prodotta dalla società Royal Angelus Macaroni Company, utilizzando il marchio commerciale KAMUT®. Nella prima metà degli anni '90 le farine di grano Khorasan KAMUT® furono esportate per la prima volta in Europa e nella seconda metà degli anni '90 furono più di 80 i prodotti immessi sul mercato. Sempre nel medesimo periodo venne sperimentata la coltivazione in nuove aree. La sperimentazione interessava l'intero continente europeo, l'Egitto, l'Argentina e alcune aree del continente australiano. La migliore area di produzione, per caratteristiche qualitative e nutrizionali, risultò essere una regione del Nord America, situata fra i confini di Montana, North Dakota, Alberta e Saskatchewan. Nel 2001 furono poco più di 2.000 gli ettari seminati in suddetta area, ma la coltivazione di questo frumento era destinata ad espandersi. Infatti nel 2008, in Nord America, erano quasi 20.000 gli ettari destinati alla coltivazione del frumento Khorasan KAMUT®. Le

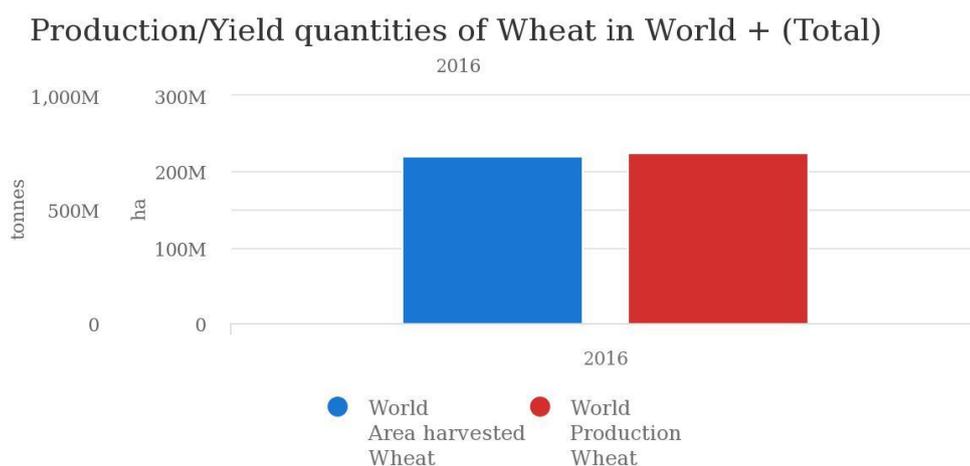
interessanti potenzialità offerte da questo “nuovo” cereale hanno quindi portato alla registrazione del marchio KAMUT<sup>®</sup>, il 3 aprile del 1989, per indicare i prodotti a base di frumento Khorasan, e proteggere legalmente i prodotti derivati. L’anno successivo i Quinn hanno ottenuto dallo USDA (US Department of Agriculture) il certificato che riconosce l’esistenza di una nuova varietà chiamata QK-77. In seguito hanno creato la Kamut International Ltd., ente ufficiale incaricato di proteggere, commercializzare e distribuire il KAMUT<sup>®</sup> nel mondo. Essere possessori di una varietà è un concetto delicato, che porta problemi di tipo etico. La legge degli Stati Uniti, però, effettua una distinzione tra la varietà QK-77, la varietà non ibrida, e il KAMUT<sup>®</sup>, inteso come prodotto. Chiunque voglia può comprare, coltivare, raccogliere e vendere la QK-77, ma per chiamarla “KAMUT<sup>®</sup>” bisogna rispettare dei rigidi parametri imposti dalla Kamut International, che include un regime di coltivazione biologico. KAMUT<sup>®</sup>, dunque, è un marchio registrato di Kamut Enterprises of Europe bvba e di Kamut international ltd. utilizzato per contraddistinguere la pura e antica cultivar di grano khorasan (*Triticum turgidum* ssp. *turanicum*), derivato a seguito di ibridazione naturale tra *Triticum durum* e *Triticum polonicum*, verificatasi nella Mezzaluna fertile (Khlestkina et al., 2006), anche se ci sono stati e ci sono tuttora dei disaccordi sulla sua tassonomia. La coltivazione del grano khorasan KAMUT<sup>®</sup> è gestita esclusivamente da un accordo di licenza che richiede la certificazione biologica della coltura e diverse specifiche di qualità relative sia alle caratteristiche nutrizionali che alle condizioni di crescita (Quinn, 1999). In particolare il grano khorasan KAMUT<sup>®</sup> deve rispondere a molteplici requisiti, quali:

- essere l’antica varietà di grano khorasan, mai ibridato né incrociato, essere coltivato esclusivamente in regime biologico certificato,
- avere un contenuto di proteine tra il 12 e il 18%,
- essere incontaminato da varietà di grano moderne al 99%,
- essere privo di segni di malattia al 98%,
- contenere tra i 400 e i 1000 ppb di selenio
- non essere utilizzato in prodotti il cui nome può essere frainteso o risultare equivoco nel rispetto delle quantità percentuali,
- non essere mescolato con grani moderni nella produzione di pasta.

La Kamut International, inoltre, per garantire ulteriormente alti standard qualitativi richiede di seguire specifiche procedure di macinazione. In particolare è richiesta la macinazione a basse temperature, che garantisce una farina migliore, sia in termini di quantità, che di qualità. Infatti l'utilizzo di tale procedura assicura un minor danneggiamento delle componenti nutrizionali rispetto alla macinazione a rulli, oltre ad una maggiore resa in farina derivante da un minor contenuto in acqua degli sfarinati (Sacks et al., 2005). Fino ad oggi, questi standard specifici vengono costantemente monitorati e soddisfatti all'interno dell'areale di coltivazione del Nord America, che si estende dalle grandi pianure dell'Alberta fino agli Stati del Saskatchewan, Montana e North Dakota (Grausgruber et al., 2004). In altre parole, la coltivazione di questa antica sottospecie di grano a marchio KAMUT® risulta essere completamente indipendente dagli attuali programmi di coltura a scala industriale e dai moderni programmi di ibridazione.

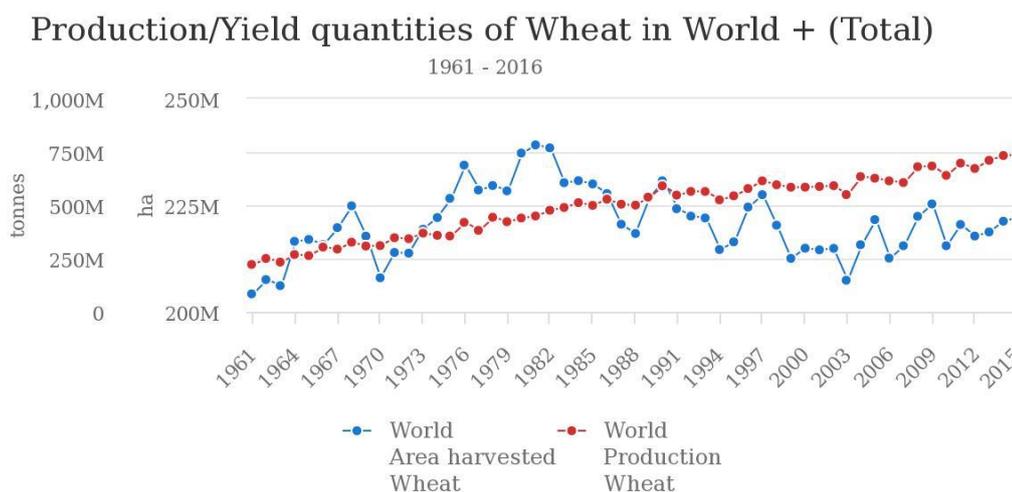
### 1.5.1 Produzione Globale di Frumento Duro

Il frumento è la seconda coltura più coltivata al mondo dopo il riso, nel 2016 sono stati prodotti 749 milioni di tonnellate distribuite su una superficie di 220 milioni di ettari (FAO). Il 95% di questo è frumento tenero, il 5% è grano duro ed una quota irrisoria (meno di un punto decimale) è rappresentata dalle altre tipologie di cereali appartenenti al genere *Triticum*, come ad esempio i farri (<https://www.igc.int>).



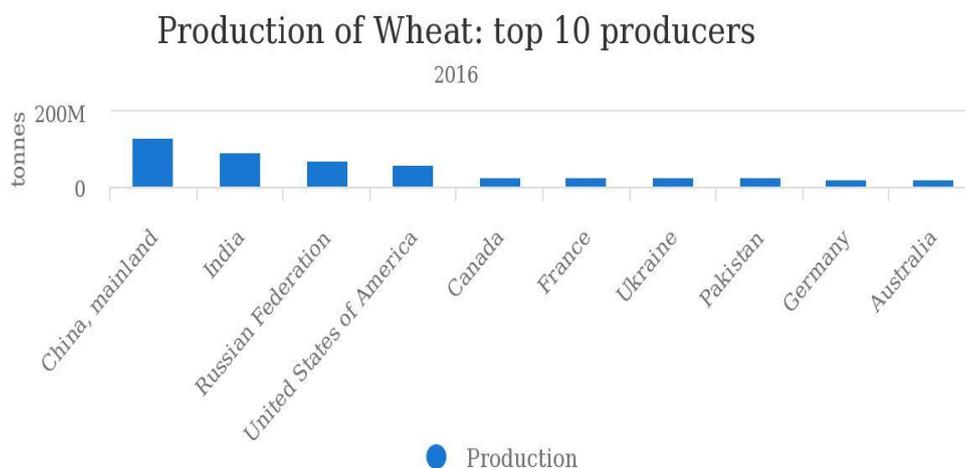
**Figura 7:** Produzione e superficie globale del grano (2016). Fonte FAO.

Dal 1961 al 2016 vi è stato un incremento costante della produzione di grano a livello globale dovuto alla rivoluzione verde. Il numero di ettari coltivati invece si è ridotto, la maggiore causa di questo calo è dovuta, soprattutto nelle nazioni in transizione o in via di sviluppo, alla migrazione dalle zone rurali verso le aree urbane. Dal 2010 ad oggi la produzione si è stabilizzata tra le 700 e le 750 milioni di tonnellate.



**Figura 8.** Trend produzione/superficie grano globale 1961-2015. Fonte FAO.

Il 47% della produzione globale viene da 4 paesi, nonché maggiori produttori che sono: Cina 126 milioni di tonnellate, India 95.5 milioni di tonnellate, Russia 59.7 milioni di tonnellate ed USA 55.4 milioni di tonnellate.



**Figura 9.** Maggiori Paesi produttori di grano (2016). Fonte FAO.

Il grano duro viene prodotto in quasi tutte le regioni degli Stati Uniti dove risulta essere il principale cereale coltivato. Occupa un'area di circa 240000 km<sup>2</sup> e presenta caratteristiche che variano da regione a regione. Il 60% della produzione totale di grano degli Stati Uniti è prodotto nel Nord Dakota, mentre il restante 40% è suddiviso tra Montana, California, Sud Dakota e Idaho, con una produzione totale di circa 58 milioni di tonnellate all'anno, rendendo gli Stati Uniti il terzo produttore di grano a livello mondiale. ("United States wheat Production", 2002). Il Canada risulta essere il maggior produttore di grano duro al mondo, la sua produzione annuale è compresa tra i 4,5 e i 6 milioni di tonnellate, in base alle condizioni climatiche registrate durante il ciclo primaverile nei mesi di maggio-settembre ([www.ismea.it](http://www.ismea.it)). Più dell'80% del grano duro viene prodotto nello Stato del Saskatchewan. Le rese medie sono tipiche dei cicli brevi e sono di poco superiori a 2 t/ha. Le varietà coltivate sono principalmente selezionate localmente da aziende private e da istituzioni pubbliche e la maggior parte delle produzioni ottenute viene destinata al mercato dell'export.

## 2. SCOPO

È noto come il frumento sia una specie in grado di adattarsi ai diversi ambienti agricoli e alle più svariate condizioni ambientali (Graybosch et al., 1995). Il manifestarsi di determinate condizioni ambientali, durante i processi di sviluppo della granella, si riflette sulle caratteristiche qualitative e produttive della coltura, influenzando di conseguenza, oltre la resa anche le caratteristiche qualitative della granella e dei successivi trasformati. In letteratura, è stato evidenziato come le condizioni climatiche possono esercitare un certo effetto sulle componenti delle fibre alimentari nella granella, condizionandone la quantità e la qualità. (Gebruers et al., 2008; Shewry et al., 2010). Inoltre, è noto che le condizioni di crescita influenzano fortemente i livelli di espressione dei metaboliti secondari della pianta come i polifenoli e, di conseguenza, possono condizionare l'accumulo di composti fenolici durante lo sviluppo della cariosside (Mpofu et al., 2006; Shewry et al., 2010). Tra i cereali, il frumento khorasan (*Triticum turgidum* ssp. *turanicum*) è recentemente emerso per le peculiari caratteristiche nutrizionali e funzionali (attività antiossidante e prebiotica) (Gianotti et al., 2011; Marotti et al., 2012). Attualmente, il marchio registrato KAMUT® interessa prodotti di pastificazione e panificazione derivanti dall'utilizzo di farina di frumento khorasan coltivato in agricoltura biologica. Il bacino di produzione di tale varietà è costituito da una vasta area del continente nord americano, tra Montana (USA), Alberta e Saskatchewan (Canada). Il lavoro svolto si inserisce nell'ambito del progetto finanziato da Kamut International Ltd. dal titolo "Fibers and antioxidants of KAMUT® Khorasan grains grown in USA (2010-2012 Collection)". Lo scopo della ricerca è stato quello di determinare la produttività e la composizione in nutrienti e composti fitochimici della granella di KAMUT® in funzione della località di coltivazione e capire le dinamiche ambientali che ne influenzano il profilo fitochimico. Lo studio ha coinvolto un'area di produzione di circa 180000 kmq caratterizzata da differenti condizioni ambientali e che comprende diverse aziende. Durante le tre annate agrarie 2010-2012 sono stati raccolti 367 campioni di granella di KAMUT® khorasan provenienti da 174 diverse località del Nord America e del Canada. La maggior parte delle aziende ha fornito i campioni di granella per tutte e tre le annate di produzione, altre hanno partecipato allo studio a partire dal secondo anno di sperimentazione, le rimanenti sono state coinvolte

durante l'ultimo anno di studio. Il primo anno (2010) sono state coinvolte 109 aziende di produzione, mentre per il 2011 ne sono state registrate 116. Il 2012 è stato l'anno che ha coinvolto il maggior numero di aziende (142) per un totale complessivo, nelle tre annate agrarie, di 367 campioni di granella provenienti da 174 località differenti.

La produzione della granella si è svolta in tutte le aziende in accordo ad una gestione agronomica biologica, come da disciplinare sancito dalla società Kamut International (Ltd). Per il raggiungimento degli obiettivi di questo lavoro sono state valutate:

- ✓ La performance agronomica del frumento khorasan, mediante determinazione della resa in granella, del peso ettolitrico e del contenuto proteico;
- ✓ Le proprietà nutrizionali, mediante l'analisi del contenuto in amido totale e amido resistente;
- ✓ Le proprietà nutraceutiche, mediante la determinazione del contenuto in fibra alimentare e composti antiossidanti.

### **3. MATERIALE E METODI**

#### **3.1 Collezione di Frumento Khorasan**

L'attività di ricerca ha previsto la caratterizzazione di alcuni parametri nutrizionali e funzionali di campioni di frumento khorasan (*T. turgidum* L. subsp. *turanicum*), coltivati in 174 località del Nord America durante le tre annate agrarie 2010-2012 (maggio-settembre). Il vasto areale di produzione di circa 180000 kmq si estende tra Montana (USA), Alberta e Saskatchewan (Canada). In particolare, i campioni sono stati coltivati in accordo al disciplinare di produzione previsto dalla Kamut International Ltd. Le analisi di laboratorio sono state effettuate, presso il laboratorio di fisiologia vegetale del dipartimento di Scienze e Tecnologie Agro-Alimentari dell'Università di Bologna. Sulle semole ottenute dalle varie accessioni tramite macinazione a pietra con mulino Billy 200 Hawos, sono state effettuate le determinazioni delle componenti nutrizionali (proteine, fibra, amido) e nutraceutiche (polifenoli e flavonoidi). Tutte le analisi sono state replicate tre volte e i risultati sono stati espressi in funzione del peso secco.

#### **3.2 Analisi dei Macronutrienti e Composti Funzionali**

Le farine ottenute dalle cariossidi della varietà di frumento oggetto di studio sono state caratterizzate per alcuni parametri macronutrizionali (proteine e amido) e funzionali (componenti della fibra alimentare, amido resistente, polifenoli e flavonoidi). Le analisi per ogni campione e per ciascuna classe dei composti nutrizionali e funzionali sono state effettuate su 3 repliche. Nel caso in cui il coefficiente di variazione sia risultato superiore al 20% del valore medio misurato per il parametro preso in considerazione, si è proceduto a ripetere l'analisi (tre repliche di farina dell'accessione) fino a far rientrare il coefficiente di variazione al di sotto della soglia del 20%.

##### **3.2.1 Proteine**

Il contenuto azotato è stato determinato utilizzando il metodo Kjeldahl (A.O.A.C. 1990), che permette di determinare il contenuto in azoto di sostanze organiche e inorganiche. Il metodo si divide in tre fasi: mineralizzazione, distillazione dell'ammoniaca e determinazione quantitativa dell'ammoniaca prodotta. Il

contenuto proteico viene infine determinato moltiplicando il residuo ottenuto per il coefficiente 6,25 ( $\%N \times 6,25 = \% \text{proteine}$ ).

### **3.2.2 Fibre**

La determinazione del contenuto in fibre solubili, insolubili e totali è stata effettuata utilizzando il kit della Megazyme Total Dietary Fibre, che si basa su una modificazione semplificata del metodo AACC 32-05 e del metodo AACC 32-21 per la determinazione della fibra solubile e insolubile (Prosky et al. 1988; Lee et al. 1992). Il metodo è basato sulla digestione sequenziale dei campioni secchi in duplicato ad alta temperatura (60-100°C) con  $\alpha$ -amilasi, proteasi e amiloglicosidasi. La fibra solubile/insolubile viene filtrata, seccata in stufa a 103°C e pesata. Entrambi i residui vengono corretti per le proteine e le ceneri per la determinazione finale della fibra solubile e insolubile. La somma delle due componenti determina la fibra totale.

### **3.2.3 Amido Resistente e non Resistente**

La percentuale di amido resistente e non resistente nelle cariossidi di frumento è stata determinata secondo una metodica accettata dall'AOAC, utilizzando un kit della ditta Megazyme (Resistan Starch Kit). L'amido resistente per definizione è quella porzione di amido che non viene scissa dagli enzimi idrolitici nell'intestino tenue umano; arriva integra nell'intestino crasso dove viene parzialmente o interamente fermentata. Il metodo utilizzato permette la liberazione del glucosio contenuto nell'amido mediante l'utilizzo sequenziale di due enzimi quali l' $\alpha$ -amilasi pancreatica e amiloglicosidasi. La determinazione quantitativa del glucosio liberato viene effettuata tramite determinazione colorimetrica a 510 nm allo spettrofotometro. Il kit utilizzato permette anche la determinazione dell'amido non resistente o amido solubile. La somma della quantità di amido resistente e non resistente permette di determinare il contenuto in amido totale.

### **3.2.4 Polifenoli**

L'estrazione dei polifenoli totali (liberi e legati) è stata effettuata secondo quanto descritto da Dinelli *et al.* (Dinelli *et al.* 2009). 1 grammo di farina è stato trattato con 10 ml di etanolo 80% freddo per disciogliere i composti fenolici liberi. Il pellet è stato successivamente sottoposto a idrolisi acida e alcalina per estrarre le forme fenoliche insolubili. La determinazione quantitativa dei polifenoli totali è stata condotta secondo il metodo modificato di Folin-Ciocalteu (Singleton e Rossi 1965). Un'aliquota di estratto (0,02 mL) è stata diluita con 1,6 mL di acqua distillata; alla diluizione è stato poi aggiunto 0,1 mL di reagente Folin e 0,3 mL di carbonato di sodio. La reazione richiede un'attesa di 120 minuti a temperatura ambiente, in seguito alla quale è possibile determinare il contenuto in polifenoli totali attraverso la lettura dell'assorbanza a 765 nm.

### **3.2.5 Flavonoidi**

Sugli estratti ottenuti per i polifenoli totali è stata effettuata la determinazione del contenuto in flavonoidi totali, con il metodo colorimetrico descritto da Adom e Liu (Adom e Liu 2002). È stata condotta una reazione sui campioni estratti con nitrato di sodio e cloruro di alluminio, che ha portato alla formazione di un complesso di flavonoide-alluminio. L'assorbanza della soluzione così ottenuta è stata immediatamente letta a 510 nm e confrontata con quella degli standards della catechina. Il contenuto in flavonoidi totali è stato espresso in micromoli di catechina equivalenti.

## **3.3 Analisi Geostatistica**

I risultati relativi alla collezione di frumento khorasan oggetto di studio sono stati elaborati mediante il software ArcGIS 9 (2003, ESRI, Redlands, CA, USA), utilizzando il metodo di interpolazione IDW (Inverse Distance Weighting) per la generazione di mappe GIS per ciascuno dei parametri presi in esame.

## **3.4 Analisi statistica delle aziende con 3 anni di sperimentazione**

Sulle 54 aziende del set sperimentale per le quali erano disponibili i tre anni di sperimentazione (2010-2011-2012), è stata condotta un'analisi statistica al fine di

identificare nell'areale produttivo zone particolarmente vocate, sia in termini produttivi che in termini nutrizionali e nutraceutici, per la produzione del KAMUT® khorasan. Per tale ragione, le 54 aziende sono state clusterizzate in 10 gruppi, sulla base delle loro coordinate GPS e della loro altitudine, utilizzando il software IBM SPSS Statistics versione 25 (IBM Corporation). In particolare, la significatività statistica delle differenze e dell'interazione tra fattori è stata verificata per mezzo dell'analisi della varianza (n=162) con il modulo General Linear Model del software IBM SPSS Statistics versione 25 (IBM Corporation) considerando come fattore fisso i 10 gruppi derivanti dall'analisi cluster (località) e come fattore casuale l'anno di produzione. Il test di Duncan è stato utilizzato per determinare le differenze tra le medie a  $P < 0,05$ .

Per studiare le associazioni dirette e indirette delle principali componenti agrometeorologiche relative alla resa delle colture e alla composizione nutrizionale/nutraceutica è stata eseguita una analisi path.. Per ciascuna variabile studiata (resa, peso ettolitrico, proteine, polifenoli liberi e legati, flavonoidi liberi e legati, amido totale e resistente, fibra alimentare insolubile e solubile) è stata eseguita un'analisi di regressione lineare, mediante un modello progressivo avanzato (criterio di inclusione  $F > 0,1$ ; criterio di esclusione  $F < 0,2$ ). Ciascuna variabile indipendente presa in esame (latitudine, longitudine, altitudine, temperatura media e piovosità) è stata inclusa nell'analisi solo se significativa (per  $P < 0,05$ ). L'analisi della Path è stata condotta come suggerito da Dewey e Lu, ovvero:

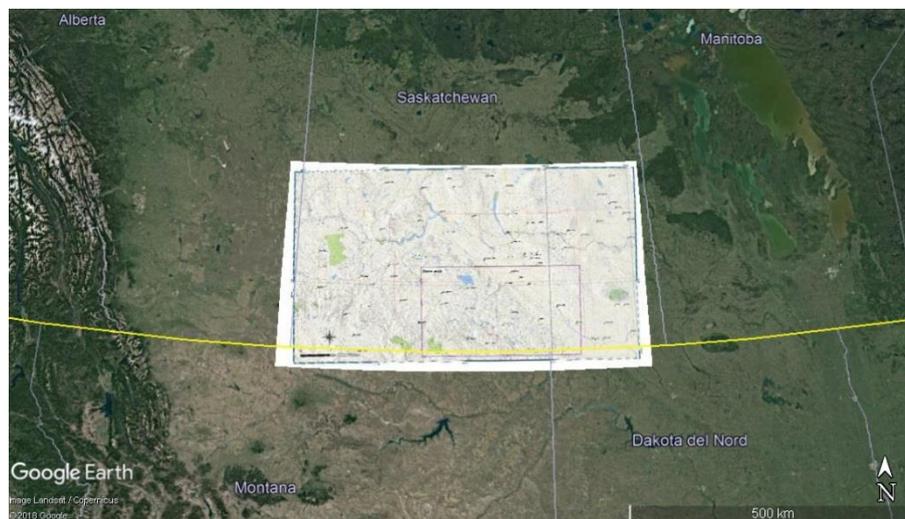
$$r_{ij} = P_{ij} + \sum r_{ik} P_k$$

dove,  $r_{ij}$  è il coefficiente di correlazione totale misurato tra il carattere indipendente ( $i$ ) e il fattore dipendente ( $j$ ),  $p_{ij}$  è il coefficiente di regressione (effetto diretto) del fattore indipendente ( $i$ ) sul fattore dipendente ( $j$ );  $\sum r_{ik} P_k$  è la sommatoria delle componenti indirette date dal fattore indipendente ( $i$ ) sul fattore dipendente ( $j$ ) attraverso gli altri fattori indipendenti e significativi ( $k$ ).

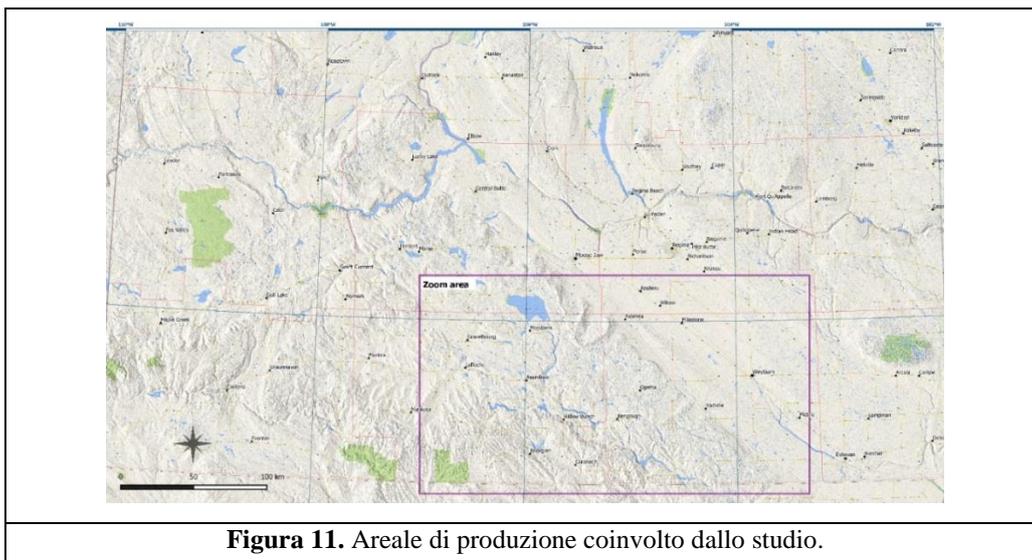
## 4. RISULTATI E DISCUSSIONE

### 4.1 Analisi Ambientale

Il bacino di produzione del grano Khorasan Kamut è costituito da una vasta area del continente nord americano, tra Montana (USA), Alberta e Saskatchewan (Canada). Lo studio ha coinvolto un'area di produzione di circa 180000 kmq caratterizzata da differenti condizioni ambientali. Nel corso dei tre anni, durante l'intero ciclo colturale sono stati monitorati i principali parametri agro-meteorologici in ciascuna zona di produzione. Tutti i dati ambientali registrati per la stesura del presente lavoro si riferiscono ad un arco temporale relativo al periodo maggio-settembre, durante la quale si svolge la coltivazione del grano Khorasan presso questi areali. Le variazioni occorse per tali parametri possono spiegare la variabilità osservata tra i campioni oggetto di indagine allevati nelle diverse località e nelle tre annate agrarie. In tabella 1 sono riportati i valori dei principali parametri meteorologici (temperatura, pioggia) registrati per le tre annate agrarie di produzione di cui nelle successive sezioni verranno discussi i risultati relativi alle performance agronomiche e proprietà nutrizionali in funzione dei fattori ambientali coinvolti.



**Figura 10.** Immagine satellitare dell'areale di produzione.



**Figura 11.** Areale di produzione coinvolto dallo studio.

#### 4.1.1 Variabili Ambientali

Dall'analisi della varianza a una via è emerso che le temperature medie registrate durante le tre annate agrarie hanno mostrato differenze statisticamente significative, con valori medi compresi tra  $14.67 \pm 0.91$  °C e  $16.21 \pm 0.70$  °C (Tabella 1). Nel 2010 sono state registrate temperature medie comprese tra 10,98 °C e 17.12 °C con un valore medio di  $14,67 \pm 0,91$ °C.

Anno di Produzione	Temperatura Media (°C) (Maggio-Settembre)	Piuvosità Totale (mm) (Maggio-Settembre)
2010	$14.67 \pm 0.91$ (c)	$360.53 \pm 84.87$ (a)
2011	$15.80 \pm 0.76$ (b)	$357.3 \pm 121.3$ (a)
2012	$16.21 \pm 0.70$ (a)	$227.70 \pm 42.63$ (b)

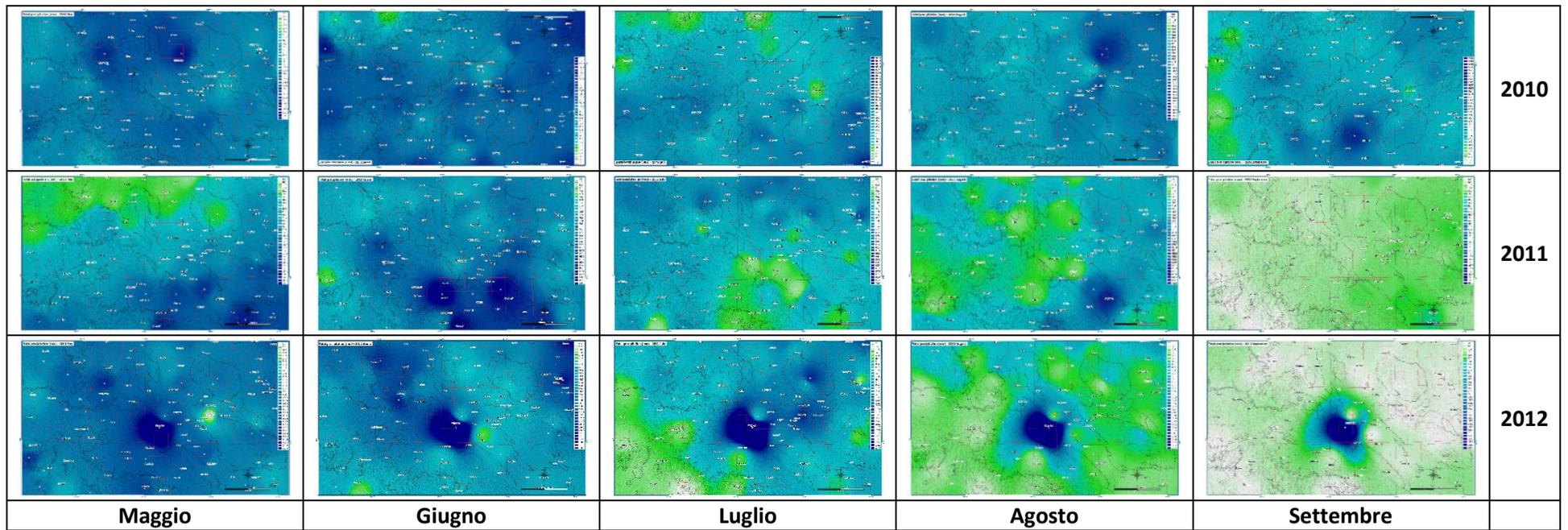
**Tabella 1:** Temperatura media e piovosità totale per ciascuna annata di produzione

Durante l'annata agraria relativa al 2011 si sono osservati valori compresi tra 12,65 °C e 16,90 °C con un valore medio di  $15,80 \pm 0,76$  °C, leggermente superiore rispetto al 2010 ma inferiore al 2012 che ha fatto registrare un valore medio di  $16.21 \pm 0.70$  °C. Anche la piovosità ha fatto registrare variazioni significative tra i diversi anni. Nelle prime due annate agrarie (2010-2011) sono stati osservati valori medi di  $360.53 \pm 84.87$  mm e  $357.3 \pm 121.3$  mm,

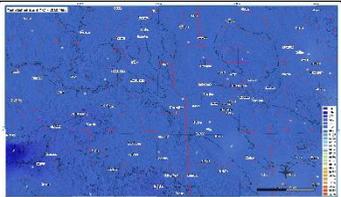
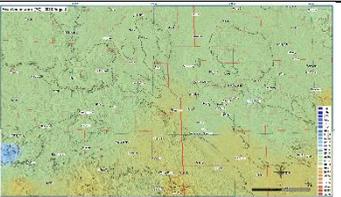
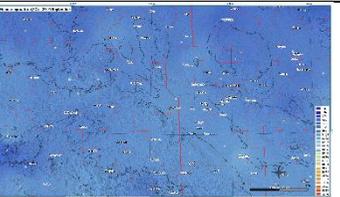
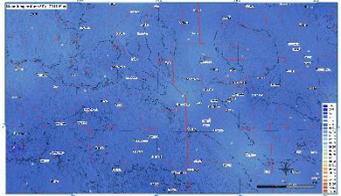
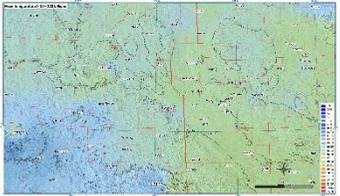
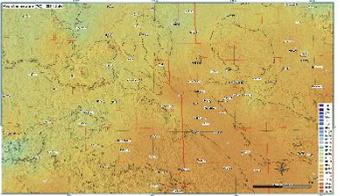
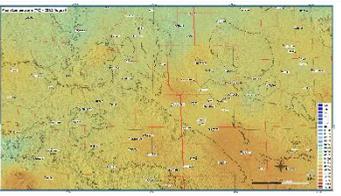
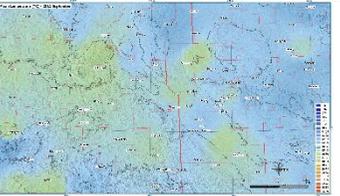
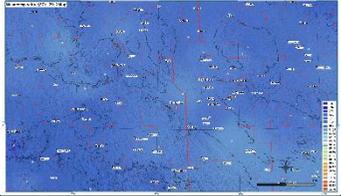
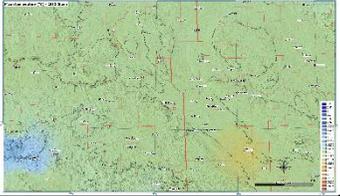
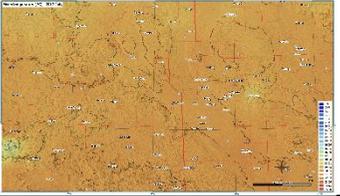
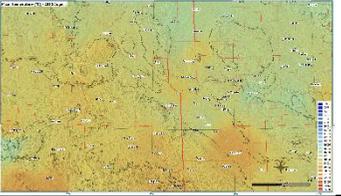
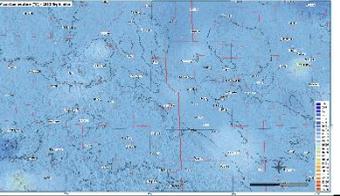
rispettivamente. Nel 2012 invece si è assistito ad un calo significativo della piovosità, che ha fatto registrare un valore medio pari a  $227.70 \pm 42.63$  mm. Le zone di produzione del frumento Khorasan hanno fatto registrare valori estremamente differenti anche in termini di altitudine. Il range di altitudine in cui operano le aziende di produzione va infatti dai 521 m slm fino ai 1005 m slm, passando dunque da zone di produzione prettamente collinari a quelle tipiche degli areali montani. Nella Tabella 2 vengono riportate le diverse classi di altitudine in cui sono localizzate le aziende di produzione insieme alle differenze statistiche rilevate in termini di temperatura media e piovosità totale per ciascuna classe. È importante, inoltre, evidenziare che sono state rilevate differenze nell'andamento della piovosità e delle temperature medie nel corso del ciclo colturale, come evidenziato dalle mappe mensili riportate nelle Tabelle 3 e 4.

<b>Classi di altitudine</b>	<b>T media <math>\pm</math> dev.st</b>	<b>Piovosità totale <math>\pm</math> dev.st</b>
$\geq 770$ m	$15.36 \pm 1.12$ (c)	$263.51 \pm 90.20$ (b)
$\geq 710$ m	$15.53 \pm 0.97$ (bc)	$317.06 \pm 104.59$ (a)
$\geq 650$ m	$15.80 \pm 0.96$ (ab)	$330.85 \pm 106.70$ (a)
$< 650$ m	$15.90 \pm 0.89$ (a)	$331.41 \pm 114.83$ (a)

**Tabella 2:** Temperatura media e piovosità totale per ciascuna classe di altitudine



**Tabella 3:** Mappe GIS ottenute per la piovosità totale mensile (periodo 1 maggio-30 settembre) registrata nei tre anni di produzione

					<b>2010</b>
					<b>2011</b>
					<b>2012</b>
<b>Maggio</b>	<b>Giugno</b>	<b>Luglio</b>	<b>Agosto</b>	<b>Settembre</b>	

**Tabella 4:** Mappe GIS ottenute per le Temperature medie mensili (periodo 1 maggio-30 settembre) registrate nei tre anni di produzione

## 4.2 Performance produttive

I principali dati relativi alle performance produttive (resa in granella, proteine, peso ettolitrico) sono riportati in Tabella 5.

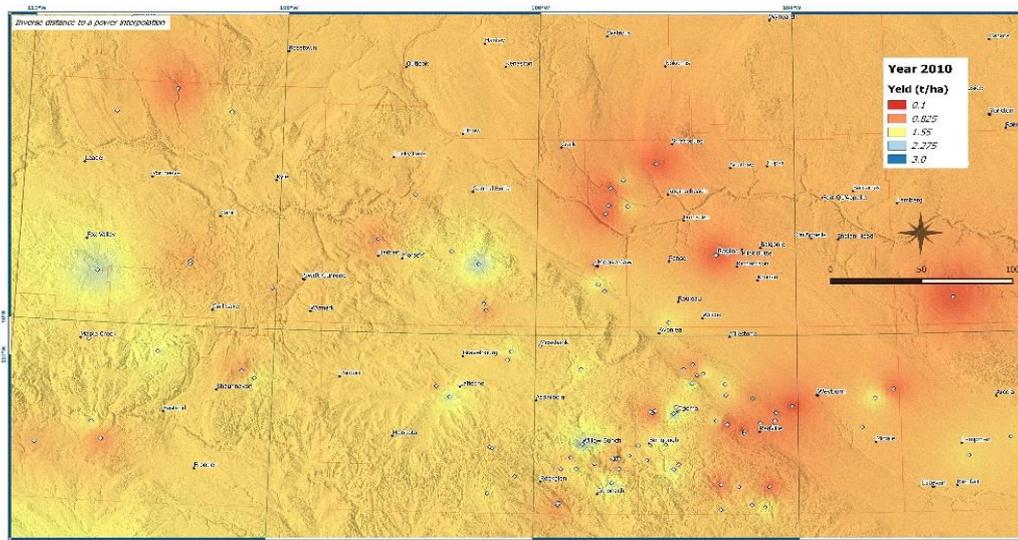
Anno di produzione	Resa (t/ha)	Peso ettolitrico (hg/hl)	Proteine (%)
2010	0.28-2.81 <b>(1.29) a</b>	60.35-77.06 <b>(71.82) b</b>	10.2-15.8 <b>(12.89) a</b>
2011	0.15-2.45 <b>(1.08) b</b>	61.22-77.68 <b>(73.14) a</b>	9-16 <b>(12.06) b</b>
2012	0.11-2.30 <b>(1.10) b</b>	55.36-78.3 <b>(73.12) a</b>	9-17.1 <b>(13.14) a</b>
<b>Totale</b>	<b>1.14</b>	<b>2.74</b>	<b>12.73</b>

Tabella 5: Parametri produttivi per le diverse annate agrarie

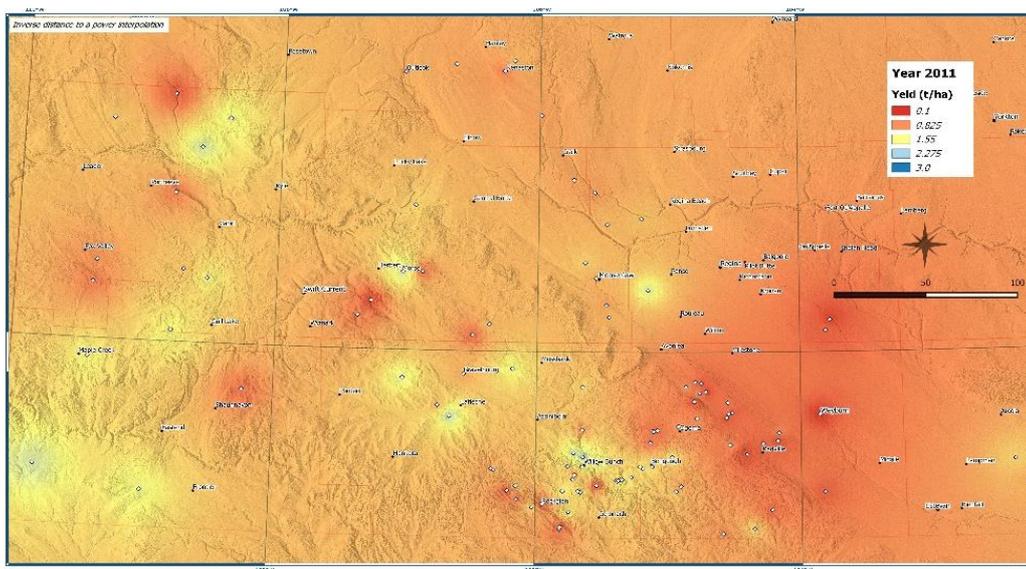
### 4.2.1 Resa

La produttività del frumento khorasan ha mostrato una elevata eterogeneità nell'area oggetto di studio in termini di resa in granella. L'intervallo di variazione, infatti, è risultato compreso tra 0,11 e 2,81 t/ha, con un valore medio pari a  $1,14 \pm 0,48$  t/ha. Le rese hanno mostrato variazioni significative nel corso delle tre annate agrarie (Tabella 5). Nel 2010 sono stati registrati i valori più alti, compresi tra 0,27 e 2,81 t/ha con valori medi di  $1,29 \pm 0,48$  t/ha. Durante l'annata agraria relativa al 2011 si sono osservati valori compresi tra 0,15 e 2,45 t/ha con valori medi di  $1,08 \pm 0,47$  t/ha, leggermente inferiori rispetto al 2010 e in linea con il 2012 che ha fatto registrare valori medi di  $1,10 \pm 0,46$  t/ha. Una parte delle aziende (37%) ha fatto registrare una resa in granella compresa tra 1-1,5 t/ha, mentre 80 aziende su 367 (22%) hanno mostrato una più elevata produttività. Le mappe GIS ottenute, relative alle tre annate agrarie, per i valori di resa in granella hanno evidenziato la presenza di un gradiente spaziale con valori di produttività crescenti spostandosi da est verso ovest (Figure 12-13-14). Infatti, le aziende agricole situate ai margini occidentali dell'area oggetto di studio hanno mostrato una più alta produttività, mentre le aziende caratterizzate da una più bassa resa sono tutte localizzate nella parte orientale. Durante le tre annate agrarie, la resa in granella ha mostrato essere correlata positivamente con l'altitudine. Inoltre, è stata osservata una correlazione negativa tra la resa e le temperature medie registrate. Come evidenziato in letteratura le condizioni ambientali hanno

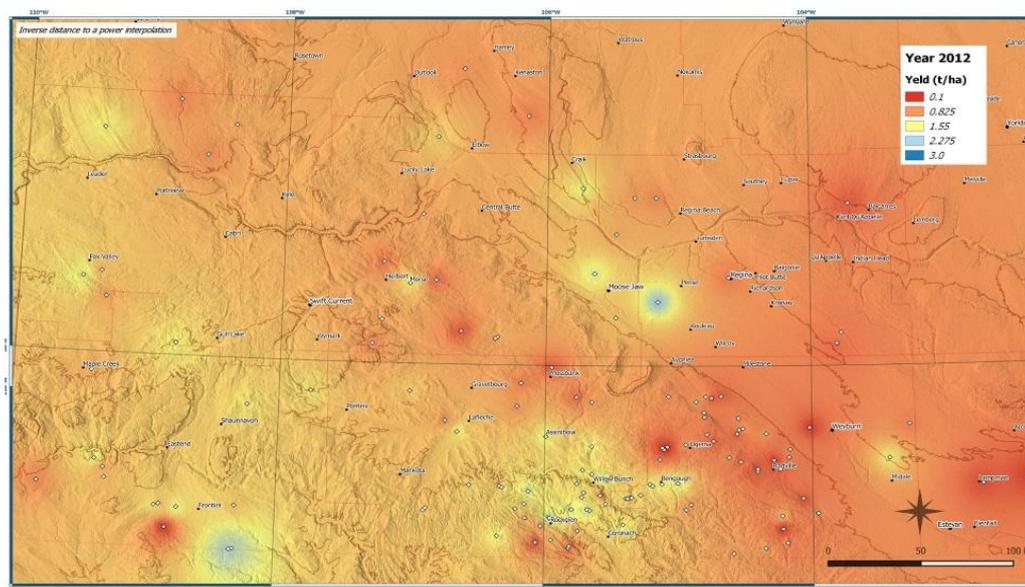
influenzato in maniera significativa la resa in granella. Infatti, le temperature registrate durante le fasi di riempimento della cariosside possono influire sui meccanismi di traslocazione del carbonio e dell'azoto, determinando così variazioni importanti sia sulle rese finali che sul contenuto proteico della granella raccolta (Vaccari et al., 2007). Le differenze osservate sono, dunque, da ricondurre sia alle diverse zone climatiche dell'area di produzione sia alle specifiche realtà aziendali, in cui fattori di stress biotici e abiotici possono significativamente influenzare le rese di ciascuna annata agraria.



**Figura 12.** Distribuzione geografica dei valori di resa (t/ha) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.



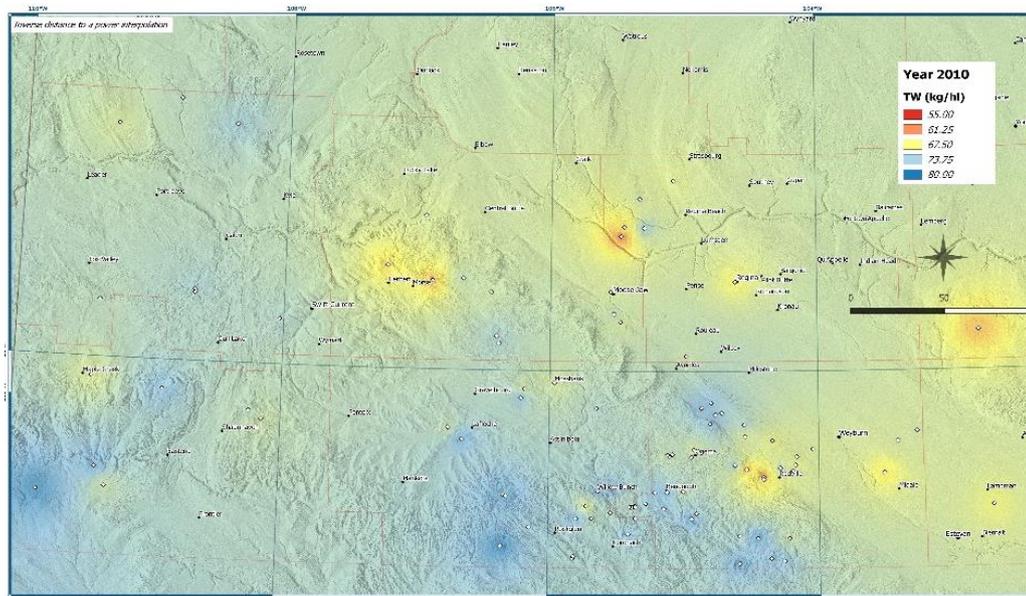
**Figura 13.** Distribuzione geografica dei valori di resa (t/ha) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.



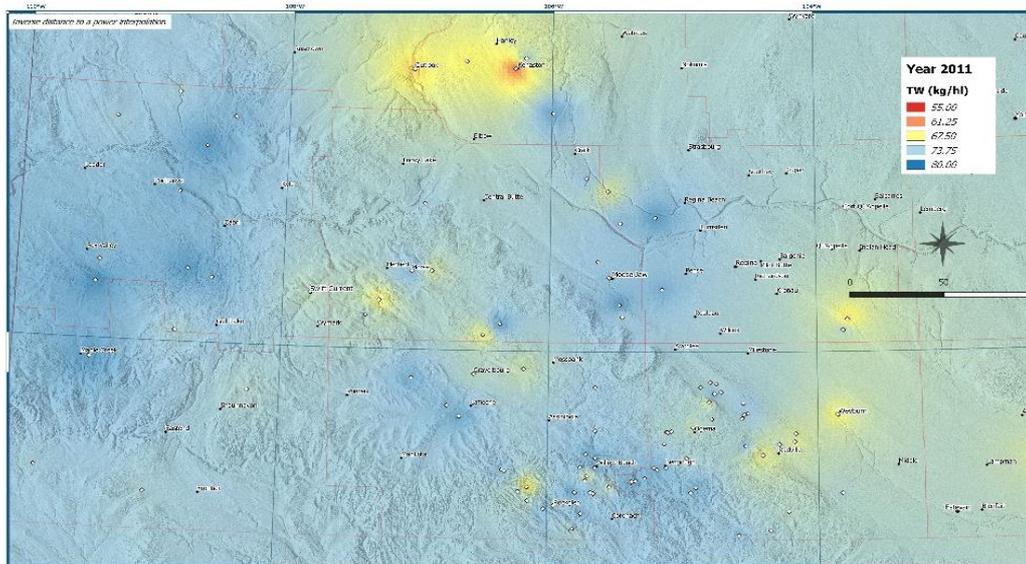
**Figura 14.** Distribuzione geografica dei valori di resa (t/ha) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

#### 4.2.2 Peso Ettolitrico

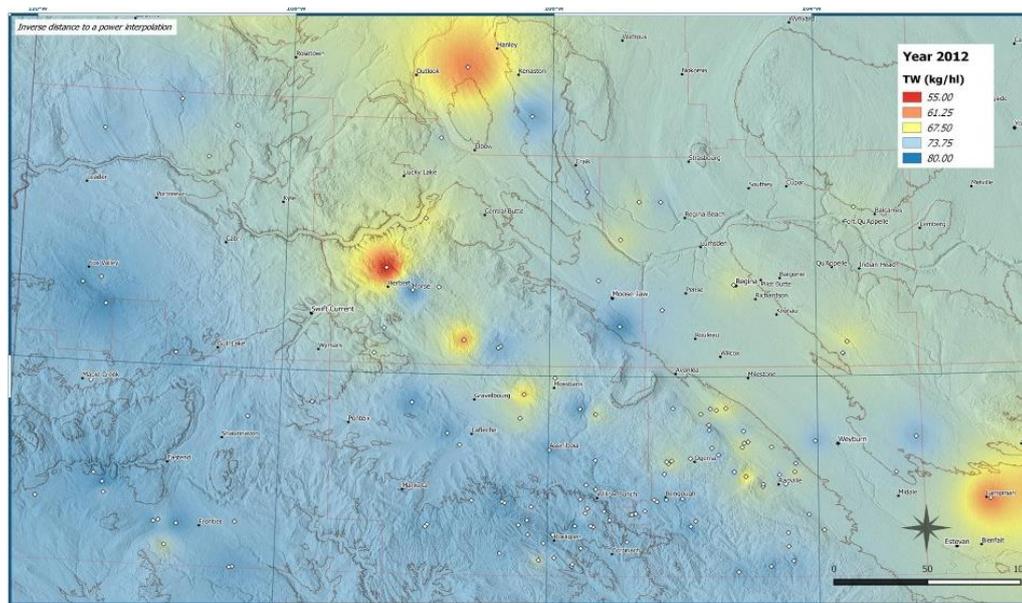
I campioni oggetto di studio hanno mostrato una discreta qualità commerciale, anche se con valori di peso ettolitrico compresi in un range molto ampio (55,36-78,3 kg/hl). Solo 58 campioni su 367 (16%) erano caratterizzati da peso specifico inferiore a 70 kg/hl. La maggior parte dei campioni (74%) ha mostrato valori di peso ettolitrico compresi tra 70 e 76 kg/hl, mentre 39 campioni su 367 (10%) hanno fornito granella caratterizzata da valori più elevati. Le mappe GIS ottenute per i valori di peso ettolitrico hanno evidenziato la presenza di un gradiente spaziale con valori crescenti spostandosi da ovest verso est (Figure 15-16-17). Infatti, le aziende agricole situate ai margini occidentali dell'area oggetto di studio hanno prodotto granella di KAMUT® Khorasan caratterizzata da un basso peso specifico. Inoltre, la distribuzione geografica dei valori osservati per il peso ettolitrico è risultata pressoché complementare a quella ottenuta per la resa in granella.



**Figura 15.** Distribuzione geografica dei valori di peso ettolitrico (kg/h) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.



**Figura 16.** Distribuzione geografica dei valori di peso ettolitrico (kg/h) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.

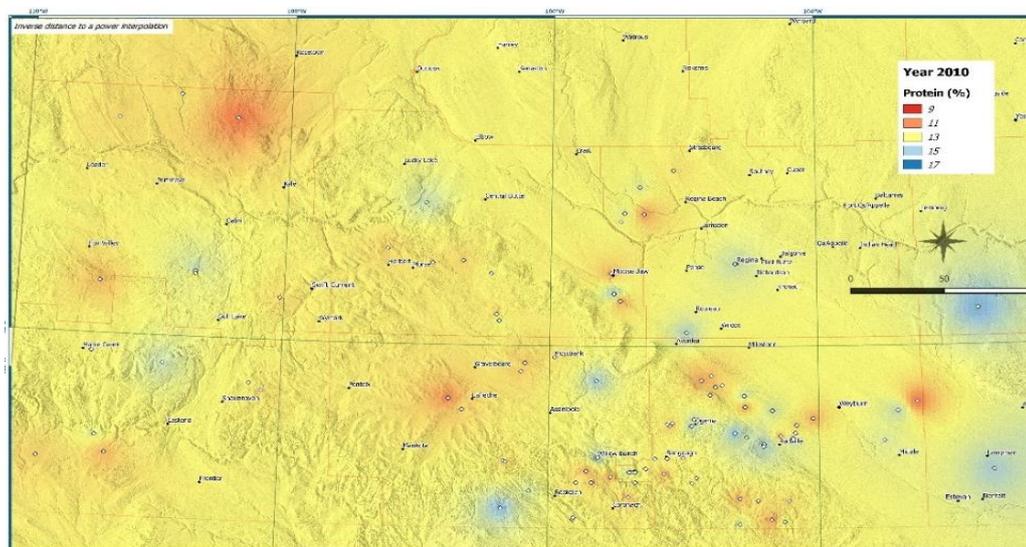


**Figura 17.** Distribuzione geografica dei valori di peso ettolitrico (kg/hl) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

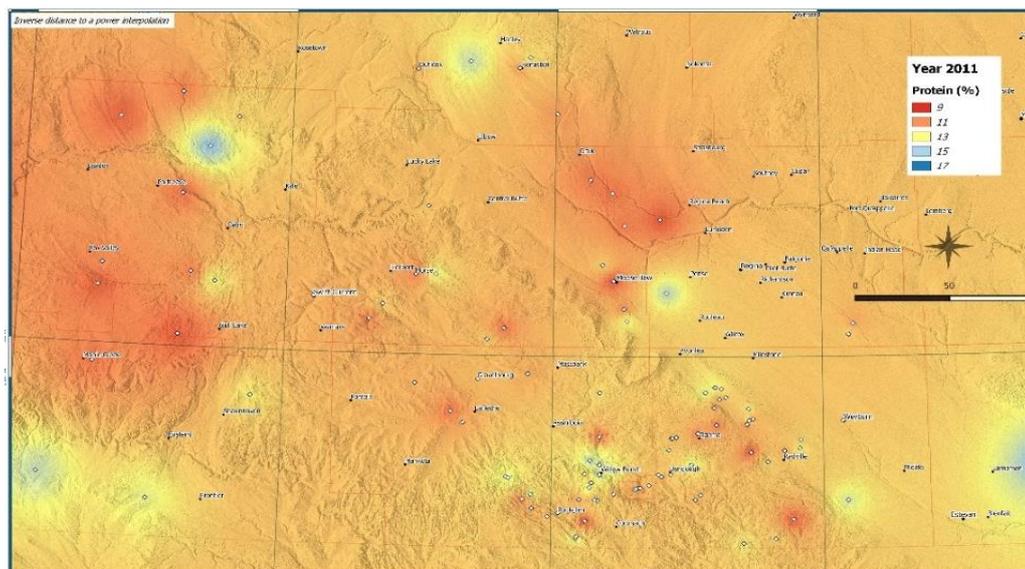
#### 4.2.3 Proteine

Il contenuto proteico e la composizione in aminoacidi sono tra le più importanti caratteristiche nel determinare il valore nutrizionale del frumento nella dieta. Dalle analisi effettuate, sui campioni relativi alle tre annate agrarie, si è osservato un intervallo di variazione molto ampio per il contenuto proteico, compreso tra 9,0 e 17,1 g/100g con valori medi di  $12,73 \pm 1,35$  g/100g. Il contenuto proteico ha mostrato variazioni significative nel corso delle tre annate agrarie (Tabella 5). Nel 2010 sono stati registrati valori compresi tra 10,2 e 15,8 g/100g, con valori medi di  $12,89 \pm 1,13$  g/100g. Durante l'annata agraria relativa al 2011 si sono osservati valori compresi tra 9,0 e 16,0 g/100g con valori medi di  $12,06 \pm 1,19$  g/100g, leggermente inferiori rispetto al 2010 e al 2012, che ha fatto registrare valori medi di  $13,14 \pm 1,42$  g/100g. Il 45% dei campioni di granella analizzati (165 campioni su 367) era caratterizzato da livelli proteici maggiori rispetto al valore medio osservato per l'intero insieme di dati ( $12,73 \pm 1,35$  g/100g). Come evidenziato in letteratura, i meccanismi di accumulo delle proteine nella cariosside mostrano essere altamente influenzati da diversi fattori, quali la scelta del genotipo, la fertilità del suolo (disponibilità di N) e le condizioni ambientali (temperatura, condizioni meteo) (Dupont et al., 2006; Giuliani et al., 2011).

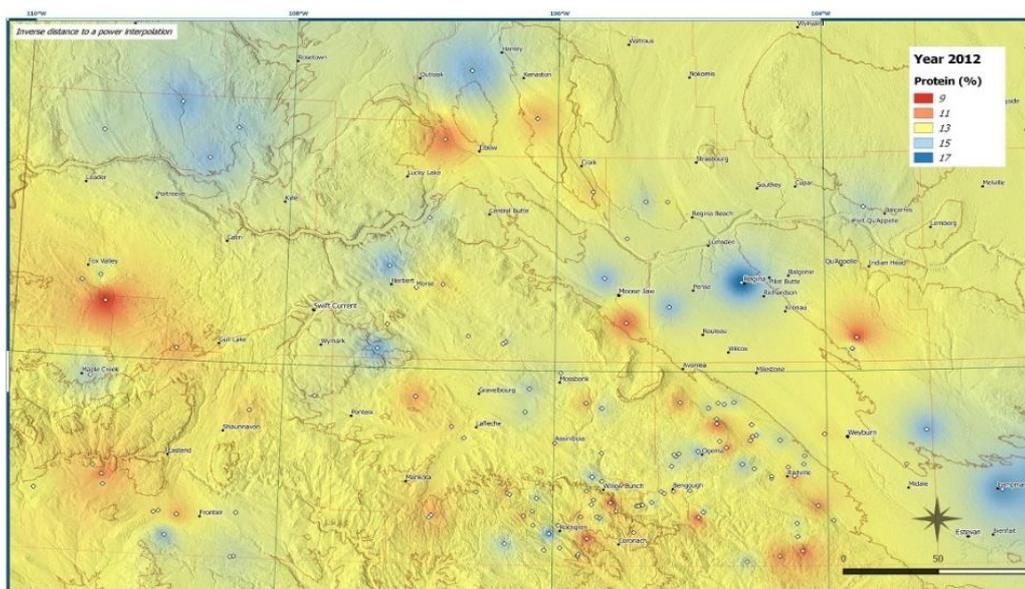
Generalmente, ci si aspetterebbe una correlazione negativa tra la resa in granella e il contenuto proteico (Blanco et al., 2012; Kibite and Evans, 1984). Nel presente studio non è stata osservata nessuna correlazione significativa tra i 2 parametri. La spiegazione potrebbe essere attribuita, almeno in parte, al fatto che si tratta di coltivazioni a ciclo breve, e dalla quale si ottengono rese di gran lunga inferiori rispetto a quelle che sono le condizioni di coltivazione “convenzionali”, dove la disponibilità di azoto nel terreno risulta essere, solitamente, il principale fattore limitante nel determinare il contenuto proteico della granella. L’elaborazione GIS dei dati relativi all’accumulo di proteine nella granella ha evidenziato che alcune aziende, localizzate ai margini occidentali e orientali dell’area oggetto di studio, hanno fornito le cariossidi con i livelli proteici più elevati (Figure 18-19-20). Al contrario, le aziende localizzate nella zona centrale hanno mostrato valori più bassi nel contenuto in proteine. Confrontando le mappe di qualità ottenute per i due parametri presi in esame, si è potuto osservare che le aziende localizzate nella zona orientale dell’area oggetto di studio sono risultate caratterizzate da una bassa produttività e da un elevato contenuto proteico. Nel contempo, alcune località dell’area occidentale sono emerse per la produzione di granella di KAMUT® caratterizzata da elevati livelli proteici e, al tempo stesso, per l’elevata produttività.



**Figura 18.** Distribuzione geografica dei valori di proteine (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l’annata agraria 2010.



**Figura 19.** Distribuzione geografica dei valori di proteine (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.



**Figura 20.** Distribuzione geografica dei valori di proteine (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

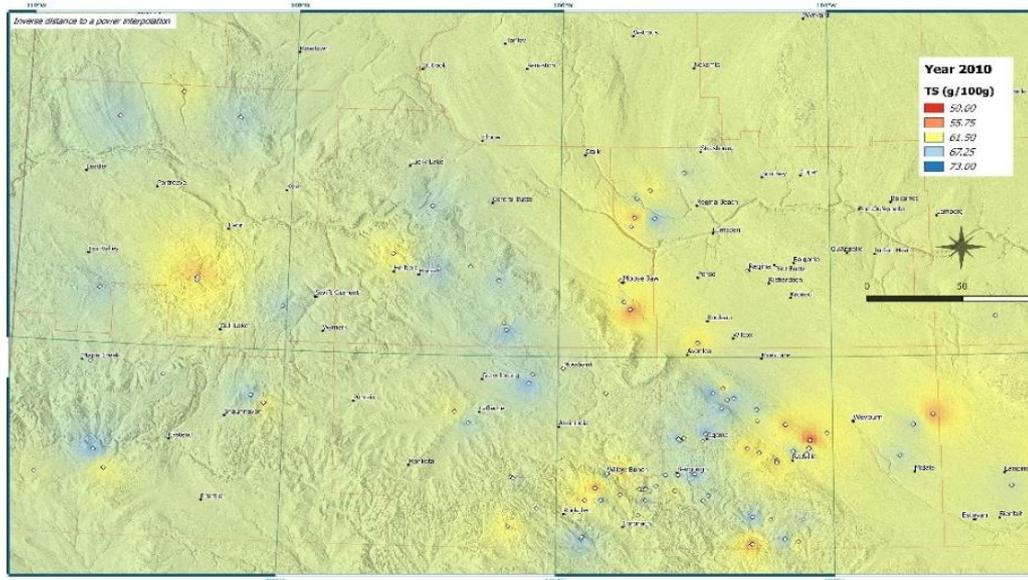
#### 4.2.4 Amido Totale

L'amido rappresenta il principale nutriente degli alimenti a base di farina di frumento, costituendo circa il 90% dei carboidrati presenti nella cariosside. Nel presente lavoro, il contenuto in amido totale è risultato variare all'interno di un intervallo molto ampio (52,21-74,89 g/100g), con un valore medio pari a 65,06 ± 3,74 g/100g (Tabella 6).

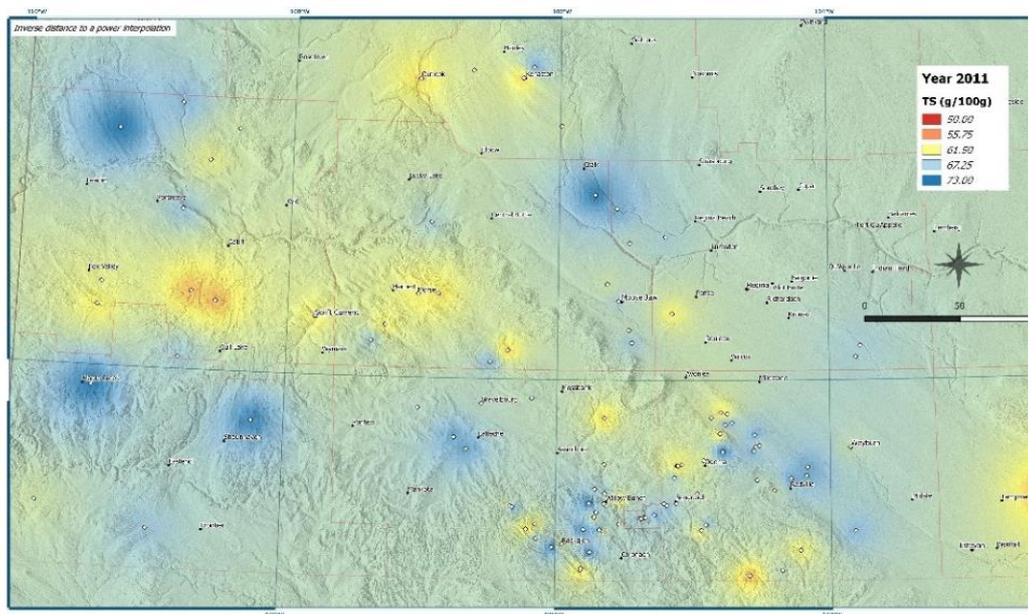
<b>Anno</b>	<b>Amido Totale (g/100g)</b>	<b>Amido Resistente (g/100g)</b>	<b>Fibre Insolubili (g/100g)</b>	<b>Fibre Solubili (g/100g)</b>	<b>Fibre Totali (g/100g)</b>
2010	52.22-71.97 <b>(63.63) b</b>	0.22-1.78 <b>(0.66) b</b>	11.16-19.19 <b>(14.41) b</b>	1.26-4.89 <b>(3.34) c</b>	13.57-23.82 <b>(17.76) b</b>
2011	55.94-71.87 <b>(65.30) a</b>	0.18-2.15 <b>(0.54) c</b>	9.91-21.53 <b>(15.56) a</b>	1.96-6.42 <b>(3.64) b</b>	12.97-23.89 <b>(19.20) a</b>
2012	57.97-74.89 <b>(65.95) a</b>	0.14-2.07 <b>(0.78) a</b>	12.14-19.78 <b>(15.30) a</b>	1.45-5.43 <b>(3.87) a</b>	13.99-23.75 <b>(19.17) a</b>
<b>Totale</b>	<b>65.06</b>	<b>0.67</b>	<b>15.12</b>	<b>3.64</b>	<b>18.76</b>

**Tabella 6:** Contenuti in Amido e in Fibre alimentari registrati nelle tre annate agrarie

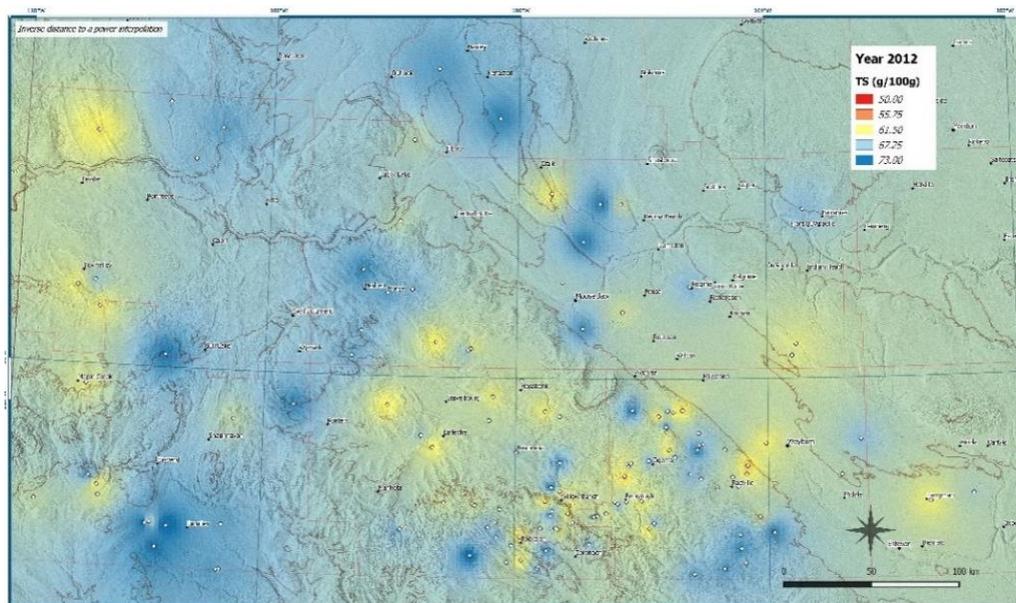
Considerando le tre stagioni di crescita, un incremento del contenuto in amido è stato osservato per i campioni raccolti nel 2011 e nel 2012 (Tabella 6) rispetto a quanto ottenuto nell'annata precedente, anche se generalmente il contenuto in amido delle cariossidi di frumento è considerato un fattore a predominante determinazione genetica. La maggior parte delle aziende (56%) ha fornito campioni di granella con un contenuto in amido totale che è risultato essere in linea con il valore medio osservato. Soltanto 76 campioni su 367 sono emersi per il maggiore contenuto in amido totale. Questo si riflette nelle mappe di qualità riportate nelle Figure 21-22-23, dove si evince che nella maggior parte dell'area oggetto di studio è stata prodotta granella di KAMUT® caratterizzata da un contenuto in amido totale compreso tra 62,0 e 68,0 g/100g (colori giallo/blu). La distribuzione geografica dei valori di amido osservati è risultata pressoché complementare a quella ottenuta per il contenuto proteico. Questo evidenzia la competizione tra le vie metaboliche che portano alla sintesi di amido e di proteine: pertanto ad un maggiore accumulo nella cariosside di amido corrisponde un minor contenuto in composti proteici e viceversa. Come evidenziato in letteratura, esiste infatti una correlazione negativa tra il contenuto proteico e il contenuto in amido totale nella cariosside (Hucl e Chibbar, 1996). Tale affermazione non è stata confermata dalle analisi di correlazione effettuate per la produzione del grano khorasan KAMUT®, anche se la mappa GIS sembrerebbe confermare questa affermazione, mostrando valori elevati per il contenuto in amido totale all'interno dell'area che ha fatto registrare i più bassi valori in contenuto proteico (Figure 21-22-23).



**Figura 21.** Distribuzione geografica dei valori di amido totale (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010..



**Figura 22.** Distribuzione geografica dei valori di amido totale (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011..

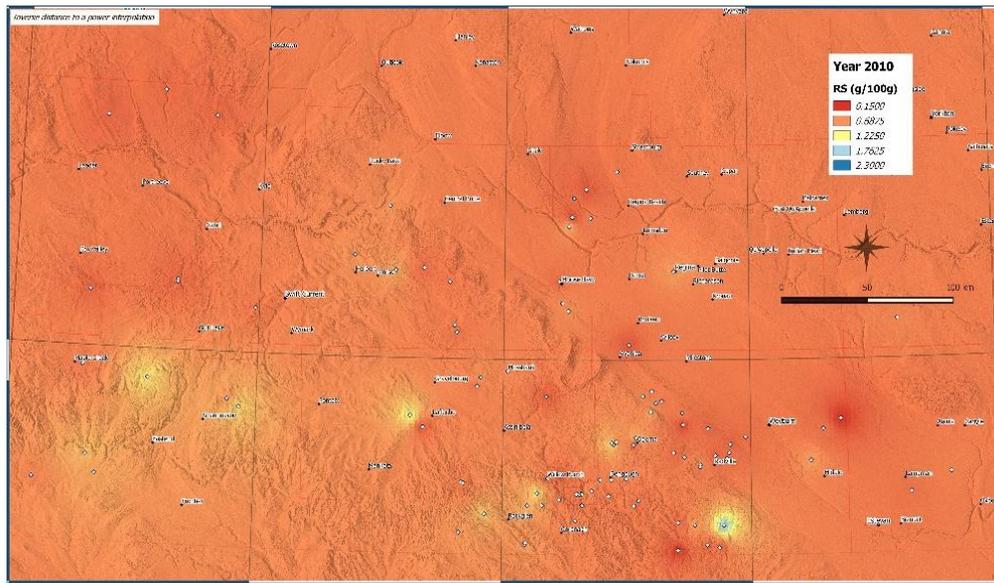


**Figura 23.** Distribuzione geografica dei valori di amido totale (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012..

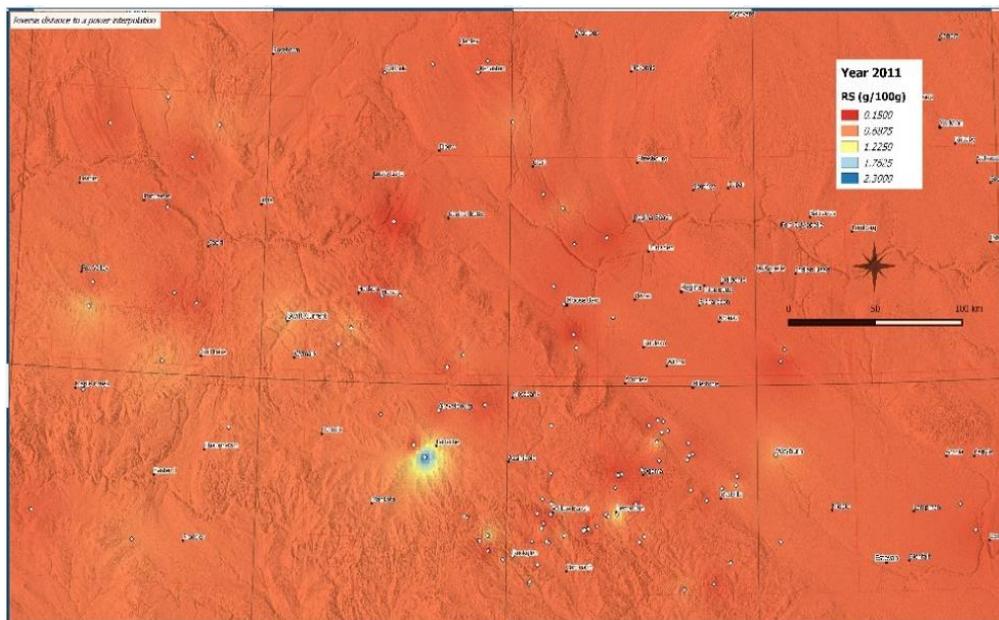
#### 4.2.5 Amido Resistente

L'amido resistente (RS) è una frazione di amido che non può essere digerita nell'intestino tenue e fermenta nell'intestino crasso con conseguente produzione di idrogeno, anidride carbonica, metano e acidi grassi a catena corta (Mann et al., 2007). Per quanto riguarda il contenuto in amido resistente, nelle tre annate agrarie, sono stati ottenuti valori compresi tra 0,14 e 2,15 g/100g (Tabella 6). In 139 campioni su 367 (38%) il contenuto in amido resistente è risultato superiore al valore medio osservato per l'intera serie di dati ( $0,67 \pm 0,34$  g/100g). Solo per l'annata agraria relativa al 2011 sono state osservate differenze significative. La cariosside di frumento può infatti presentare livelli variabili di amido resistente, in relazione alla dimensione e alla composizione dei granuli di amido. Il contenuto in amido resistente è una caratteristica varietale che però risulta fortemente influenzata da fattori ambientali e di trasformazione che possono influenzare l'organizzazione strutturale delle molecole di amido. Nel presente studio, il contenuto in amido resistente è risultato principalmente determinato dalle condizioni climatiche, come evidenziato dall'elevata variabilità osservata tra le diverse annate agrarie e tra le diverse località. I campioni raccolti nel 2011 hanno mostrato un contenuto medio di RS ( $0,54 \pm 0,22$  g/100g) inferiore rispetto ai

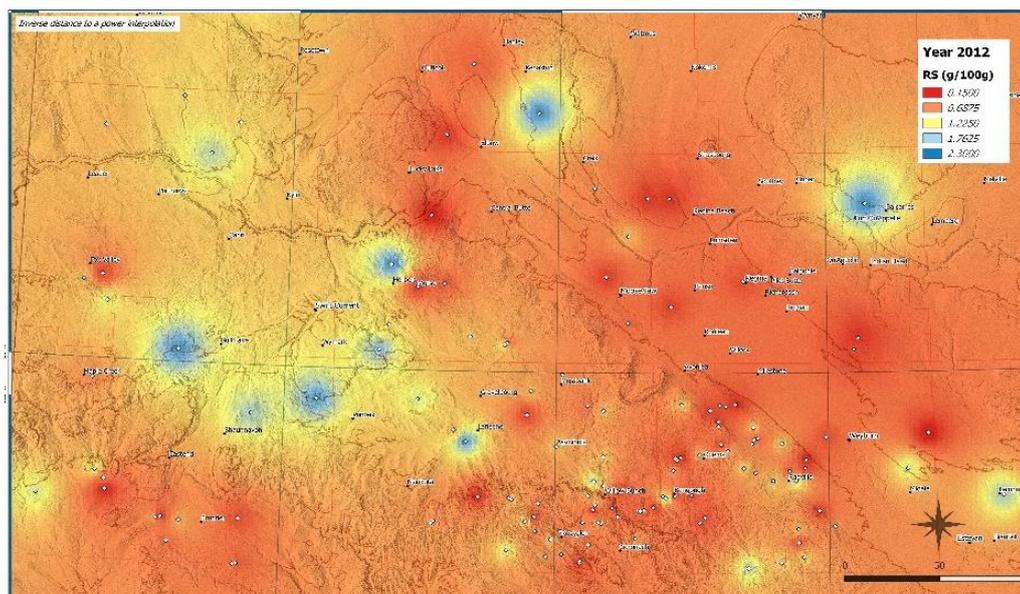
campioni raccolti nel 2010 e nel 2012, che ha fatto registrare valori medi più alti (Tabella 6). In letteratura non sono presenti informazioni riguardo agli effetti delle condizioni ambientali sull'accumulo di amido resistente nel frumento. Tuttavia, un precedente studio ha evidenziato come le condizioni di crescita (con particolare riferimento alla disponibilità di acqua) possano esercitare una significativa influenza sulle dimensioni e distribuzione dei granuli di amido nella cariosside di frumento, oltre che determinare il contenuto in amido totale e amilosio (Zhong-Min *et al.*, 2008). Dunque è ipotizzabile che i cambiamenti ambientali abbiano indotto modificazioni nella composizione dell'amido e nelle dimensioni dei granuli, conferendo resistenza alla digestione ad una maggiore quota dell'amido totale. Inoltre, il notevole incremento della frazione di amido resistente nella granella prodotta nel 2012 può essere associato anche all'aumento del contenuto in amido totale precedentemente descritto. La mappa di qualità ottenuta per l'amido resistente ha dimostrato che nella parte occidentale dell'area oggetto di studio è possibile produrre granella caratterizzata da una frazione più alta di amido resistente, ideale per lo sviluppo di prodotti finali caratterizzati da basso indice glicemico e con elevate proprietà prebiotiche (Figure 24-25-26). La frazione di amido resistente, infatti, rappresenta nel frumento una componente minoritaria della fibra totale, ma di grande interesse per le sue spiccate proprietà funzionali (azione ipocolesterolemizzante, modulatore risposta insulinemica, attività prebiotica) (Sajilata *et al.* 2006; Fuentes-Saragoza *et al.* 2010).



**Figura 24.** Distribuzione geografica dei valori di amido resistente (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010..



**Figura 25.** Distribuzione geografica dei valori di amido resistente (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011..



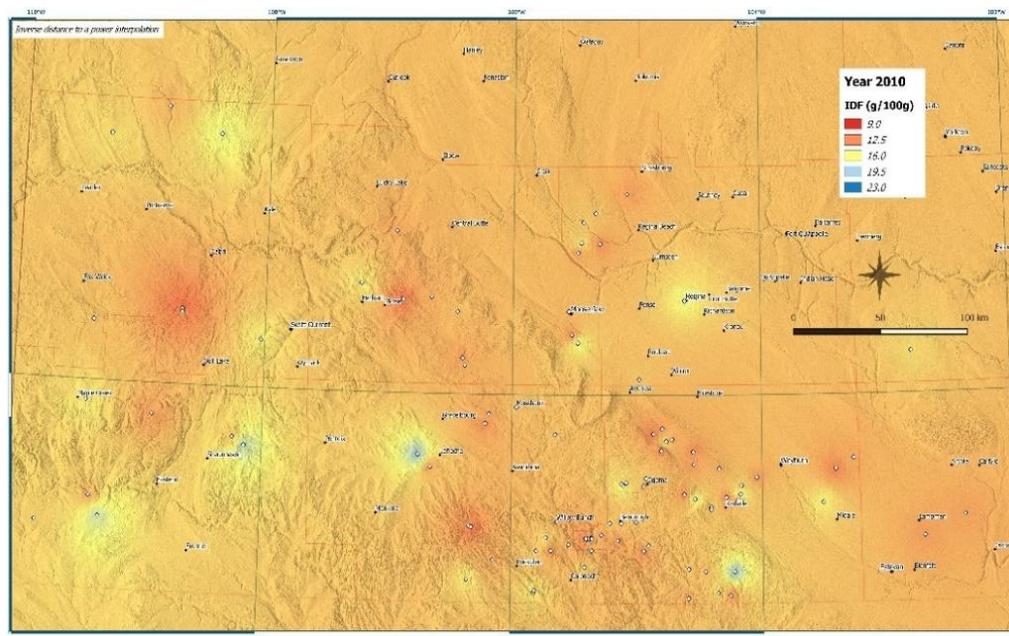
**Figura 26.** Distribuzione geografica dei valori di amido resistente (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

### 4.3 Analisi dei composti funzionali

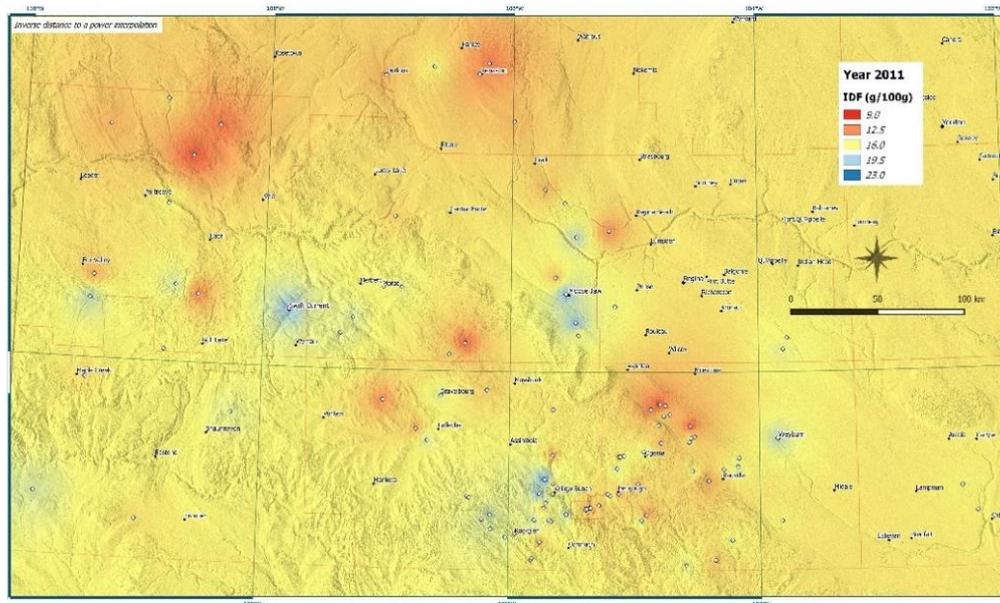
#### 4.3.1 Fibre Solubili e Insolubili

Con il termine fibra alimentare si indicano i polisaccaridi non amilacei, componenti le pareti delle cellule, il parenchima o alcune secrezioni dei tessuti vegetali e la lignina che sono resistenti alla digestione da parte degli enzimi dell'intestino tenue dell'uomo. La fibra insolubile (IDF), costituita da lignina, cellulosa e da una parte dell'emi-cellulosa, è caratterizzata da un'elevata capacità di fissare acqua (la cellulosa purificata può assorbirne da 5 a 10 volte il suo peso). Grazie a tale proprietà, sono particolarmente indicate nella regolazione delle funzioni intestinali (prevenzione e trattamento della stipsi, della diverticolosi intestinale e del tumore al colon), grazie alla loro azione di stimolo della peristalsi intestinale e alla riduzione del tempo di contatto con la mucosa intestinale di sostanze potenzialmente nocive (tossiche e cancerogene). Nel presente lavoro, è stata osservata una forte influenza della località di coltivazione sull'accumulo di componenti della fibra alimentare nella cariosside. Il contenuto in fibra insolubile (IDF) è risultato variare tra 9,91 e 21,53 g/100g, con un valore medio pari a  $15,12 \pm 1,68$  g/100g. Inoltre, è stata osservata una differenza significativa tra i campioni raccolti nel 2010 e quelli raccolti nelle due annate agrarie successive. Nel 2010

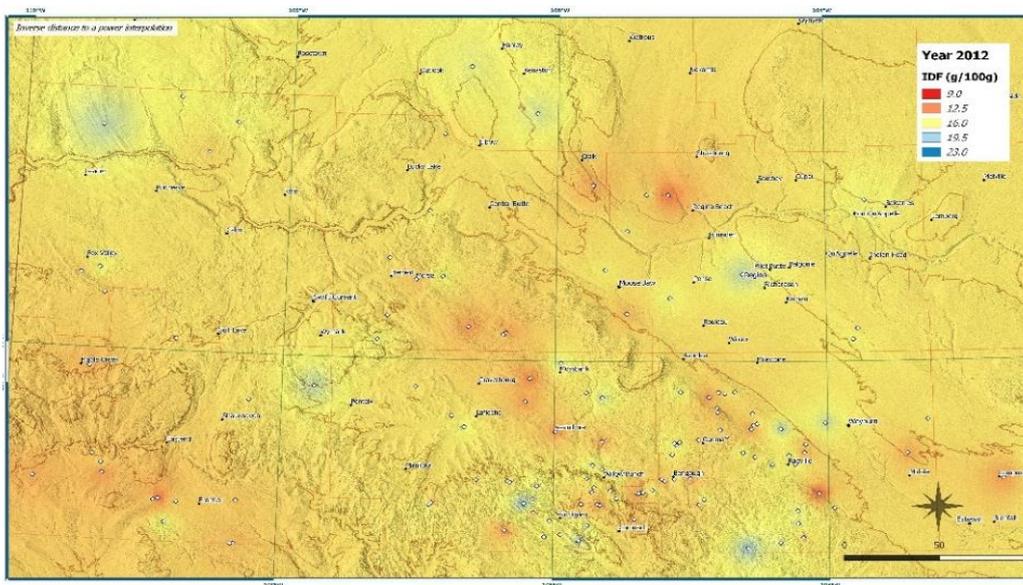
sono stati registrati valori compresi tra 11,16 e 19,19 g/100g, con valori medi di  $14,41 \pm 1,52$  g/100g. Durante l'annata agraria relativa al 2011 si sono osservati valori compresi tra 9,9 e 21,53 g/100g con valori medi di  $15,56 \pm 1,94$  g/100g. Mentre per il 2012 il range è risultato variare all'interno di valori compresi tra 12,13 e 19,78 g/100g, facendo registrare valori medi di  $15,30 \pm 1,38$  g/100g. Il 51% delle aziende (188) ha fornito campioni di granella in cui il contenuto di fibra insolubile è risultato superiore al valore medio ottenuto per l'intero set sperimentale. Considerando la distribuzione geografica dei valori della fibra insolubile, è stato possibile osservare più di una regione (verde/blu) in cui l'accumulo della frazione insolubile della fibra è risultato più elevato (Figure 27-28-29).



**Figura 27.** Distribuzione geografica dei valori di fibra insolubile (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.



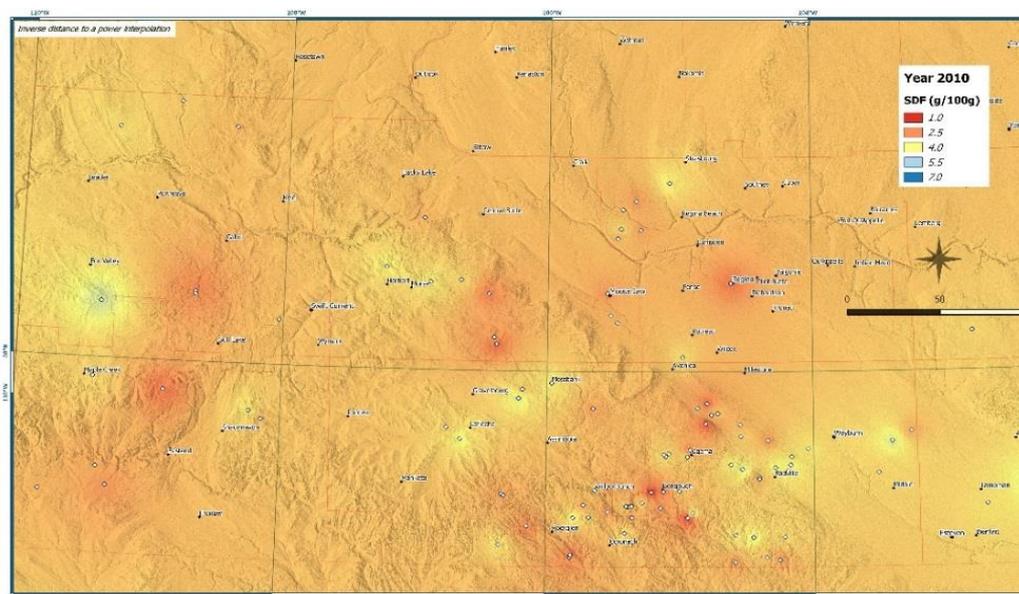
**Figura 28.** Distribuzione geografica dei valori di fibra insolubile (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.



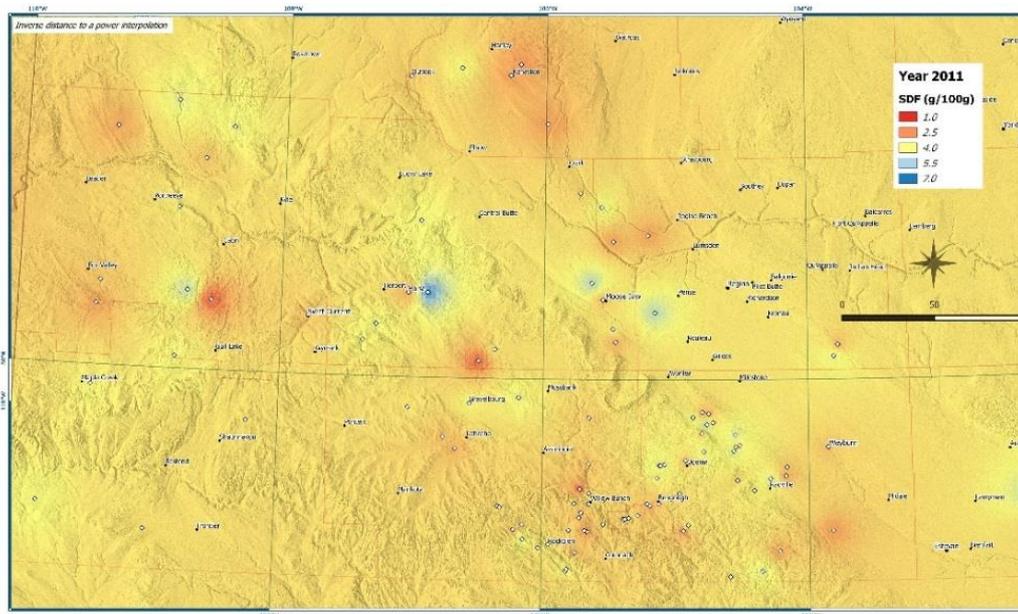
**Figura 29.** Distribuzione geografica dei valori di fibra insolubile (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012..

Per quanto riguarda le componenti solubili (SDF), durante le tre annate agrarie sono stati osservati valori compresi tra 1,26 e 6,42 g/100g (Tabella 6), con un valore medio pari a  $3,64 \pm 0,69$  g/100g. Differenze significative sono state osservate soltanto per il contenuto in SDF dei campioni raccolti per l'annata agraria relativa al 2010. Nel 2010, infatti, sono stati osservati valori compresi tra 1,2 e 4,9 g/100g, con valori medi di  $3,3 \pm 0,7$  g/100g. Per i campioni raccolti nel

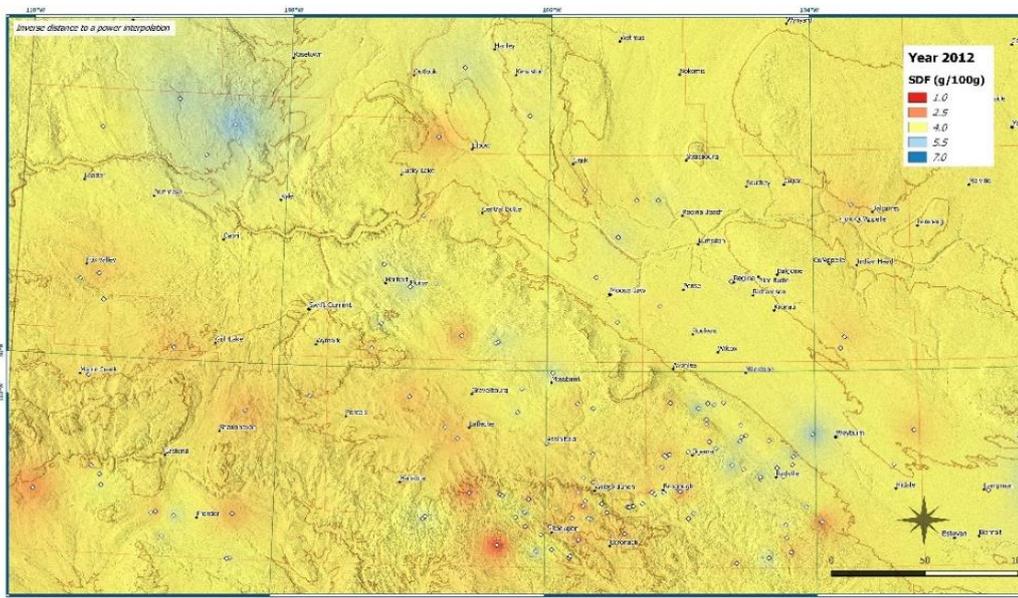
2011 sono stati registrati valori più alti e compresi tra 1,9 e 6,4 g/100g con valori medi di  $3,6 \pm 0,7$  g/100g. Mentre per il 2012 il range è risultato variare all'interno di valori compresi tra 1,4 e 5,4 g/100g, facendo registrare valori medi di  $3,8 \pm 0,6$  g/100g. In 190 campioni su 367 (52%), il contenuto in fibra solubile è risultato superiore rispetto al valore medio osservato. Le condizioni climatiche calde e secche verificatesi nel 2012 durante il periodo che va dalla spigatura alla raccolta, hanno probabilmente influenzato lo sviluppo proporzionale dei tessuti della cariosside (endosperma, aleurone, pericarpo) e le dimensioni del seme, che sono strettamente correlati all'accumulo di fibra alimentare. Infatti è stata osservata un'elevata variabilità delle componenti sia insolubili che solubili in funzione sia dell'anno che della zona di produzione. La mappa GIS ottenuta per il contenuto in fibra solubile ha evidenziato il maggior accumulo di tali componenti in alcune aziende localizzate in vari punti dell'area di produzione del KAMUT® (Figure 30-31-32). Come è possibile osservare dalle mappe di qualità, infatti, alcune aziende agricole, localizzate ai margini orientali e occidentali dell'area di produzione del KAMUT® hanno fornito campioni di granella con una più alta frazione di fibra solubile, particolarmente idonea per la produzione di specialità alimentari dotate di specifiche proprietà prebiotiche.



**Figura 30.** Distribuzione geografica dei valori di fibra solubile (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.



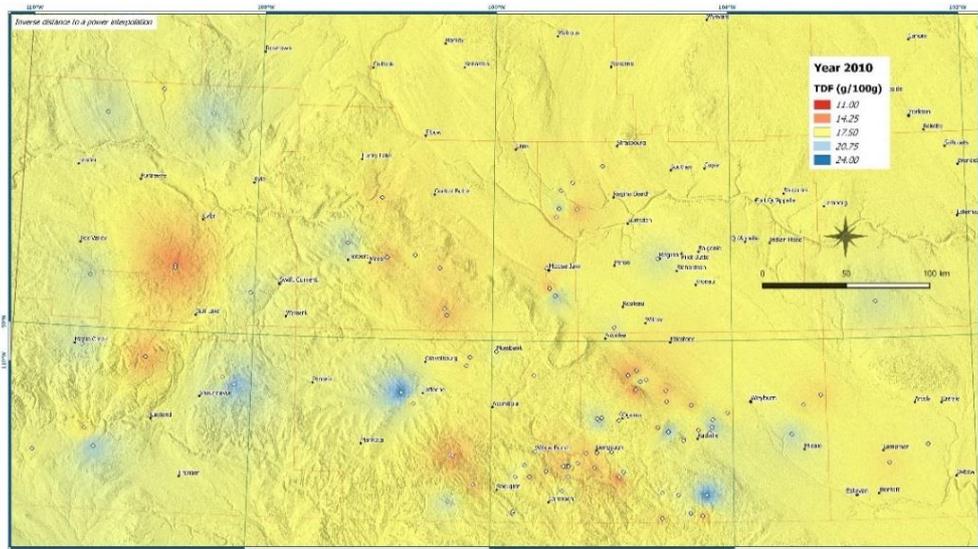
**Figura 31.** Distribuzione geografica dei valori di fibra solubile (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011..



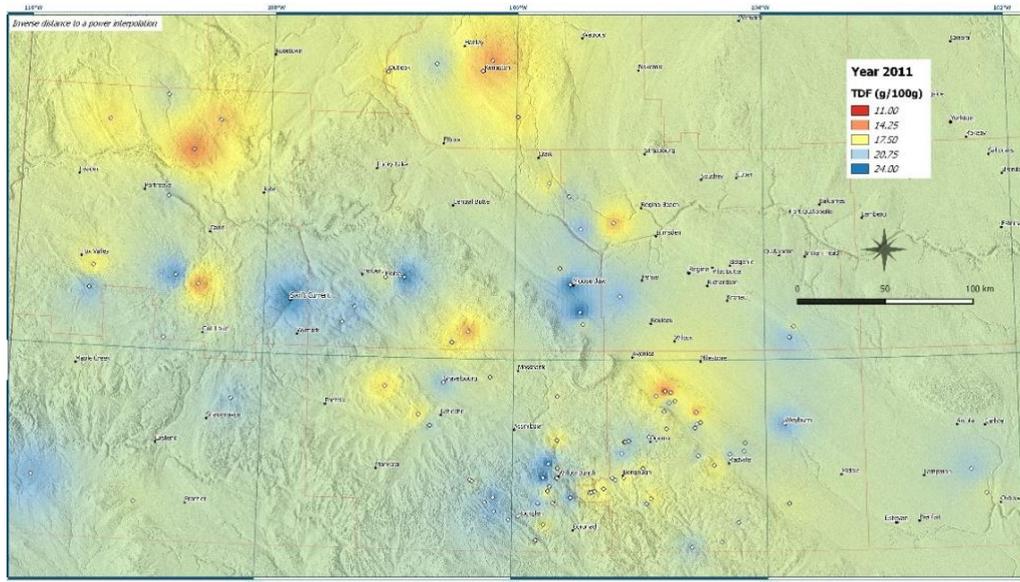
**Figura 32.** Distribuzione geografica dei valori di fibra solubile (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012..

Anche il contenuto in fibra totale (TDF) è risultato variare all'interno di un intervallo molto ampio (12,97-23,9 g/100g). In 182 campioni su 367 (49%) il

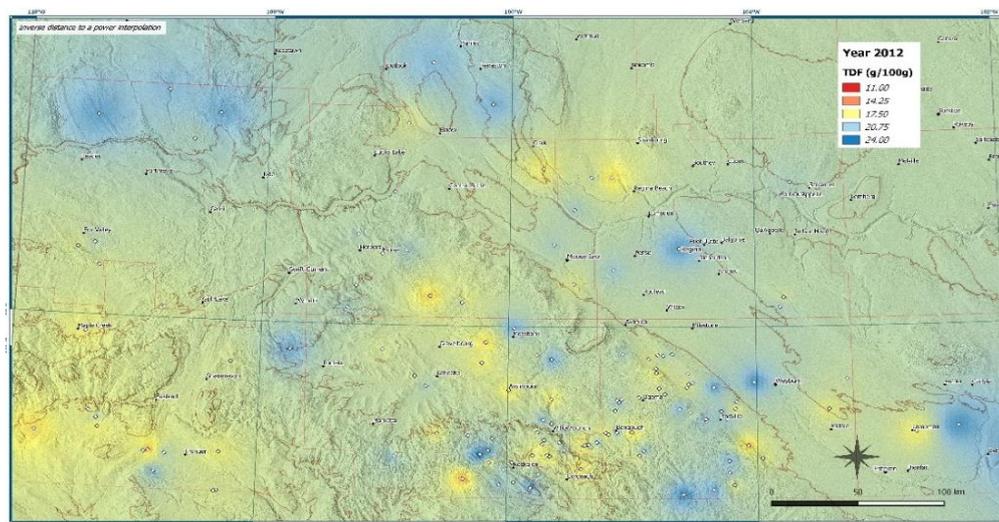
contenuto in fibre è risultato maggiore rispetto al valore medio osservato ( $18,76 \pm 1,9$  g/100g). La mappa di qualità ottenuta per il contenuto in fibra totale è stata largamente influenzata dal contributo fornito dalla frazione insolubile (IDF) e ha permesso di evidenziare, ancora una volta, il maggiore accumulo di tali componenti in alcune aziende localizzate nella regione occidentale dell'area di produzione. (Figure 33-34-35).



**Figura 33.** Distribuzione geografica dei valori di fibra totale (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010..



**Figura 34.** Distribuzione geografica dei valori di fibra totale (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.



**Figura 35.** Distribuzione geografica dei valori di fibra totale (g/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

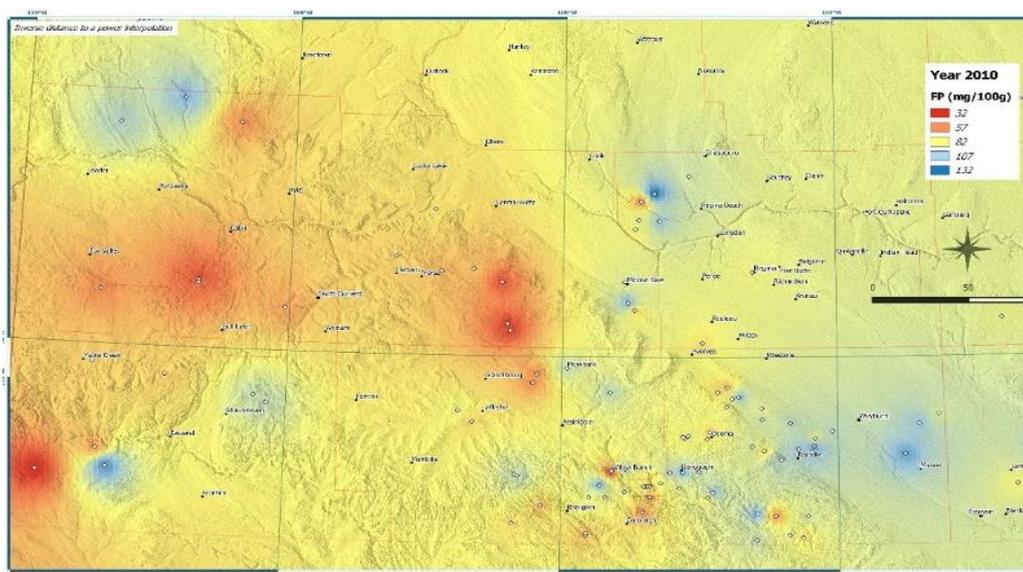
### 4.3.2 Polifenoli e Flavonoidi

Anno	FP (mg/100g)	BP (mg/100g)	TP (mg/100g)	FF (mg/100g)	BF (mg/100g)	TF (mg/100g)
2010	34.50-	11.28-	51.12-	13.95-	6.63-	22.45-
	130.72	115.33	223.38	72.67	23.83	83.60
	<b>(80.59) a</b>	<b>(82.98) b</b>	<b>(163.58) a</b>	<b>(27.93) b</b>	<b>(11.32) c</b>	<b>(39.26) b</b>
2011	41.21-	43.99-	98.57-	4.68-	1.71-	18.51-
	131.11	147.53	220.19	51.67	39.10	84.72
	<b>(68.93) b</b>	<b>(88.93) a</b>	<b>(157.86) a</b>	<b>(24.18) c</b>	<b>(15.72) a</b>	<b>(39.90) b</b>
2012	20.86-	9.99-	43.94-	19.61-	0.26-	20.34-
	111.28	101.61	200.97	46.14	31.79	70.43
	<b>(55.98) c</b>	<b>(60.75) c</b>	<b>(116.73) b</b>	<b>(31.80) a</b>	<b>(13.42) b</b>	<b>(45.23) a</b>
<b>Totale</b>	<b>67.38</b>	<b>76.26</b>	<b>143.64</b>	<b>28.24</b>	<b>13.53</b>	<b>41,77</b>

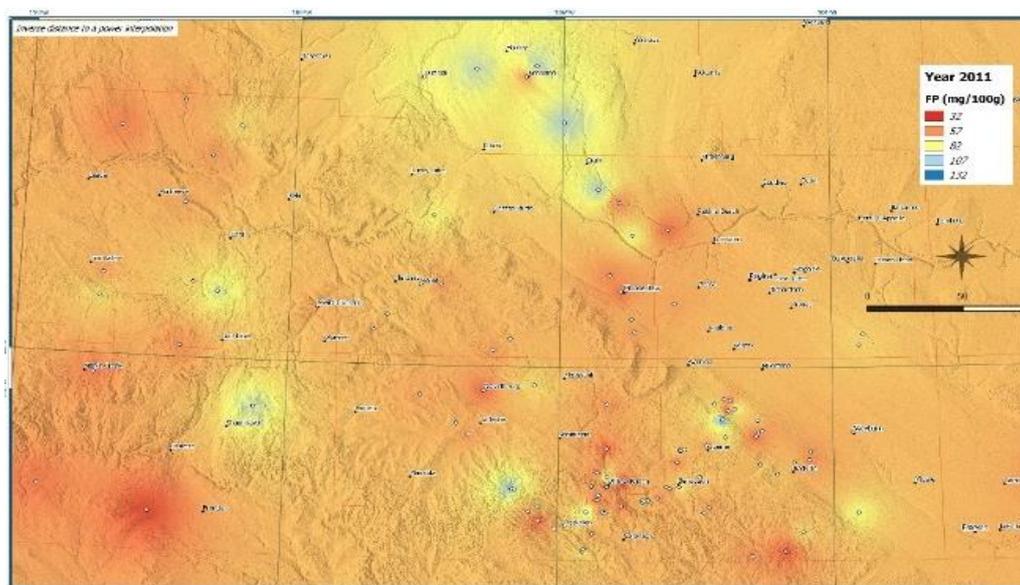
**Tabella 7.** Intervalli di variazione osservati nei 367 campioni di KAMUT® oggetto di studio per il contenuto in antiossidanti (polifenoli e flavonoidi liberi e legati).

I polifenoli costituiscono una vasta famiglia di molecole organiche largamente presenti nel regno vegetale. Dal punto di vista chimico, i polifenoli sono molecole composte da molteplici gruppi fenolici (composti organici che possiedono uno o più gruppi ossidrilici - OH legati ad un anello aromatico) associati in strutture più o meno complesse, generalmente di alto peso molecolare. In base alla loro struttura possono essere schematicamente distinti in tre diverse classi principali, quella dei fenoli semplici, quella dei flavonoidi e quella dei tannini. I polifenoli svolgono numerose azioni benefiche per la salute dell'uomo, tra cui meritano menzione l'attività anti-ossidante (tramite sequestro dei radicali liberi e correlate azioni di *radical scavenger*), l'azione protettiva a livello cardio-vascolare (tramite

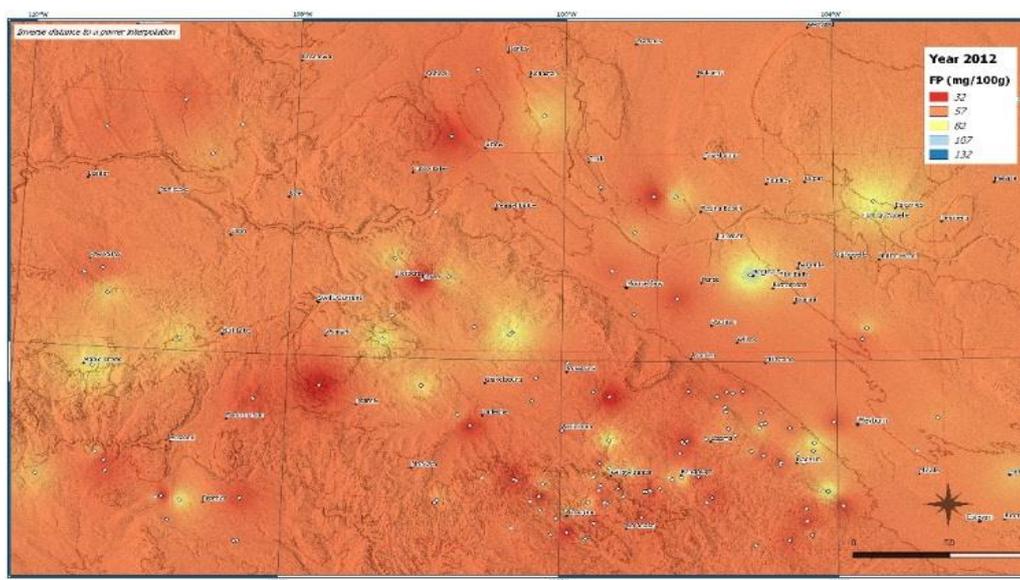
riduzione della coagulazione delle piastrine, inibizione dell'ossidazione delle lipoproteine LDL, modulazione del metabolismo degli eicosanoidi), l'azione anti-tumorale, anti-infiammatoria (inibizione della cascata dell'acido arachidonico), anti-batterica e anti-virale. I campioni di KAMUT® oggetto del presente lavoro hanno mostrato valori di polifenoli e flavonoidi molto diversi tra le località. Il contenuto in polifenoli liberi “free” (FP) è risultato variare all'interno di un intervallo molto ampio, compreso tra 20,8 e 131,1 mg/100g. I campioni analizzati hanno mostrato variazioni significative nel corso delle tre annate agrarie (Tabella 7). Nel 2010 sono stati registrati i valori più alti, compresi tra 34,5 e 130,7 mg/100g con valori medi di  $80,59 \pm 21,32$  mg/100g. Per quanto riguarda l'annata agraria relativa al 2011 sono stati osservati valori compresi tra 41,21 e 131,11 mg/100g con valori medi di  $68,93 \pm 15,15$  mg/100g, significativamente inferiori rispetto al 2010 ma più elevati se confrontati con i campioni raccolti nel 2012 che hanno fatto registrare valori medi di  $55,98 \pm 15,24$  mg/100g. In 160 campioni su 367 (43%), il contenuto in polifenoli liberi è risultato maggiore rispetto al valore medio osservato per l'intera serie di dati ( $67,3 \pm 19,9$  mg/100g). La mappa di qualità ottenuta per il contenuto in composti fenolici liberi ha evidenziato la presenza di un gradiente crescente da ovest verso est (Figure 36-37-38).



**Figura 36.** Distribuzione geografica dei valori di polifenoli liberi (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.



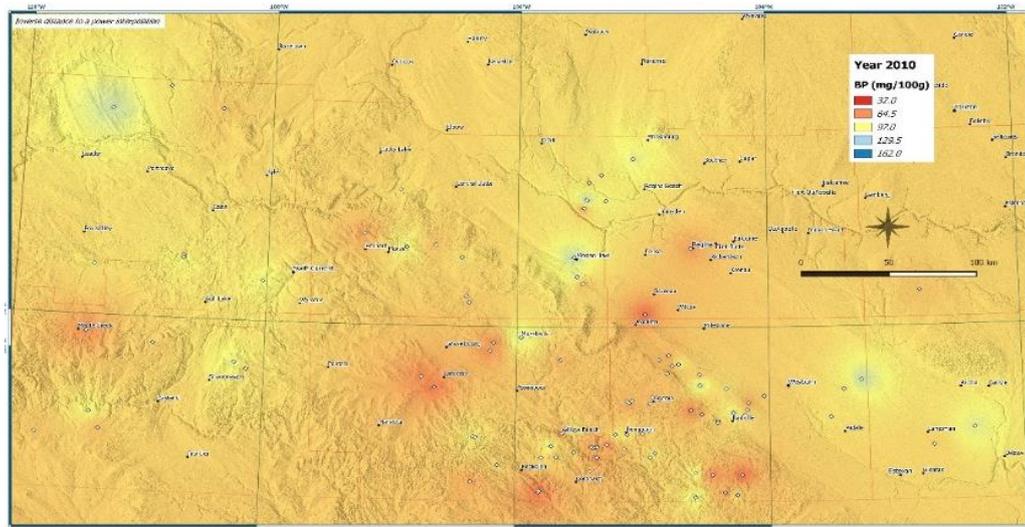
**Figura 37.** Distribuzione geografica dei valori di polifenoli liberi (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.



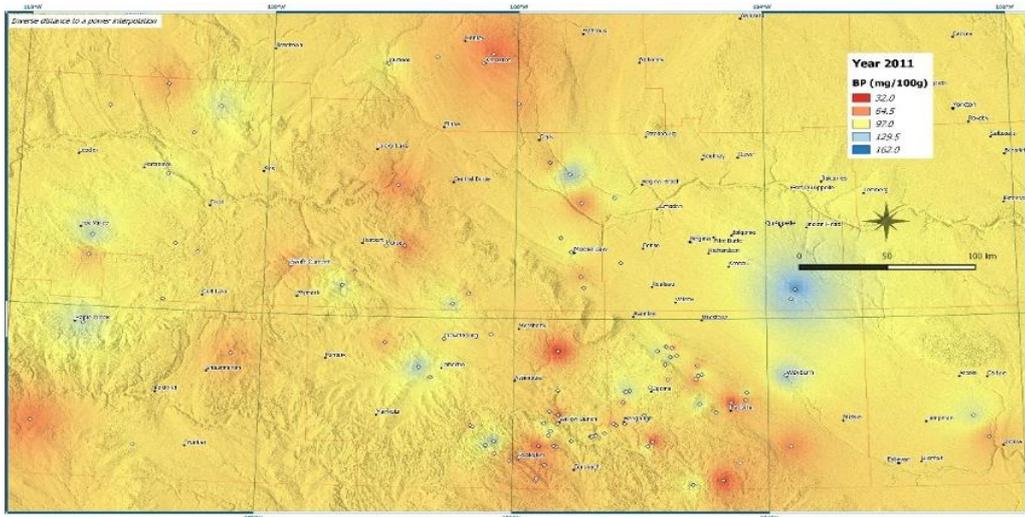
**Figura 38.** Distribuzione geografica dei valori di polifenoli liberi (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

Un intervallo di variazione molto ampio è stato osservato anche per il contenuto in polifenoli legati “bound” (9,99-147,5 mg/100g), facendo registrare anche quest'ultimo differenze significative tra i diversi anni di produzione. Nel 2012 sono stati registrati i valori più bassi, compresi tra 9,99 e 101,61 mg/100g con valori medi di  $60,75 \pm 18,9$  mg/100g, significativamente inferiori rispetto al 2010 e al 2011 che ha fatto registrare i valori medi più elevati ( $88,93 \pm 19,60$  mg/100g).

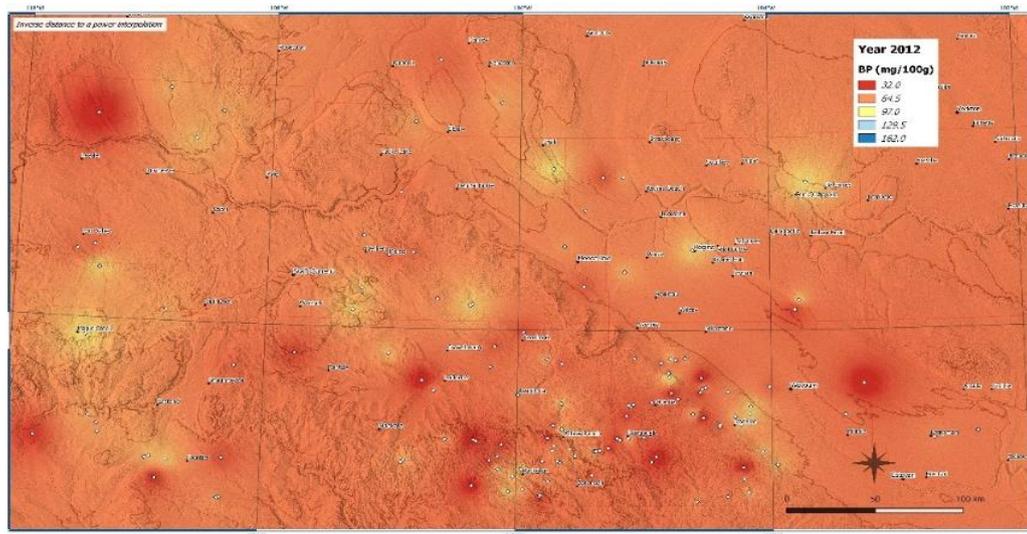
Il 54% dei campioni (198 su 367) era caratterizzato da un contenuto in polifenoli legati maggiore rispetto al valore medio osservato per l'intera serie di dati ( $59,9 \pm 19,29$  mg/100g). Osservando le mappe GIS ottenute per le due frazioni fenoliche si è potuto notare una sorta di compensazione tra polifenoli liberi e legati. Infatti, mentre il contenuto in composti fenolici liberi è risultato variare secondo un gradiente crescente da ovest verso est, il contenuto in polifenoli legati ha mostrato un trend opposto (Figure 39-40-41).



**Figura 39.** Distribuzione geografica dei valori di polifenoli legati (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.



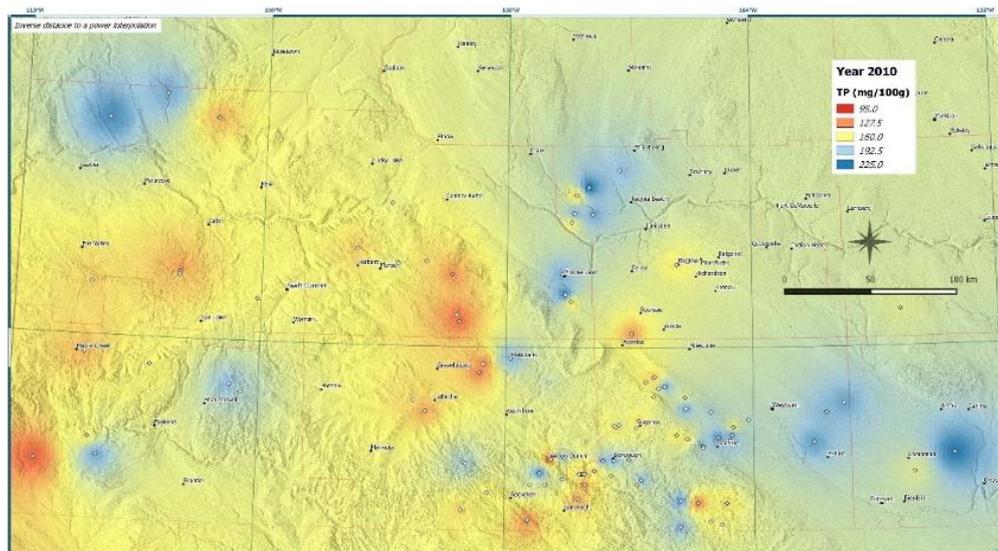
**Figura 40.** Distribuzione geografica dei valori di polifenoli legati (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.



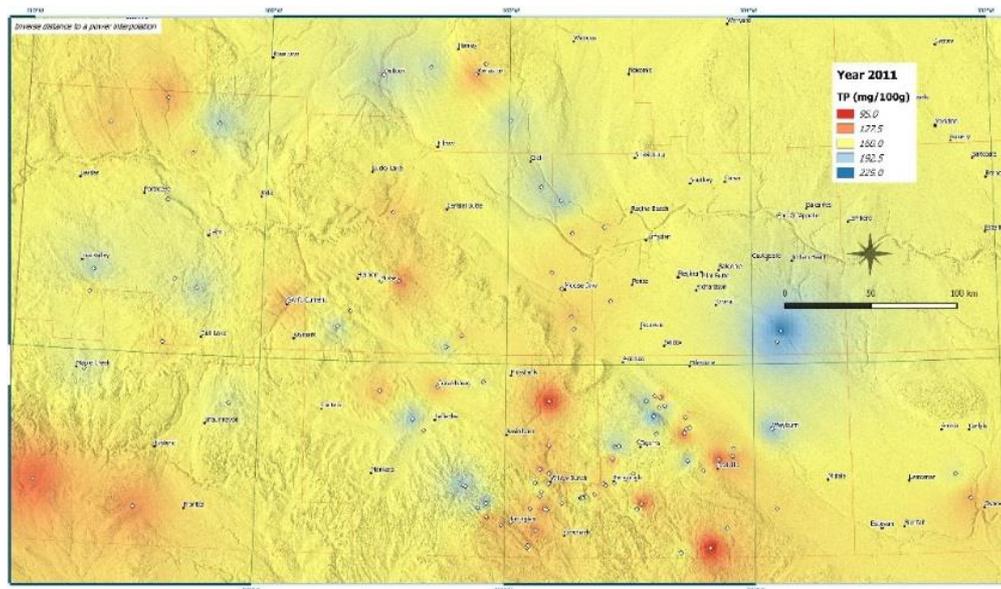
**Figura 41.** Distribuzione geografica dei valori di polifenoli legati (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012..

Nella cariosside di frumento i polifenoli liberi sono accumulati principalmente nell'endosperma e dunque non vengono persi durante l'abburrattamento delle farine. Al contrario, gran parte dei composti fenolici insolubili vengono persi nel processo di raffinazione poiché sono presenti principalmente nella crusca. Sulla base della distribuzione geografica osservata per polifenoli liberi e legati, sono state individuate delle aree di produzione caratterizzate da un maggior accumulo di composti fenolici liberi (zone azzurro/blu), le quali potrebbero quindi fornire granella di frumento khorasan destinata alla produzione di semola raffinata contraddistinta da un elevato contenuto in antiossidanti. Per quanto riguarda il contenuto in polifenoli totali (TP), è risultato variare all'interno di un intervallo compreso tra 43,9 e 223,38 mg/100g. Durante lo sviluppo della cariosside, l'accumulo di composti fenolici può variare in funzione del genotipo e dell'ambiente. Precedenti studi hanno evidenziato un'elevata variabilità nel contenuto in polifenoli sia tra diverse varietà di frumento che tra diversi ambienti di coltivazione, specialmente in relazione alle condizioni ambientali e alle pratiche colturali adottate (Adom *et al.*, 2005; Moore *et al.*, 2005; Okarter *et al.*, 2010; Heimler *et al.*, 2010; Zuchowski *et al.*, 2011; Di Silvestro *et al.*, 2012). Occorre sottolineare che in tale studio le relazioni osservate sono state fortemente influenzate dalle diverse condizioni climatiche verificatesi sia tra le diverse aree di produzione, sia tra le diverse annate agrarie. Tale evidenza conferma che le

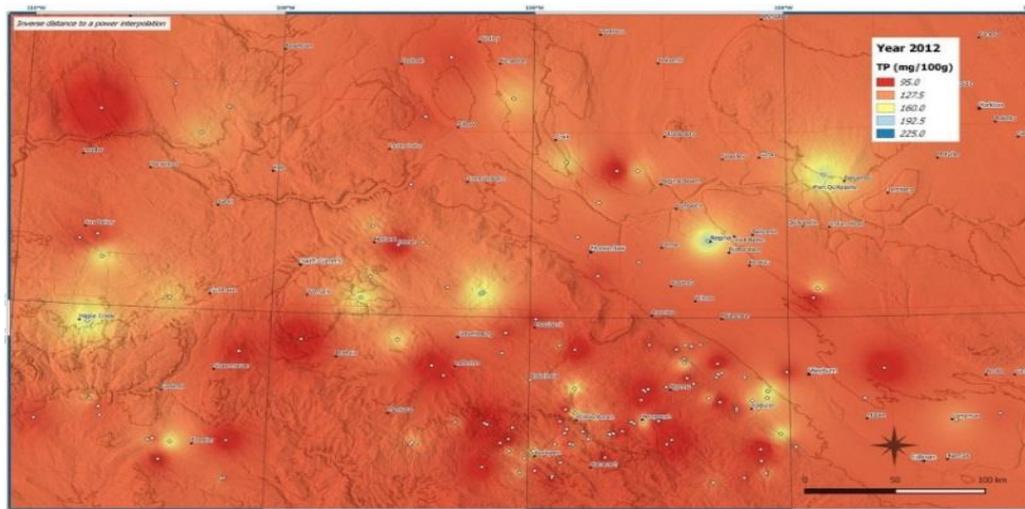
variazioni ambientali possono avere un impatto sull'accumulo di polifenoli. Nel presente studio, una correlazione negativa è stata osservata tra il contenuto in polifenoli totali e le temperature medie registrate. Inoltre, l'accumulo di tali composti risulta essere fortemente correlato con la piovosità. Infatti, i campioni di granella caratterizzati da un maggiore accumulo di tali composti sono stati raccolti nelle annate agrarie e nelle zone di produzione soggette a maggiore piovosità e caratterizzate da una più bassa temperatura media (2010). La variabilità osservata risulta dunque correlata alle condizioni climatiche fortemente divergenti per i tre cicli colturali. Secondo quanto indicato in letteratura, infatti, le condizioni di crescita che si verificano durante le fasi di riempimento delle cariossidi, possono essere associate ad un incremento della formazione di radicali liberi; conseguentemente, l'aumento dello stress ossidativo promuove nella pianta la biosintesi di antiossidanti, come autodifesa allo stress ambientale (Yu *et al.*, 2003). In aggiunta, la sintesi dei composti fenolici nelle piante può essere indotta da stress di tipo biotico e dunque la variabilità osservata tra le diverse annate e le diverse località potrebbe essere correlata anche alla presenza di patologie a differenti livelli di severità (Dixon e Paiva, 1995), che in questo caso potrebbero essere state favorite dalla presenza di elevate quantità di pioggia. Dal momento che il contenuto in polifenoli totali è dato dalla somma delle frazioni libere e legate, è plausibile che alcune località sono caratterizzate da un elevato contenuto di entrambe le frazioni. L'elaborazione GIS dei dati relativi all'accumulo di polifenoli totali ha inoltre evidenziato che le aziende agricole localizzate nelle zone orientali e occidentali dell'area oggetto di studio risultano idonee per la produzione di semola caratterizzata da un più elevato contenuto in composti fenolici (Figure 42-43-44).



**Figura 42.** Distribuzione geografica dei valori di polifenoli totali (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.

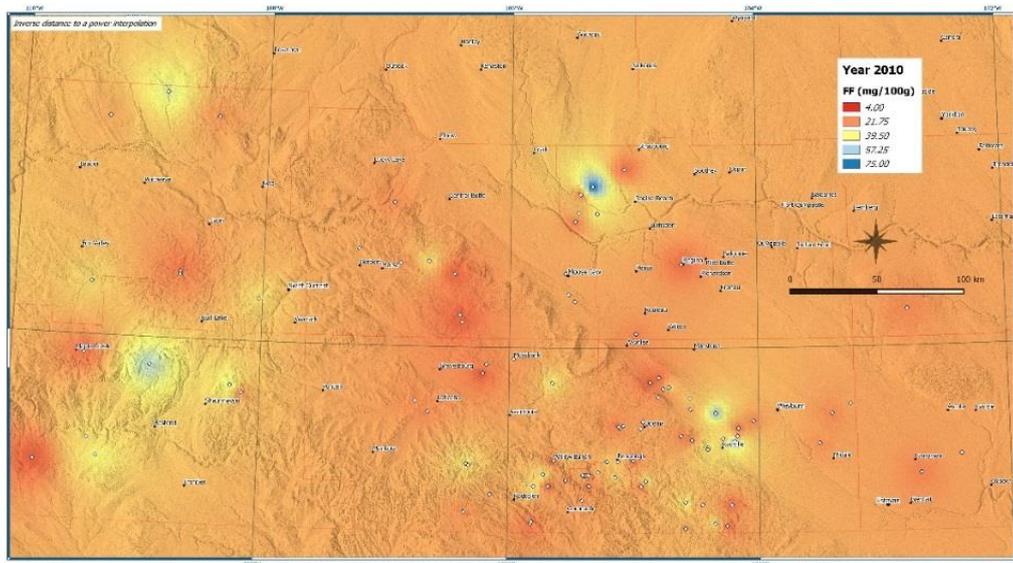


**Figura 43.** Distribuzione geografica dei valori di polifenoli totali (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.

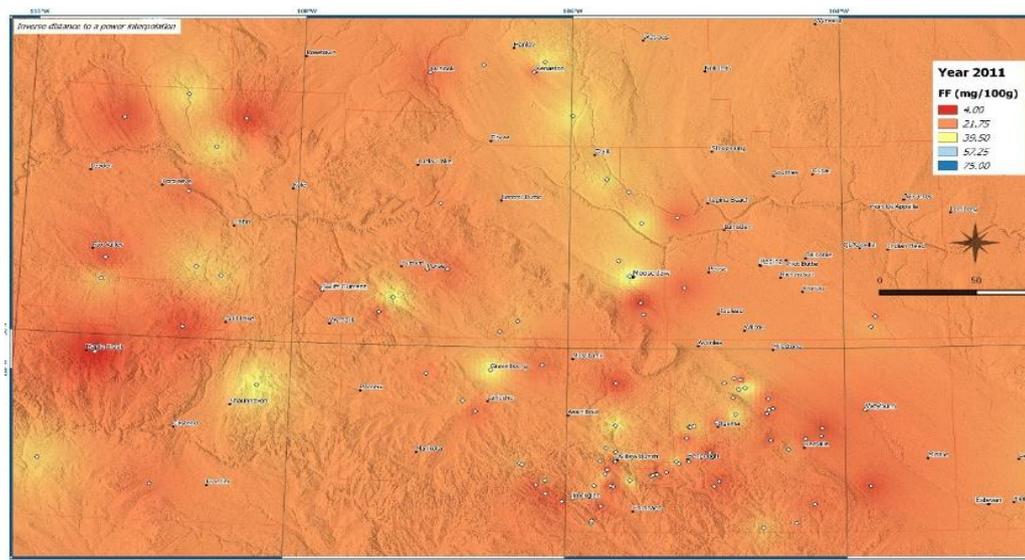


**Figura 44.** Distribuzione geografica dei valori di polifenoli totali (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

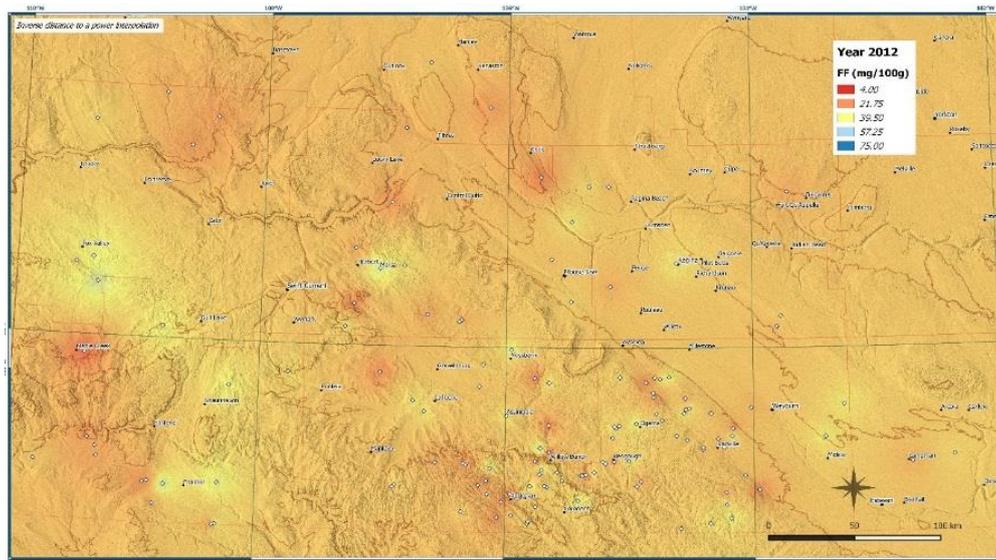
Il contenuto in flavonoidi liberi è risultato variare all'interno di un ampio intervallo, compreso tra 4,67 e 72,67 mg/100g (Tabella 7). In 183 campioni su 367 (49%), il contenuto di tali composti è risultato più elevato rispetto al valore medio osservato per l'intera serie di dati ( $28,24 \pm 9,0$  mg/100g). Anche in questo caso, sono state osservate variazioni significative tra i campioni prodotti per ciascuna annata agraria. Nel 2012 sono stati registrati i valori più alti, compresi tra 19,61 e 46,14 mg/100g con valori medi di  $31,8 \pm 6,14$  mg/100g, significativamente più elevati rispetto al 2010 e al 2011 che ha fatto registrare i valori medi più bassi ( $24,18 \pm 9,6$  mg/100g). A differenza di quanto osservato per il contenuto in polifenoli liberi, la mappa GIS non ha evidenziato nessun gradiente geografico ma sono state individuate alcune località in cui la granella ha mostrato un più elevato accumulo di flavonoidi solubili (Figura 45-46-47).



**Figura 45.** Distribuzione geografica dei valori di flavonoidi liberi (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.

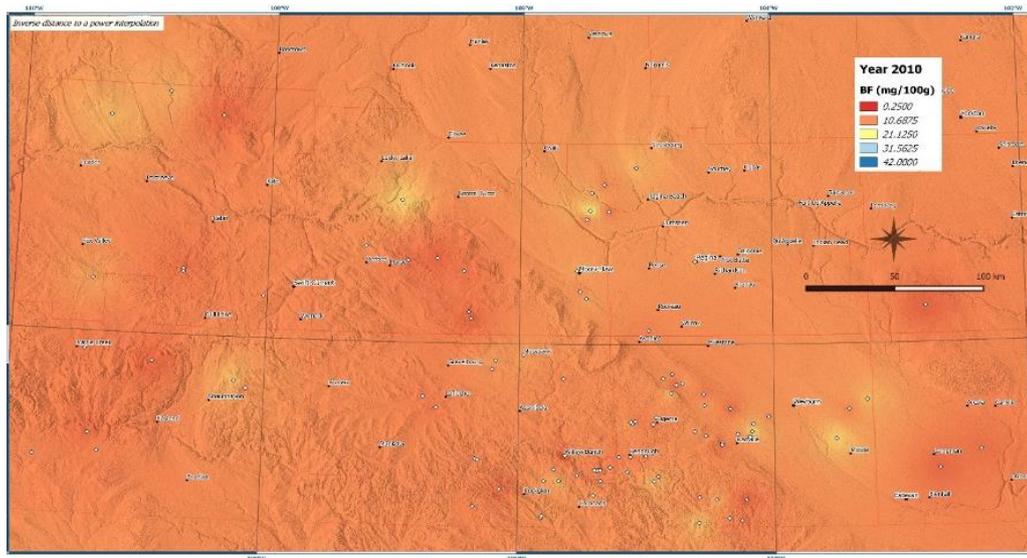


**Figura 46.** Distribuzione geografica dei valori di flavonoidi liberi (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.

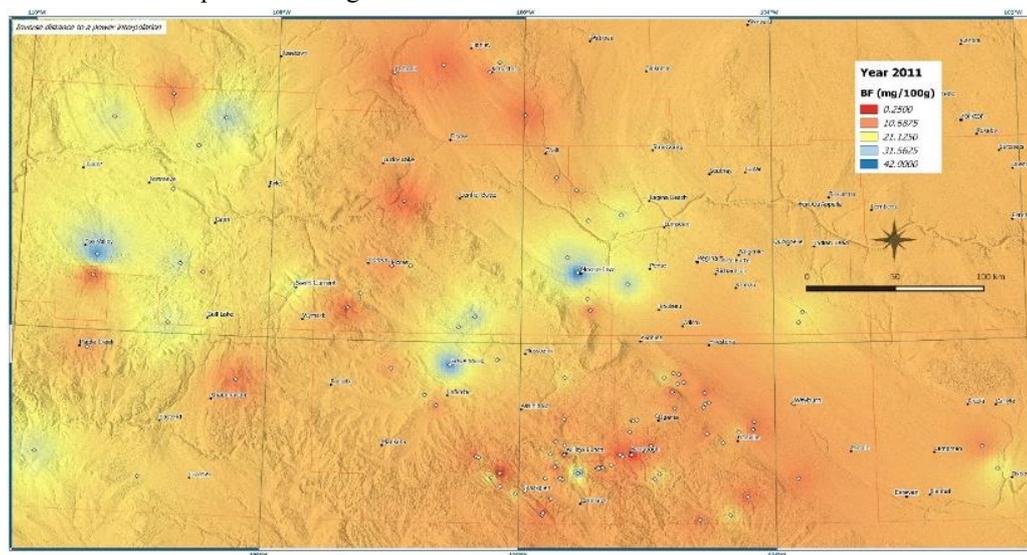


**Figura 47.** Distribuzione geografica dei valori di flavonoidi liberi (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

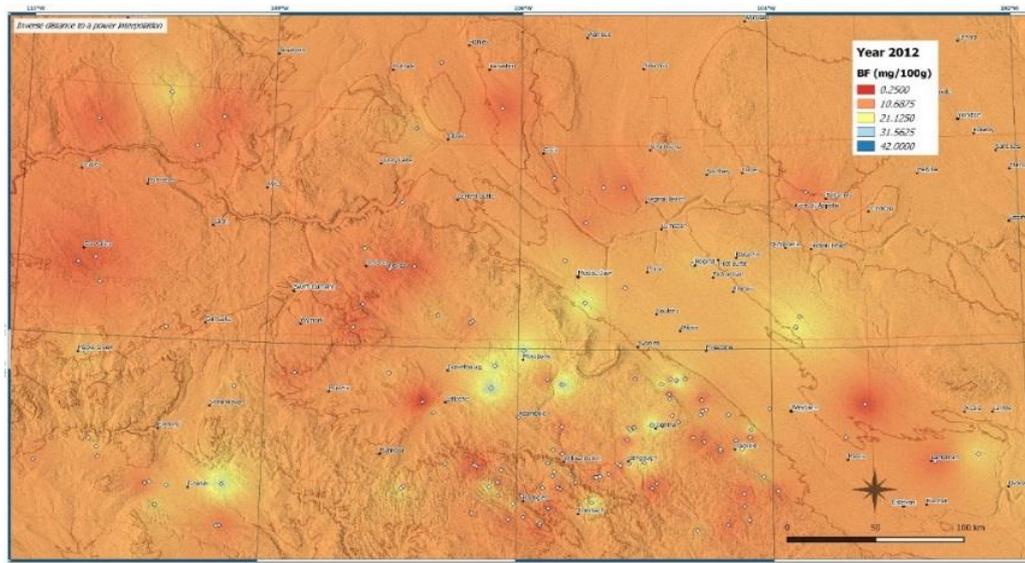
La frazione di flavonoidi legati è risultata variare tra 0,26 e 39,10 mg/100g, con un valore medio pari a  $13,53 \pm 5,54$  mg/100g. In 146 campioni su 367 (39%), il contenuto di tali composti è risultato maggiore rispetto al valore medio osservato. Il contenuto in flavonoidi legati ha mostrato variazioni significative nel corso dell'annata agraria relativa al 2011 (Tabella 7). Nel 2011 sono stati registrati, infatti, i valori più alti compresi tra 1,71 e 39,10 mg/100g con valori medi di  $15,72 \pm 6,54$  mg/100g. Durante l'annata agraria relativa al 2012 si sono osservati valori compresi tra 0,26 e 31,79 mg/100g con valori medi di  $13,42 \pm 5,48$  mg/100g, significativamente inferiori rispetto al 2011 e al 2010 che ha fatto registrare valori medi di  $11,3 \pm 3,06$  mg/100g. Come dimostrato dalla mappa GIS (Figure 48-49-50), tali aziende sono risultate tutte localizzate nell'area centrale della regione di produzione, ad eccezione di alcune aziende che erano localizzate ai margini occidentali.



**Figura 48.** Distribuzione geografica dei valori di flavonoidi legati (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.

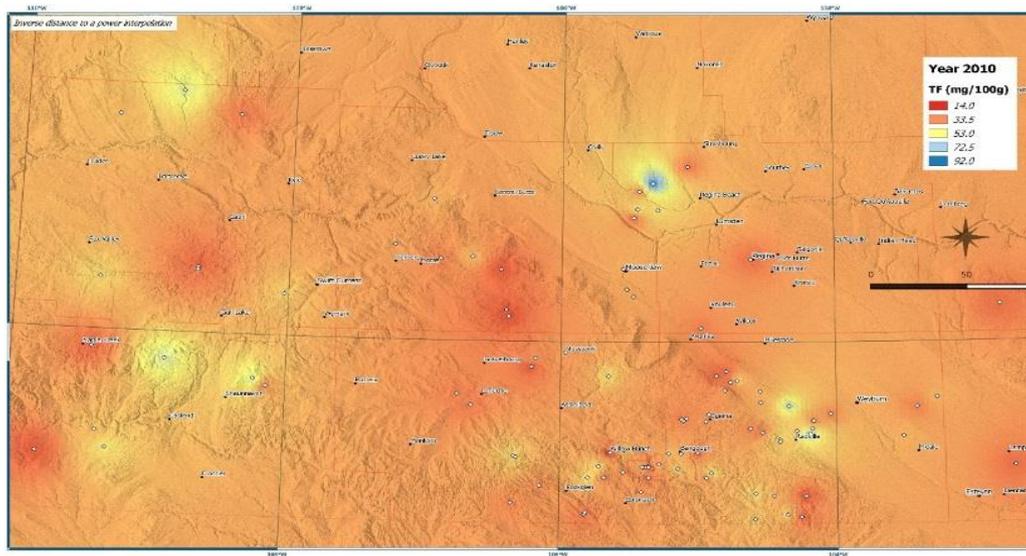


**Figura 49.** Distribuzione geografica dei valori di flavonoidi legati (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.

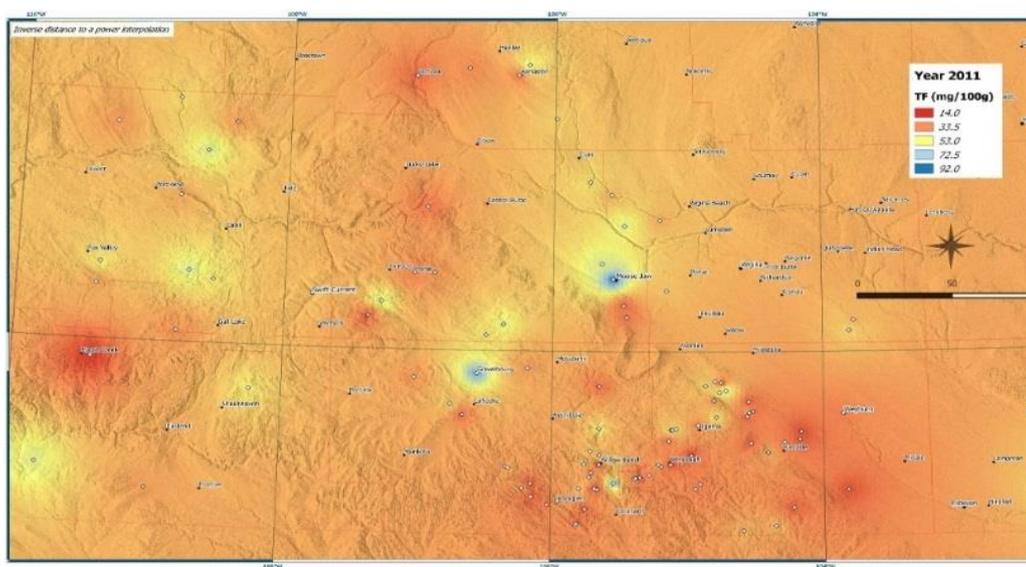


**Figura 50.** Distribuzione geografica dei valori di flavonoidi legati (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

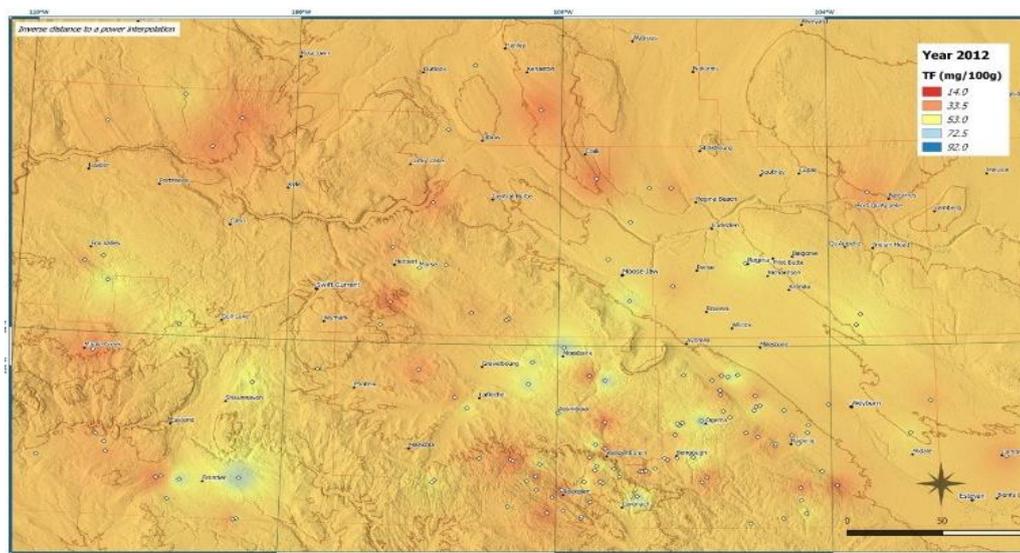
La determinazione del contenuto in flavonoidi totali ha evidenziato che, in media, la granella di KAMUT® ha mostrato un contenuto pari a  $41,77 \pm 10,59$  mg/100g di tali composti. Il 47% dei campioni (173 su 367) ha mostrato valori superiori al valore medio, in termini di contenuto in flavonoidi totali. Inoltre, la maggior parte di queste aziende ha fornito campioni di granella caratterizzata da un contenuto in flavonoidi totali compreso tra 33,5 e 53 mg/100g, valori che nelle mappe di qualità ottenute vengono identificati da una colorazione arancio/giallo chiaro (Figure 51-52-53). I valori ottenuti per il contenuto in polifenoli e flavonoidi dei campioni oggetto di studio sono risultati superiori rispetto a quanto precedentemente riportato in letteratura per diversi genotipi di frumento (Adom *et al.*, 2003; Moore *et al.*, 2005; Okarter *et al.*, 2010). Tali valori sono risultati però generalmente allineati con quanto indicato per varietà antiche di frumento coltivate in sistemi a basso input (Heimler *et al.*, 2010; Di Silvestro *et al.*, 2012). Come descritto precedentemente per i polifenoli, è stata osservata una sorta di compensazione tra le frazioni solubili ed insolubili dei flavonoidi, che si traduce in una distribuzione abbastanza omogenea dei valori riguardanti il contenuto in flavonoidi totali, con l'eccezione di alcune aziende corrispondenti alle località caratterizzate dai valori più alti di flavonoidi liberi.



**Figura 51.** Distribuzione geografica dei valori di flavonoidi totali (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2010.



**Figura 52.** Distribuzione geografica dei valori di flavonoidi totali (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2011.



**Figura 53.** Distribuzione geografica dei valori di flavonoidi totali (mg/100g) ottenuta mediante elaborazione GIS per l'annata agraria 2012.

#### **4.4 Analisi statistica delle aziende con 3 anni di sperimentazione**

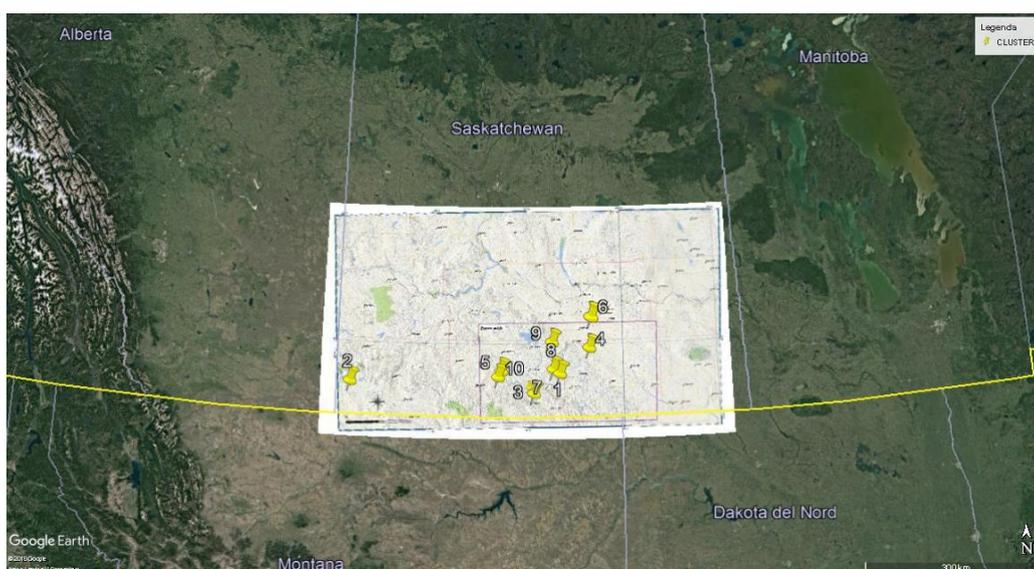
Di seguito si riportano i commenti relativi agli effetti principali del modello GLM e alla interazione tra i diversi fattori.

##### **4.4.1 Effetto dei fattori principali sulle componenti analizzate**

Complessivamente l'analisi statistica dei valori medi delle componenti analizzate (resa, peso ettolitrico, proteine totali, amido resistente e totale, fibra solubile, insolubile e totale, flavonoidi free e bound, polifenoli free e bound) evidenzia differenze significative dovute sia agli effetti dei fattori fissi (località) che variabili (anno di produzione) (Tabella 9). È stata inoltre eseguita una clusterizzazione, in funzione delle coordinate latitudine/longitudine e dell'altitudine, che ha permesso la classificazione delle diverse località all'interno di dieci classi differenti, le cui caratteristiche sono riportate in Tabella 8.

CLUSTER	N° Aziende	Centri finali del cluster		
		Coordinate decimali NS	Coordinate decimali WO	Altitudine
Cluster 1	33	49,4527	105,4002	712
Cluster 2	3	49,3140	109,7776	983
Cluster 3	12	49,1834	105,9398	814
Cluster 4	21	49,8010	104,7809	634
Cluster 5	9	49,4879	106,6211	781
Cluster 6	12	50,2040	104,7436	588
Cluster 7	6	49,3395	106,0180	858
Cluster 8	30	49,5111	105,5369	737
Cluster 9	27	49,8818	105,5616	675
Cluster 10	9	49,4066	106,6868	904
Totale	162			

**Tabella 8.** Centri finali del cluster (coordinate decimali latitudine, longitudine e altitudine) per ciascun gruppo di aziende.



**Figura 54.** Posizione dei centri finali del cluster per ciascun gruppo di aziende.

#### 4.4.2 Performance produttive

L'elaborazione statistica condotta con il modello generale misto, non ha riscontrato differenze significative per quanto riguarda la resa in granella durante le tre diverse annate agrarie, facendo registrare valori medi di 1,15; 1,08 e 1,07 rispettivamente nel 2010, 2011 e 2012. Le rese registrate per il frumento Khorasan

risultano inferiori se confrontate con i valori di resa medi (2 t/ha) forniti dall'USDA per le coltivazioni di frumento biologico coltivate con ciclo breve negli stessi areali e nelle stesse annate agrarie. Va evidenziata una differenza significativa tra i diversi gruppi di località in termini produttivi. La posizione dell'azienda, dunque, risulta essere il fattore principale nel determinare la produttività nel corso delle tre annate agrarie. Nella tabella 9 vengono illustrate le differenze significative tra le diverse classi (cluster) per ogni variabile analizzata ed è possibile osservare gli intervalli di variazione e le differenze statisticamente significative per ogni cluster. Le condizioni ambientali più favorevoli si sono verificate per le aziende raggruppate all'interno del Cluster 7 (1,32 t/ha), situate a una altitudine intermedia (858 m slm) e caratterizzate da una bassa temperatura media (14,9 °C) e da bassi livelli di precipitazioni (267,97 mm). Le rese in granella più basse sono state registrate invece per le aziende raggruppate all'interno del cluster 9, dove sono state osservate condizioni differenti in termini di temperatura media (15,9°C) e piovosità (357,96 mm).

Variazioni significative sono state osservate anche per il peso ettolitrico, sia tra i campioni raccolti nelle diverse annate di produzione, sia per le diverse classi considerate. Valori di TW più elevati sono stati registrati durante il secondo e il terzo anno di produzione (73,63 e 73,08 kg/hl), mentre nel 2010, anno in cui sono state osservate le più basse temperature medie (14,67 °C) e i più alti valori di piovosità (360,53 mm) è stato registrato il valore di TW più basso (71,65 kg/hl). Questo risultato conferma quanto già descritto in letteratura, dove i valori di TW vengono influenzati oltre che dall'effetto del genotipo, anche dall'effetto ambientale (Mason et al., 2007). Il peso ettolitrico infatti è una caratteristica ereditaria determinata principalmente da fattori genetici; tale carattere può essere ulteriormente influenzato dalle condizioni ambientali e dall'interazione genotipo x ambiente (Houshmand et al., 2004). Tutti i cluster esaminati hanno fatto osservare valori di TW inferiori rispetto al valore minimo di qualità (75 kg/hl), ad eccezione del cluster 2 (75,06 kg/hl) che ha fatto registrare valori di TW in linea con il valore soglia.

**Tabella 9.** Resa, peso ettolitrico e composizione nutrizionale dei campioni di frumento khorasan analizzati. Le medie seguite dalla stessa lettera indicano differenze non significative a  $P < 0,05$ . Livello significativo: \*,  $P < 0,05$ ; \*\*,  $P < 0,01$ .

	<b>Resa</b> (t/ha)	<b>TW</b> (kg/hL)	<b>Proteina</b> (g/100g)	<b>TS</b> (g/100g)	<b>RS</b> (g/100g)	<b>IDF</b> (g/100g)	<b>SDF</b> (g/100g)
<b>Year (Y)</b>	n.s.	*	*	**	*	*	*
2010	1,15 n.s.	71,65 b	12,76 b	63,48 b	0,69 a	14,55 b	3,34 b
2011	1,08 n.s.	73,63 a	12,22 c	65,37 a	0,54 b	15,23 a	3,80 a
2012	1,07 n.s.	73,08 a	13,28 a	65,70 a	0,71 a	15,24 a	3,82 a
<b>Location (L)</b>	**	*	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Cluster 1	1,21 ab	73,28 abc	12,66 n.s.	64,75 n.s.	0,62 n.s.	14,62 n.s.	3,60 n.s.
Cluster 2	1,28 ab	75,06 a	13,17 n.s.	64,37 n.s.	0,84 n.s.	15,34 n.s.	3,39 n.s.
Cluster 3	1,04 ab	74,40 ab	12,57 n.s.	64,57 n.s.	0,64 n.s.	15,63 n.s.	3,46 n.s.
Cluster 4	0,87 ab	71,52 bc	12,76 n.s.	64,68 n.s.	0,50 n.s.	14,36 n.s.	3,74 n.s.
Cluster 5	1,11 ab	73,32 abc	12,53 n.s.	66,02 n.s.	0,63 n.s.	15,36 n.s.	3,72 n.s.
Cluster 6	1,19 ab	71,09 c	13,16 n.s.	64,24 n.s.	0,55 n.s.	15,78 n.s.	3,89 n.s.
Cluster 7	1,32 a	73,48 abc	12,87 n.s.	65,33 n.s.	0,69 n.s.	14,41 n.s.	3,30 n.s.
Cluster 8	1,24 ab	73,23 abc	12,62 n.s.	64,05 n.s.	0,70 n.s.	15,32 n.s.	3,58 n.s.
Cluster 9	0,84 b	71,84 bc	12,96 n.s.	65,10 n.s.	0,68 n.s.	14,97 n.s.	3,87 n.s.
Cluster 10	1,24 ab	73,63 abc	12,54 n.s.	67,35 n.s.	0,79 n.s.	15,06 n.s.	3,46 n.s.
<b>LxY</b>	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Per quanto riguarda il contenuto proteico, sono stati registrati valori compresi all'interno di un range molto ristretto, compreso tra 12,22 e 13,28 g/100g. Questi valori sono in linea con quanto riportato in letteratura per le varietà di frumento duro coltivate in condizioni di basso input (Dinelli et al, 2014). Non è stata rilevata nessuna differenza significativa tra i 10 cluster. Tuttavia, è stata osservata una forte influenza dell'annata agraria sul contenuto proteico che ha fatto registrare valori più elevati nel 2012 (13,28 g/100g) rispetto alle annate agrarie precedenti (Tabella 9). Considerando il coinvolgimento di un unico genotipo durante le tre annate agrarie, le differenze osservate potrebbero essere imputate principalmente ad alcuni fattori quali le caratteristiche del suolo (tessitura, fertilità) e ai fattori agrometeorologici (Dupont et al., 2006; Giuliani et al., 2011). La stretta dipendenza tra i fattori ambientali e l'accumulo di proteine nella cariosside è stata ampiamente dimostrata in letteratura (Graybosch *et al.*, 1995; Daniel e Triboni, 2000; Dupont e Altenbach, 2003; Altenbach, 2012). Dalla mappa GIS relativa alla piovosità (Tabella 3), è possibile notare come il terzo anno è stato caratterizzato da livelli più bassi di precipitazioni, in particolare durante il periodo agosto-settembre. Questa tesi è in accordo con quanto affermato in letteratura da Gooding e Davies (1997), i quali hanno osservato che una buona disponibilità idrica durante le fasi finali del ciclo colturale può indurre a un prolungamento della fase vegetativa, con conseguente diluizione delle riserve di N della pianta.

#### **4.4.3 Analisi composti funzionali**

L'effetto dell'anno è stato osservato anche per il contenuto in amido totale, che ha fatto registrare valori più bassi nel 2010 rispetto alle due annate agrarie successive, caratterizzate da temperature medie più alte (Tabella 1). Infatti, una riduzione significativa del contenuto in amido è stata osservata al primo anno (63,48 g / 100 g) rispetto al secondo e al terzo anno di sperimentazione (65,37 e 65,70 g / 100 g, rispettivamente). Nessuna differenza statistica è stata osservata invece tra i cluster, sia per quanto riguarda il contenuto in amido totale che per l'amido resistente. I campioni raccolti nel 2011 hanno mostrato un contenuto medio in RS inferiore (0,54 g/100g) rispetto ai campioni del 2010 e del 2012 (0,69 e 0,71 g/100g, rispettivamente). Questi valori risultano comunque inferiori se confrontati con quanto riportato in letteratura per altre varietà di frumento

coltivate in condizioni di basso input (Di Silvestro et al., 2014; Marotti et al., 2012). In letteratura non sono presenti informazioni riguardo agli effetti delle condizioni ambientali sull'accumulo di amido resistente nel frumento. Tuttavia, un precedente studio ha evidenziato come le condizioni di crescita (con particolare riferimento alla disponibilità di acqua) possano esercitare una significativa influenza sulle dimensioni e distribuzione dei granuli di amido nella cariosside di frumento, oltre che determinare il contenuto in amido totale e amiloso (Zhong-Min *et al.*, 2008). Dunque è ipotizzabile che i cambiamenti ambientali abbiano indotto modificazioni nella composizione dell'amido e nelle dimensioni dei granuli, conferendo resistenza alla digestione ad una maggiore quota dell'amido totale. Inoltre, il notevole incremento della frazione di amido resistente nella granella prodotta nel 2010 e nel 2012 può essere associato anche all'aumento del contenuto in amido totale precedentemente descritto.

Per quanto riguarda le fibre alimentari, pochi studi hanno specificamente indagato gli effetti dei fattori ambientali sull'accumulo di fibra nella cariosside (Gebruers et al., 2008; Shewry et al., 2010). Nella presente ricerca, le componenti della fibra non sono risultate variare in funzione della località di coltivazione, mentre un effetto dell'anno di coltivazione è stato riscontrato sia sulle componenti solubili che insolubili. Le diverse condizioni climatiche delle tre annate agrarie hanno determinato l'accumulo di fibra nelle cariossidi di frumento con effetti convergenti sulle componenti solubili ed insolubili. Infatti, è stato osservato un incremento sia della frazione insolubile (da 14,55 a 15,23 g/100g), sia della frazione solubile (da 3,34 a 3,80 g/100g) durante la seconda stagione di crescita rispetto alla prima, mentre la terza annata agraria ha mostrato valori simili al 2011 (15,24 e 3,82 g/100g rispettivamente per IDF e SDF). Le condizioni climatiche calde e secche verificatesi nel 2011 e nel 2012 durante il periodo che va dalla spigatura alla raccolta, probabilmente hanno influenzato lo sviluppo proporzionale dei tessuti della cariosside (endosperma, aleurone, pericarpo) e le dimensioni del seme, che sono strettamente correlati all'accumulo di fibra alimentare. I livelli di fibra totale ottenuti sono risultati generalmente più elevati rispetto a quanto riportato in letteratura (Charalampopoulos *et al.*, 2002; Gebruers *et al.*, 2008). Lo studio condotto da Gebruers *et al.* (2008) ha determinato il contenuto in fibra di 131 varietà di frumento, evidenziando elevata variabilità tra

i genotipi, con valori compresi nell'intervallo 11,5-18,3 g/100g. Tuttavia in tale studio è stato utilizzato un metodo indiretto per la determinazione delle fibre, dato dal calcolo della differenza tra il peso della farina e la somma di nutrienti quali proteine, ceneri, lipidi, amido e zuccheri. I risultati ottenuti nel presente lavoro sono invece in accordo con precedenti studi basati su metodi analitici maggiormente accurati, per varietà di frumento allevate in sistemi a basso input (Di Silvestro *et al.*, 2012).

Generalmente, si ritiene che il frumento prodotto in agricoltura biologica possa presentare un contenuto in composti fenolici maggiore rispetto alle varietà allevate in regime convenzionale, in seguito a un cambiamento del metabolismo della pianta verso la sintesi di composti contenenti carbonio (inclusi metaboliti secondari non azotati come polifenoli e flavonoidi). In accordo all'ipotesi del bilancio carbonio/azoto, la bassa disponibilità di azoto tipica dei sistemi biologici indurrebbe l'attivazione della via metabolica dei fenilpropanoidi, promuovendo la biosintesi di fenoli piuttosto che di proteine e di altri composti contenenti azoto (Kovacik *et al.*, 2007). Tuttavia, i risultati disponibili in letteratura sono altamente contrastanti. Ad esempio, Zuchowski *et al.* (2011) ha rilevato un maggior contenuto in acidi fenolici in frumento allevato in conduzione biologica rispetto ad una sua coltivazione convenzionale. Tali dati sono in aperto contrasto con un precedente studio, in cui non sono state osservate differenze significative, relativamente al contenuto in acidi fenolici, per varietà di frumento allevate per tre anni in entrambi i sistemi agronomici (convenzionale/biologico) (Stracke *et al.*, 2009). Occorre sottolineare che in tali studi le relazioni osservate tra i sistemi agronomici risultano fortemente influenzate oltre che dalle diverse condizioni climatiche anche delle differenze genotipiche. Pertanto, la disponibilità del presente studio permette di valutare in modo esclusivo l'effetto ambientale nelle sue diverse componenti, eliminando il fattore genotipo in quanto costante.

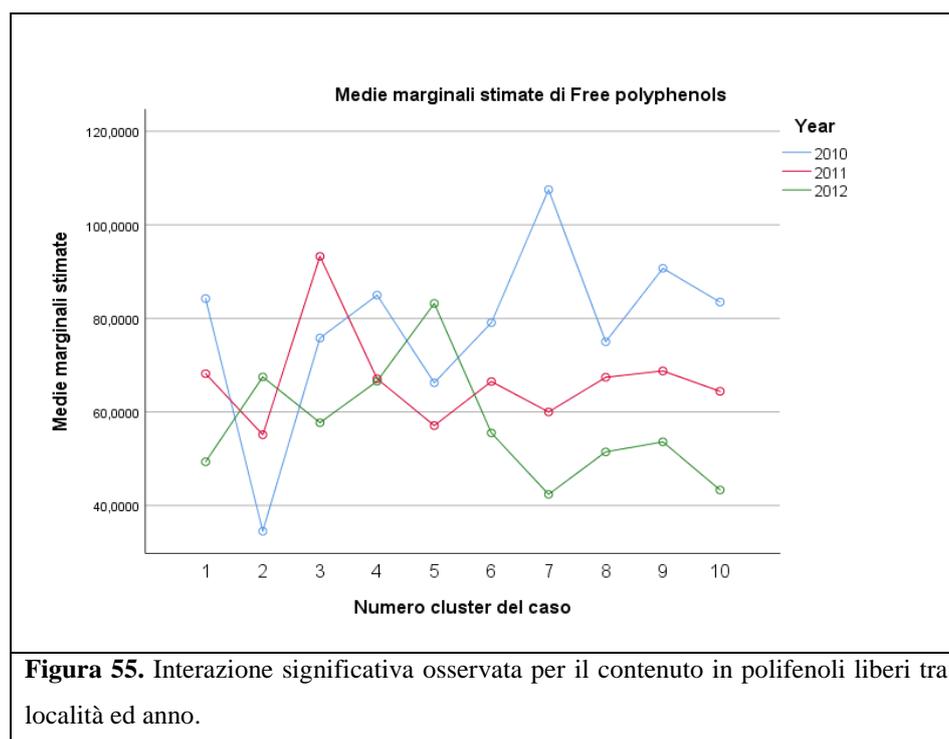
	<b>FF</b> (mg/100g)	<b>BF</b> (mg/100g)	<b>FP</b> (mg/100g)	<b>BP</b> (mg/100g)
Year (Y)	**	**	**	**
2010	26,57 b	10,98 b	81,59 a	79,01 b
2011	23,82 b	14,96 a	68,36 b	86,73 a
2012	30,93 a	12,82 b	55,38 c	59,90 c
Location (L)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Cluster 1	25,81	11,82	67,25	73,76
Cluster 2	26,56	15,72	52,37	62,18
Cluster 3	29,30	11,45	75,59	60,53
Cluster 4	24,85	12,55	72,88	78,61
Cluster 5	24,54	15,63	68,84	75,53
Cluster 6	27,91	15,40	67,03	78,44
Cluster 7	29,86	10,73	69,97	83,32
Cluster 8	27,83	13,50	64,62	74,33
Cluster 9	28,62	12,86	71,02	79,32
Cluster 10	27,10	12,49	63,73	77,16
LxY	n.s.	n.s.	**	*

**Tabella 10.** Composizione nutraceutica dei campioni di frumento khorasan analizzati (FF = flavonoidi liberi; BF = flavonoidi legati; FP = polifenoli liberi; BP = polifenoli legati). Le medie seguite dalla stessa lettera indicano differenze non significative a  $P < 0,05$ . Livello significativo: \*,  $P < 0,05$ ; \*\*,  $P < 0,01$ .

I campioni analizzati nel presente progetto di ricerca hanno mostrato una significativa variabilità in funzione dell'annata agraria presa in esame per il contenuto in polifenoli e flavonoidi (Tabella 10). Nel corso del primo anno (2010) è stato osservato il maggior contenuto in composti fenolici totali (160,61 mg/100g) ma il più basso contenuto in flavonoidi totali (37,55 mg/100g). Viceversa nell'ultimo anno (2012) si è osservato il maggior contenuto in flavonoidi totali (43,74 mg/100g) e il contenuto più basso in polifenoli totali (115,27 mg/100g). Va inoltre evidenziato che la frazione di flavonoidi totali rispetto al contenuto in polifenoli totali non si mantiene costante nel corso delle tre annate agrarie: nel 2010, i flavonoidi rappresentano il 23 % del contenuto totale di polifenoli, nel 2011 il 25 % e nel 2012 il 38 %, evidenziando come le diverse componenti ambientali stimolino in maniera differente le frazioni "fenoliche". In particolare, la quota più elevata di flavonoidi si osserva in condizioni di alta temperatura media e bassi valori di piovosità (2012), mentre la

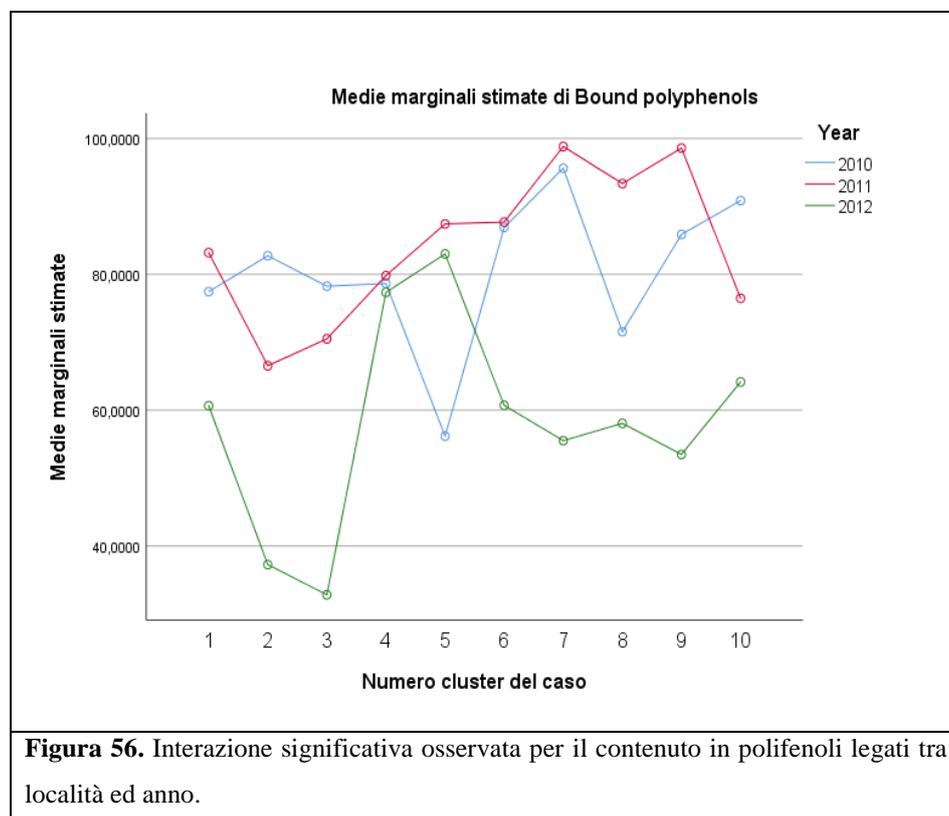
quota più elevata di polifenoli si osserva in condizioni di alta piovosità e bassi valori di temperatura media (2010).

Per quanto riguarda la classe dei polifenoli, il decremento del 2012 rispetto alle due annate precedenti ha interessato sia la frazione libera che la frazione legata, con valori significativamente inferiori rispetto a quanto ottenuto negli anni precedenti. La variabilità osservata può essere correlata alle condizioni climatiche fortemente divergenti per i tre cicli colturali. Secondo quanto indicato in letteratura, le condizioni di crescita, come ad esempio la radiazione solare e il numero di ore con temperatura superiore ai 32°C durante le fasi di riempimento delle cariossidi, possono essere associate ad un incremento della formazione di radicali liberi; conseguentemente, l'aumento dello stress ossidativo promuove nella pianta la biosintesi di antiossidanti, come autodifesa allo stress ambientale (Yu *et al.*, 2003).



Come già osservato per altri parametri esaminati, le condizioni climatiche delle diverse stagioni di crescita hanno influenzato anche i quantitativi di polifenoli liberi (FP) nella granella, determinando un maggior accumulo nell'anno 2010 (81,59 mg/100g) rispetto al 2011 e al 2012 (rispettivamente pari a 68,36 e 55,38

mg/100g). In Figura 55 viene mostrata l'interazione significativa tra località e anno per il contenuto in FP che evidenzia come l'incremento osservato per la prima annata agraria è principalmente dovuto al maggior contenuto in FP della granella prodotta presso le aziende del cluster 7 e del cluster 9, poiché le restanti aziende hanno mostrato valori medi invariati nelle tre stagioni di crescita.



Osservando le interazioni significative località x anno registrate per il contenuto in polifenoli legati (BP), si evidenzia che l'incremento in BP nell'annata 2010 è legato ad un maggior accumulo nella granella allevata presso le aziende del cluster 2 e del cluster 3, mentre i rimanenti cluster hanno mostrato valori invariati rispetto all'anno successivo (Figura 56). L'aumento in BP nel 2011 è invece da ascrivere ad un ulteriore incremento dei livelli di amido resistente nella granella raccolta presso le aziende appartenenti al cluster 7 e al cluster 9.

#### **4.4.4 Analisi Path**

La Path Analysis è stata condotta al fine di comprendere gli effetti diretti e indiretti delle diverse variabili indipendenti (coordinate GPS, altitudine, temperatura media e piovosità) per ciascun parametro analizzato (resa, peso ettolitrico, proteina, amido totale, fibra solubile e insolubile, polifenoli liberi e legati, flavonoidi liberi e legati).

<b>Resa (<math>R^2 = 0.145</math>)</b>			<b>Polifenoli liberi (<math>R^2 = 0.376</math>)</b>		
Fattore: piovosità	effetto diretto	-0.196	Fattore: temperature medie	effetto diretto	-0.568
	indirect effect	+0.065		effetto indiretto	+0.064
	totale	-0.131		totale	-0.504
Fattore: temperature medie	effetto diretto	-0.377	Fattore: piovosità	effetto diretto	+0.222
	effetto indiretto	+0.034		effetto indiretto	+0.143
	totale	-0.343		totale	+0.366
<b>Peso ettolitrico (<math>R^2 = 0.164</math>)</b>			Fattore: longitudine	effetto diretto	-0.259
Fattore: temperature medie	effetto diretto	+0.182		effetto indiretto	+0.184
	effetto indiretto	-0.158		totale	-0.076
	totale	-0.024	<b>Polifenoli legati (<math>R^2 = 0.025</math>)</b>		
Fattore: latitudine	effetto diretto	-0.379	Fattore: temperature medie	effetto diretto	-0.220
	effetto indiretto	+0.195		effetto indiretto	-0.078
	totale	-0.184		totale	-0.298
Fattore: longitudine	effetto diretto	+0.467	Fattore: piovosità	effetto diretto	+0.455
	effetto indiretto	-0.239		effetto indiretto	+0.037
	totale	+0.227		totale	+0.492
<b>Proteine (<math>R^2 = 0.031</math>)</b>			<b>Amido totale (<math>R^2 = 0.023</math>)</b>		
Fattore: piovosità	effetto diretto	-0.193	Fattore: temperature medie	effetto diretto	+0.172
	effetto indiretto	none		effetto indiretto	none
	totale	-0.193		totale	+0.172
<b>Flavonoidi liberi (<math>R^2 = 0.071</math>)</b>			<b>Fibra insolubile (<math>R^2 = 0.053</math>)</b>		
Fattore: piovosità	effetto diretto	-0.278	Fattore: piovosità	effetto diretto	-0.243
	effetto indiretto	none		effetto indiretto	none
	totale	-0.278		totale	-0.243
<b>Flavonoidi legati (<math>R^2 = 0.020</math>)</b>			<b>Fibra solubile (<math>R^2 = 0.149</math>)</b>		
Fattore: temperature medie	effetto diretto	+0.160	Fattore: temperature medie	effetto diretto	+0.393
	effetto indiretto	none		effetto indiretto	none
	totale	+0.160		totale	+0.393

**Tabella 11.** Stime degli effetti diretti e indiretti dei coefficienti Path stimati dalla correlazione dei fattori agrometeorologici su resa, TW e composizione nutrizionale e nutraceutica dei campioni di frumento Khorasan analizzati.

Nella tabella 11 vengono illustrati i valori relativi agli effetti diretti e indiretti per ciascun parametro preso in esame. In accordo con Leka et al., 1973 i coefficienti della analisi path sono classificati in trascurabile (0,00 - 0,09), basso (0,10 - 0,19), moderato (0,20 - 0,29), alto (0,30 - 0,99) e molto alto (oltre 1,00).

I fattori ambientali come la temperatura e le precipitazioni raramente agiscono da sole nell'influenzare la crescita delle colture. In questo studio, i risultati della resa hanno mostrato un'alta correlazione negativa con la temperatura media registrata (-0,377), con un basso coefficiente indiretto (+0,034). Inoltre, è stato osservato anche un basso effetto diretto e negativo con il carattere indipendente "pioggia" (-0,131). Complessivamente i fattori risultati significativi hanno contribuito per oltre il 14% della variabilità osservata per la componente resa. Tale risultato è in accordo con quanto comunemente riportato in letteratura, in quanto tale parametro risulta fortemente influenzato dall'insieme dei fattori ambientali che possono variare in funzione della stagione agraria e delle specifiche caratteristiche del micro-clima e del terreno delle diverse aziende. In particolare, McCaig ha evidenziato che temperature elevate da giugno ad agosto, diminuiscono il numero di cariossidi per m<sup>-2</sup> e il peso delle cariossidi stesse.

Per il peso ettolitrico, le variabili ambientali che hanno influito sulla determinazione del TW sono la temperatura media, la latitudine e la longitudine. Queste tre variabili hanno contribuito per oltre il 16% della variabilità totale osservata per i valori di TW. Questo risultato conferma quanto già dimostrato in letteratura da Nuttal et al. (2017) dove viene affermato che lo sviluppo accelerato della granella, dovuto all'aumento della temperatura, può limitare la durata del periodo di riempimento della cariosside. Inoltre, l'impatto delle alte temperature sembra avere un effetto significativo, indipendentemente dalla disponibilità idrica, nel determinare il valore di TW. Gli effetti delle variabili latitudine e longitudine vengono riflessi nelle mappe GIS ottenute per i valori di peso ettolitrico, che hanno evidenziato la presenza di un gradiente spaziale con valori crescenti spostandosi da ovest verso est e da nord verso sud (Figure 15-16-17).

I campioni raccolti nel 2012 sono stati caratterizzati dal livello più basso di precipitazioni, in particolare ad agosto e settembre, e dalla maggiore resa proteica. Quanto osservato è in accordo con Gooding e Davies (1997) che hanno dimostrato che una buona disponibilità di acqua durante il ciclo colturale del frumento può indurre eccessivo sviluppo vegetativo, con conseguente diluizione delle prime riserve di N. L'amido totale è risultato correlato positivamente con la temperatura

media (+0,172), confermando l'assenza di correlazione inversa con il contenuto proteico.

Un elevato effetto delle variabili relative alle Temperature medie, alla piovosità e alla longitudine è stato osservato anche nella determinazione del contenuto in polifenoli free. Queste tre variabili hanno contribuito per oltre il 37% della variabilità totale osservata per i valori di FP. La variabilità osservata risulta dunque correlata alle condizioni climatiche fortemente divergenti per i tre cicli colturali e per le diverse località di produzione. Secondo quanto indicato in letteratura, infatti, le condizioni di crescita che si verificano durante le fasi di riempimento delle cariossidi, possono essere associate ad un incremento della formazione di radicali liberi; conseguentemente, l'aumento dello stress ossidativo promuove nella pianta la biosintesi di antiossidanti, come autodifesa allo stress ambientale (Yu *et al.*, 2003). In aggiunta, la sintesi dei composti fenolici nelle piante può essere indotta da stress di tipo biotico e dunque la variabilità osservata tra le diverse annate e le diverse località potrebbe essere correlata anche alla presenza di patologie a differenti livelli di severità (Dixon e Paiva, 1995).

Nel caso della frazione solubile della fibra è stata osservata la sola influenza della variabile relativa alla Temperatura media che sembra influire esclusivamente in maniera diretta sulla biosintesi di tali composti. Questa variabile riesce a spiegare il 15% circa delle differenze totali osservate per il contenuto in fibra solubile dei campioni analizzati. Per la frazione insolubile delle fibre è stato invece osservato un effetto diretto e negativo del fattore piovosità, anche se quest'ultimo riesce a spiegare solo il 2% della variabilità totale osservata. Il contenuto in fibra è generalmente considerato una caratteristica ereditaria nel frumento. Infatti, in letteratura è stata osservata un'elevata variabilità delle componenti sia insolubili che solubili in funzione del genotipo (Di Silvestro *et al.*, 2012).

Per tutti i rimanenti parametri legati al metabolismo secondario analizzati (FF, BF, BP) il contributo diretto e indiretto delle variabili considerate è risultato trascurabile, con valori di variabilità spiegata inferiori al 7.5%.

## 5. CONCLUSIONI

Negli ultimi anni si è sviluppato tra i consumatori un interesse crescente nei confronti di alimenti più salutari, ricchi in composti benefici. Inoltre, lo sviluppo di una maggiore coscienza dell'opinione pubblica riguardo le problematiche relative all'inquinamento ambientale e a pratiche agronomiche ecosostenibili ha portato alla riscoperta dei sistemi agronomici a basso input. Il frumento biologico ha ricevuto una speciale attenzione per l'elevato consumo procapite nella dieta tradizionale italiana e per il suo valore nutraceutico. Tra i cereali, il frumento khorasan KAMUT® (*Triticum turgidum* ssp. *turanicum*) è recentemente emerso per le peculiari caratteristiche nutrizionali e funzionali (attività antiossidante e prebiotica). Molti studi sono stati condotti sull'analisi della componente proteica, ma a tutt'oggi sono ancora carenti le informazioni riguardo i livelli di altri componenti minori delle cariossidi come vitamine, lipidi, fibre, polifenoli, e di come questi variano in funzione delle condizioni ambientali che si manifestano durante la coltivazione.

Per nostra conoscenza, questo è il primo caso-studio che indaga sull'espressione metabolica di un'unica varietà coltivata in un areale di così ampia estensione, e che comprende diversi ambienti e diverse condizioni pedo-climatiche. Lo scopo della presente ricerca è stato quello di determinare la produttività e la composizione in nutrienti e composti fitochimici della granella di KAMUT® in funzione della località di coltivazione e indagare le dinamiche ambientali che ne influenzano il profilo fitochimico. Le mappe GIS ottenute hanno permesso di mettere in evidenza la variabilità presente all'interno dell'areale di produzione per ciascun parametro analizzato e hanno consentito l'identificazione di alcune aree in cui viene favorito l'accumulo di composti bioattivi nella cariosside.

Per quanto riguarda la valutazione delle caratteristiche produttive e commerciali, le analisi svolte in questa tesi hanno mostrato elevata eterogeneità nell'area oggetto di studio in termini di resa in granella ed una discreta qualità commerciale. Le rese maggiori sono state registrate nel 2010 con valori di circa il 17% superiori rispetto alle due annate agrarie successive. Considerando le variabili ambientali, le rese sono risultate influenzate in modo statisticamente significativo dalla

piovosità e dalle temperature medie. In particolare, rese produttive significativamente più elevate sono state osservate per l'annata agraria relativa al 2010, in cui sono state registrate le più basse temperature medie (14.67 °C) e i più alti livelli di piovosità (360,53 mm).

Il contenuto proteico del khorasan KAMUT® è risultato variare all'interno di un intervallo molto ampio compreso tra il 9% e il 17%, con un valore medio del 12% nella seconda stagione e del 13% nel primo e nel terzo anno. A differenza di quanto atteso, non è stata osservata nessuna correlazione significativa tra il contenuto proteico e la resa in granella. Va però evidenziato, che dal confronto delle mappe GIS ottenute per la resa e il contenuto in proteine, si possono osservare alcune aziende localizzate nell'area occidentale, caratterizzate da elevata produttività (> 1.5 t/ha) ed elevati livelli proteici (> 12.73 g/100g). Per quanto riguarda il contenuto in amido totale e amido resistente, esso è risultato variare funzione dell'annata agraria, dove valori più elevati sono stati osservati in corrispondenza del terzo anno di coltivazione (2012) caratterizzato da alte temperature medie (16,21 °C) e bassa piovosità (227,70 mm)

Va evidenziato che, in corrispondenza della classe di piovosità A (>380 mm) , si osserva chiaramente un effetto competitivo tra il contenuto proteico e il contenuto in amido, come atteso dalla relazione inversa normalmente esistente tra tali macronutrienti. Al contrario tale andamento non si osserva per le classi di piovosità medie (tra 250 mm e 380 mm) e basse (< 250 mm).

Una forte influenza della località di coltivazione è stata osservata anche per l'accumulo delle componenti della fibra alimentare nella cariosside che ha fatto registrare valori compresi tra 12,9 e 23,8 g/100g. Tra i composti fitochimici presenti nella cariosside integrale di frumento troviamo, inoltre, i composti antiossidanti (polifenoli, flavonoidi). Tali composti risultano fortemente influenzate oltre che dalle diverse condizioni climatiche anche delle differenze genotipiche. Pertanto, il presente studio permette di valutare in modo approfondito ed esclusivo l'effetto dell'ambiente nelle sue diverse componenti, eliminando il fattore genotipo (costante nel corso della sperimentazione). I campioni di KAMUT® oggetto di studio hanno mostrato valori di polifenoli e flavonoidi molto diversi tra le località, evidenziando, come atteso, una elevata

influenza dei fattori ambientali sull'accumulo di metaboliti secondari. I campioni analizzati nel presente progetto di ricerca hanno mostrato una significativa variabilità in funzione dell'annata agraria presa in esame per il contenuto in polifenoli e flavonoidi. Nel corso del primo anno (2010) è stato osservato il maggior contenuto in composti fenolici totali (160,61 mg/100g) ma il più basso contenuto in flavonoidi totali (37,55 mg/100g). Viceversa nell'ultimo anno (2012) si è osservato il maggior contenuto in flavonoidi totali (43,74 mg/100g) e il contenuto più basso in polifenoli totali (115,27 mg/100g). Va inoltre evidenziato che la frazione di flavonoidi totali rispetto al contenuto in polifenoli totali non si mantiene costante nel corso delle tre annate agrarie: nel 2010, i flavonoidi rappresentano il 23 % del contenuto totale di polifenoli, nel 2011 il 25 % e nel 2012 il 38 %, evidenziando come le diverse componenti ambientali stimolino in maniera differente le frazioni "fenoliche". In particolare, la quota più elevata di flavonoidi si osserva in condizioni di alta temperatura media e bassi valori di piovosità (2012), mentre la quota più elevata di polifenoli si osserva in condizioni di alta piovosità e bassi valori di temperatura media (2010).

L'Analisi Lineare Discriminante, ha infine permesso di identificare dieci distinti cluster in funzione delle coordinate decimali latitudine e longitudine e dell'altitudine. L'analisi discriminante ha evidenziato che la migliore resa è stata ottenuta negli ambienti con piovosità compresa tra 250 e 380 mm, mentre il contenuto proteico non risulta discriminato dall'analisi. Nuovamente, viene evidenziato il particolare andamento contrapposto del contenuto in flavonoidi e polifenoli totali. Gli ambienti che favoriscono l'accumulo di polifenoli, ovvero con piovosità superiore a 250 mm, penalizzano l'accumulo di flavonoidi e viceversa. Infine interessante notare che la fibra totale è risultata essere in massima quantità nei campioni con il più alto accumulo di flavonoidi totali, ovvero allevati in ambienti con piovosità inferiori a 250 mm.

Concludendo, risulta evidente che, soprattutto nel settore degli alimenti funzionali, la comprensione delle dinamiche ambientali che interagiscono negativamente o positivamente sulle proprietà nutraceutiche della materia prima può giocare un ruolo di primo piano. Il presente studio ha quindi confermato la forte influenza che i fattori ambientali esercitano sulla produttività e sulla

composizione in nutrienti delle produzioni agrarie, riuscendo a delineare in maniera dettagliata l'effetto di ciascuna componente ambientale sui composti nutrizionali e nutraceutici della granella. Il confronto tra i risultati ottenuti nel presente lavoro ed i dati relativi alle condizioni climatiche e geografiche di ciascuna località presa in esame, ha infatti consentito di comprendere le dinamiche fisiologiche di sintesi dei principali composti nutrizionali e nutraceutici, e di individuare specifiche aree in cui l'accumulo di tali composti possa essere favorito.

## **6. BIBLIOGRAFIA**

**A.O.A.C.**, (1990) Official methods of analysis. (15th Ed.) Association of Official Analytical Chemist, Washington D.C.

**AACC**, 1995. Approved method of American Association of Cereal Chemists. 9th ed. St.

**Adom K.K. and Liu R. H.** (2002) Antioxidant Activity of Grains. *J. Agric Food Chem.* 50(21): 6182-6187.

**Adom KK, Sorrells Me, Liu RH (2005).** Phytochemicals and antioxidant activity of milled fractions of different wheat varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 2297–2306.

**Altenbach SB** (2012). New insights into the effects of high temperature, drought and post-anthesis fertilizer on wheat grain development. *Journal of Cereal Science*, DOI: 10.1016/j.jcs.2011.12.012

**Arfan, M; Athar, H R; Ashraf, M-**Does exogenous application of salicylic acid through the rooting medium modulate growth and photosynthetic capacity in two differently adapted spring wheat cultivars under salt stress?- *Journal of Plant Physiology.* 2007;164(6):685-694.

**Bekes F., Zawistowska U., Zillman R.R., and Bushuk W.**, additional preparative methods. *Cereal Chem.* 51:112.1986. Relationship between lipid content and composition and loaf volume of twenty-six common spring wheats. *Cereal Chem.* 63:327.

**Belton Peter** - Mini Review: On the Elasticity of Wheat Gluten- Article in *Journal of Cereal Science* 29(2):103-107 March 1999- DOI: 10.1006/jcrs.1998.0227 }

**Benedettelli S., Ghiselli L., Martinelli T.** "Pane Nuovo da Grani Antichi." Evoluzione delle varietà di grano, della tecnica molitoria e panificatoria, a cura di F. Castioni. Siena. Pacini Editore. 2013.

**Blanco, A., Mangini, G., Giancaspro, A., Giove, S., Colasuonno, P., Simeone, R., Signorile, A., De Vita, P., Mastrangelo, A.M., Cattivelli, L., Gadaleta, A.,**

2012. Relationships between grain protein content and grain yield components through quantitative trait locus analyses in a recombinant inbred line population derived from two elite durum wheat cultivars. *Mol. Breed.* 30, 79–92. doi:10.1007/s11032-011-9600-z

**Cannella C. e Pogna N.** (2007) Aspetti nutrizionali in: “Il grano: botanica, storia e arte, alimentazione, paesaggio, coltivazione, ricerca, utilizzazione, mondo e mercato”. Milano - Bayer crop science. 50-59.

**Charalampopoulos D, Wang R, Pandiella SS, Webb C** (2002). Application of Cereals and Cereal Components in Functional Foods: A Review. *International Journal of Food Microbiology*, 79: 131-141.

**Courtin CM., Delcour JA.,** (2002). Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour breadmaking. *J Cereal Sci.* 35: 225-243.

**Daniel C, Triboi E** (2000). Effects of temperature and nitrogen nutrition on the grain composition of winter wheat: effects on gliadin content and composition. *Journal of Cereal Science*, 32:45-56.

**Dewey, D.R. and Lu, K.H.** (1959) A Correlation and Path Coefficient Analysis of Components of Crested Wheat Grass Seed Production. *Agronomy Journal*, 51, 515-518. <http://dx.doi.org/10.2134/agronj1959.00021962005100090002x>

**De Santis Michele A., Giuliani Marcella M., Giuzio Luigia De Vita, Pasquale, Lovegrove Alison, Shewry Peter R., Flagella Zina.** Differences in gluten protein composition between old and modern durum wheat genotypes in relation to 20th century breeding in Italy. *European Journal of Agronomy* 87 (2017) 19–29

**De Vita, P., Di Paolo, E., Fecondo, G., Di Fonzo, N., Pisante, M.,** 2007. No-tillage and conventional tillage effects on durum wheat yield, grain quality and soil moisture content in southern Italy. *Soil Tillage Res.* 92, 69–78. doi:10.1016/j.still.2006.01.012

**De Vita, P., Nicosia, O.L.D., Nigro, F., Platani, C., Riefolo, C., Di Fonzo, N., Cattivelli, L.,** 2007. Breeding progress in morpho-physiological, agronomical

and qualitative traits of durum wheat cultivars released in Italy during the 20th century. *Eur. J. Agron.* 26, 39–53. doi:10.1016/j.eja.2006.08.009

**Di Silvestro R, Marotti I, Bosi S, Bregola V, Segura Carretero A, Sedej I, Mandic A, Sakac M, Benedettelli S, Dinelli G** (2012). Health-promoting phytochemicals of Italian common wheat varieties grown under lowinput agricultural management. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, DOI: 10.1002/jsfa.5590.

**Dinelli G., Marotti I., Bosi S., Benedettelli S., Ghiselli L., Cortacero-Ramírez S., Carrasco-Pancorbo A., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A.** Lignan profile in seeds of modern and old Italian soft wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars as revealed by CE-MS analyses. *Electrophoresis* 2007, 28: 4212-4219.

**Dinelli G., Segura Carratero A., Di Silvestro R., Marotti I., Fu S., Benedettelli S., Ghiselli L.** (2009). Determination of phenolic compounds in modern and old varieties of durum wheat using liquid chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Chromatography* 1216: 7229-7240.

**Dixon RA, Paiva NL** (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell*, 7:1085-1097.

**Dupont, F.M., Hurkman, W.J., Vensel, W.H., Tanaka, C., Kothari, K.M., Chung, O.K., Altenbach, S.B.,** 2006. Protein accumulation and composition in wheat grains: Effects of mineral nutrients and high temperature. *Eur. J. Agron.* 25, 96–107. doi:10.1016/j.eja.2006.04.003

**Duthie,S.J., Ma,A., Ross,M.A. and Collins,A.R.** (1996) Antioxidantsupplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Res.*,56, 1291–1295.

**E.F.S.A.** Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to beta-glucans and maintenance of normal blood cholesterol concentrations (ID 754, 755, 757, 801, 1465, 2934) and maintenance or achievement of a normal body weight (ID 820, 823) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal* 2009; 7(9): 1254

**Eberhardt MV, Lee CY, Liu RH** (2000) Antioxidant activity of fresh apples. *Nature* 405:903–904

**Fardet A.**, (2010). New hypothesis for the health-protective mechanism of whole-grain cereals: what is beyond fibre? *Nutr. Res. Rev.* 23:65-134.

**Flagella Zina.** Qualità nutrizionale e tecnologica del frumento duro. *Ital. J. Agron. / Riv. Agron.*, 2006, 1:203-239

**Fuentes-Saragozza E., Riquelme-Navarrete M.J., Sanchez-Zapata E., Perez-Alvarez J.A.** (2010) Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International* 43(4): 931-942.

**Gebruers, K., Dornez, E., Boros, D., Fraś, A., Dynkowska, W., Bedo, Z., Rakszegi, M., Delcour, J. a., Courtin, C.M.**, 2008. Variation in the content of dietary fiber and components thereof in wheats in the health grain diversity screen. *J. Agric. Food Chem.* 56, 9740–9749. doi:10.1021/jf800975w

**Gianotti A., Danesi F., Verardo V., Serrazanetti D.I., Valli V., Russo A., Riciputi Y., Tossani N., Caboni M.F., Guerzoni M.E., Bordoni A.**, (2011). Role of cereal type and processing in whole grain in vivo protection from oxidative stress. *Front. Biosci.*, 16:1609-1618.

**Gil A., Ortega R.M., Maldonado J.** (2011). Wholegrain cereal and bread: a duet of the Mediterranean diet for the prevention of chronic diseases. *Public health nutr.*14:2316-22.

**Giuliani, M.M., Giuzio, L., de Caro, A., Flagella, Z.**, 2011. Relationships between nitrogen utilization and grain technological quality in durum wheat: I. Nitrogen translocation and nitrogen use efficiency for protein. *Agron. J.* 103, 1487–1494. doi:10.2134/agronj2011.0153

**Gooding M.J., Davies W.P.** (1997) *Wheat production and utilization*, CAB International, Wallingford.

**Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., & Delcour, J. A.** (2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality,

and how to impact their functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 16 (1-3), 12-30. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2004.02.011>.

**Grausgruber, H., Sailer, C., Ruckenbauer, P.,** 2004. Khorasan wheat, Kamut® and “Pharaonenkorn”: Origin, characteristics and potential 75–80.

**Graybosch, R. a., Peterson, C.J., Baenziger, P.S., Shelton, D.R.,** 1995. Environmental modification of hard red winter wheat flour protein composition. *J. Cereal Sci.* 22, 45–51. doi:10.1016/S0733-5210(05)80006-2

**Heimler D, Vignolini P, Isolani L, Arfaioli P, Ghiselli L, Romani A** (2010). Polyphenol Content of Modern and Old Varieties of *Triticum aestivum* L. and *T. durum* Desf. Grains in Two Years of Production. *Journal of Agriculture and food chemistry*, 58:7329-7334.

**Herencia, J.F., Ruiz, J.C., Melero, S., Garcia Galavís, P. a., Maqueda, C.,** 2008. A short-term comparison of organic v. conventional agriculture in a silty loam soil using two organic amendments. *J. Agric. Sci.* 146, 677. doi:10.1017/S0021859608008071

**Holm C., Kirchgessner T.G., Svenson K.L., Fredrikson G., Nilsson S., Miller C.G., Shively J.E., C Heinzmann, RS Sparkes, T Mohandas, al. et.** - Hormone-sensitive lipase: sequence, expression, and chromosomal localization to 19 cent-q13.3- *Science* 16 Sep 1988: Vol. 241, Issue 4872, 1503-1506 DOI: 10.1126/science.3420405

**Houshmand S, Arzani A, Maibody SA** (2004). Influences of drought and salt stress on grain quality of durum wheat. *Proceedings of the 17th EUCARPIA General congress*. Tulln. Austria, 383-386.

**Hucl, P., Chibbar, R.N.,** 1996. Variation for starch concentration in spring wheat and its repeatability relative to protein concentration. *Cereal Chem.* 73, 756–758.

**Karimi, M.M. & Siddique, H.M.** 1991. Crop growth and relative growth rate of old and modern wheat cultivars. *Aust. J. Agric. Res.*, 42: 13-22

- Khatkar, B. S., Fido, R. J., Tatham, A. S., and Schofield, J. D.** (2002a). Functional properties of wheat gliadins: 1. Effects on mixing characteristics and bread making quality. *J. Cereal Sci.*35: 299–306.
- Khlestkina, E.K., Roder, M.S., Grausgruber, H., Borner, A.,** 2006. A DNA fingerprinting-based taxonomic allocation of Kamut wheat. *Plant Genet. Resour.* 4, 172-180. doi:10.1079/PGR2006120
- Kibite, S., Evans, L.E.,** 1984. Causes of negative correlations between grain yield and grain protein concentration in common wheat. *Euphytica* 33, 801–810. doi:10.1007/BF00021906
- Konopka I., Kozirok W., Rotkiewicz D.**-Lipids and carotenoids of wheat grain and flour and attempt of correlating them with digital image analysis of kernel surface and cross-sections- *Food Research International* 37(5):429–438
- Kováčik, J., B. Klejdus, M. Bačkor, and M. Repčák.** 2007. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes. *Plant Sci.* 172:393-399.
- Kroon P A, Faulds CB, Ryden P, Robertson J A, Williamson G.** Release of bound ferulic acid from fibre and its potential as an antioxidant in the human colon.] *Agr Food Chem* 1997; 45: 661-66Z
- La Torre A., Leandri A.** (2002). Comparison of health status between organic and conventional products. *Commun Agric Appl Biol Sci*, 70 (3): 351-363.
- Lafiandra D., Sestili F., D'Ovidio R., Janni M., Botticella E., Ferrazzano G., Silvestri M., Ranieri R., DeAmbrogio E.** Approaches for modification of starch composition in durum wheat. *Cereal Chem.* 2010;87:28–34.
- Lee S.C., Prosky L. and De Vries J.W.** (1992) Determination of total, soluble and insoluble, dietary fiber in foods – enzymatic-gravimetric method, MES-TRIS buffer: Collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 75: 395-416.
- Lenka, D. and Misra, B.** (1973) Path Coefficient Analysis of Yield in Rice Varieties. *Indian Journal of Agricultural Science*, 43, 376-379.

**Logan R.F.A.**. Problems and pitfalls in epidemiological studies of celiac disease. In *Nutrition Reviews*. 1992, vol. 2.

**Lucisano M., Pagani M.A.**, 1997. Cereali e derivati. In: Daghella A., *Gli Alimenti: Aspetti tecnologici e nutrizionali*. Istituto Danone. Pp. 7-68.

**Mann, J., Cummings, J.H., Englyst, H.N., Key, T., Liu, S., Riccardi, G., Summerbell, C., Uauy, R., van Dam, R.M., Venn, B., Vorster, H.H., Wiseman, M.**, 2007. FAO/WHO scientific update on carbohydrates in human nutrition: conclusions. *Eur. J. Clin. Nutr.* 61 Suppl 1, S132–S137. doi:10.1038/sj.ejcn.1602943

**Marotti I., Bregola V., Aloisio I., Di Gioia D., Bosi S., Di Silvestro R., Quinn R. and Dinelli G.** (2012) Prebiotic effect of soluble fibres from modern and old durum-type wheat varieties on *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *J Sci Food Agric* DOI 10.1002/jsfa.5597.

**Mason, H., Navabi, A., Frick, B., O'Donovan, J., Niziol, D., and Spaner, D.** 2007. Does growing Canadian western hard red spring wheat under organic management alter its breadmaking quality? *Renew. Agr. Food. Syst.* 22:157–167. doi:10.1017/S1742170507001688.

**Mc Caig R. and Bendiak D. S.,** (2018). Yeast Handling Studies. II. Temperature of Storage of Pitching Yeast. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-43-0119>

**McLachlan G.J.**, 2004. *Discriminant analysis and statistical pattern recognition*. Wiley Interscience. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, NJ, USA.

**Mikulikova D., Kraic J.**-Natural sources of health-promoting starch-*Journal of Food and Nutrition Research*, 45, 2006, No. 2, s. 69-76.

**Mongeau R., Brooks S. P.**, DIETARY FIBER-Properties and Sources. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, December 2003, pp.1813-1823. DOI: 10.1016/B0-12-227055-X/00342-4}

- Moore J, Hao Z, Zhou K, Luther M, Costa J, Yu LL** (2005). Carotenoid, Tocopherol, Phenolic Acid, and Antioxidant Properties of Maryland-Grown Soft Wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53:6649-6657.
- Morel, I., G. Lescoat, P. Cillard, and J. Cillard.** 1994. Role of flavonoids and iron chelation in antioxidant action. *Meth. Enzymol.* 243:437–443.
- Mpofu A., Sapirstein H.D., Beta T.,** (2006). Genotype and environmental variation in phenolic content, phenolic acid composition and antioxidant activity of hard spring wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54, 1265-1270.
- Nuttall J.C.; O’Leary G.C.; Panozzo J.F.; Walkera C.K.; Barlowb K.M.; Fitzgerald G.J.** (2017). Models of grain quality in wheat. *Field Crops Research* 202 (2017) 136–145
- Ohm, J. B., and Chung, O. K.** 2002. Relationships of free lipids with quality factors in hard winter wheat flours. *Cereal Chem.* 79:274-278.
- Okarter N, Liu CS, Sorrells ME, Liu RH** (2010). Phytochemical content and antioxidant activity of six diverse varieties of whole wheat. *Food Chemistry* 119: 249-257.
- Payne, P. I. & Rhodes, A. P.** 1982 Cereal storage proteins: structure and role in agriculture and food technology. *Encyc. Pl. Physiol.* 14 A, 346-369.
- Prosky L., Asp N.G., Schweizer T.F., DeVries J.W., Furda I.** (1988) Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods and food products: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem.* 71(5):1017-23.
- Quinn, R.M., 1999.** Kamut: ancient grain, new cereal. *Perspect. new Crop. new uses* 182–183.
- Rodriguez-Delgado M.A., Gonzalez-Hernandez G., Conde-Gonzalez J.E., Perez-Trujillo J.P.,** 2002. Principal component analysis of the polyphenol content in young red wines. *Food Chem.* 78:523-32.
- Sacks G.** (2005) Kamut: A New Old Grain. *Gastronomica: The Journal of Food and Culture* 5(4): 95–98.

**Sajilata M.G, Rekha S. Singhal, and Pushpa R. Kulkarni.** Resistant Starch-A Review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. Vol. 5, 2006

**Schneeman B. O.,** Fiber, Inulin and Oligofructose: Similarities and Differences-*Journal of Nutrition* 129 (7 Suppl):1424S-7S August 1999- DOI: 10.1093/jn/129.7.1424S}

**Seilmeier Werner, Belitz Hans –Dieter, Wieser Herbert** - Separation and quantitative determination of high-molecular-weight subunits of glutenin from different wheat varieties and genetic variants of the variety Sicco - *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung* - 1991, 192, Issue 2: 124–129

**Senter, S. D. – Horvat, R. G. – Forbus, W. R.:**Comparative GLC-MS analysis of phenolic acids of selected tree nuts. *Journal of Food Science*, 48, 1983: 798–799.

**Shahidi F. and Wanasundara P.K.** (1992) Phenolic antioxidants. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 32(1):67-103.

**Shewry Peter R., Popineau Yves, Lafiandra Domenico and Belton Peter** - Wheat glutenin subunits and dough elasticity: findings of the EUROWHEAT project- *Trends in Food Science & Technology* 11 (2001) 433–441

**Shewry, P., Tatham, A. and Lazzeri, P.** (1997) Biotechnology of Wheat Quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73, 397-406.

**Shewry, P.R., Piironen, V., Lampi, A.M., Edelmann, M., Kariluoto, S., Nurmi, T., Fernandez-Orozco, R., Ravel, C., Charmet, G., Andersson, A. a M., Åman, P., Boros, D., Gebruers, K., Dornez, E., Courtin, C.M., Delcour, J. a., Rakszegi, M., Bedo, Z., Ward, J.L.,** 2010. The HEALTHGRAIN wheat diversity screen: Effects of genotype and environment on phytochemicals and dietary fiber components. *J. Agric. Food Chem.* 58, 9291–9298. doi:10.1021/jf100039b

**Singleton V.L., Rossi J.A.** (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144.

**Stracke BA, Eitel J, Watzl B, Mader P, Rufer CE** (2009). Influence of the Production Method on Phytochemical Concentrations in Whole Wheat (*Triticum aestivum* L.): A Comparative Study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:11116-10121.

**Vaccari, F.P., Ranieri, R., Matese, A., Miglietta, F.**, 2007. Enhanced Temperature During Grain Filling Reduces Protein Concentration of Durum Wheat 393–400.

**Van den Broeck H. C., De Jong H., Elma C., Salentijn J., Dekking L., Bosch D., Hamer R.J., Gilissen L.J.W.J, Van der Meer I., Smulders M.** Presence of celiac disease epitopes in modern and old hexaploid wheat varieties: wheat breeding may have contributed to increased prevalence of celiac disease. In *Theoretical and applied genetics*. Novembre 2010. Vol. 121

**Vensel, W.H., Tanaka, C.K., Cai, N., Wong, J.H., Buchanan, B.B. Hurkman, W.J.**, 2005. Developmental changes in the metabolic protein profiles of wheat endosperm. *Proteomics* 5, 1594–1611.

**Yu L, Perret J, Harris M, Wilson J, Haley S** (2003). Antioxidant Properties of Bran Extracts from “Akron” Wheat Grown at Different Locations. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 1566-1570.

**Zhong-Min D, Yan-Ping Y, Min Z, Wen-Yang L, Su-Hui Y, Rui-Guo C, Zhen-Lin W** (2008). Distribution of Starch Granule Size in Grains of Wheat Grown Under Irrigated and Rainfed Conditions. *Acta Agronomica Sinica*, 34(5):795-802.

**Zuchowski J., Jończyk K., Pecio Ł. and Oleszek W.**, 2011. Phenolic Acid Concentrations in Organically and Conventionally Cultivated Spring and Winter Wheat. *J. Sci. Food Agric.*, 91:1089-1095.

#### **Sitografia**

<http://www.fao.org/faostat/en/#home>

<https://www.igc.int>

<http://www.fao.org/3/i3794es/I3794es.pdf> (Base referencial mundial del recurso suelo 2014)

[https://it.wikipedia.org/wiki/USDA\\_Soil\\_Taxonomy\\_-\\_Orizzonti\\_diagnostici](https://it.wikipedia.org/wiki/USDA_Soil_Taxonomy_-_Orizzonti_diagnostici)

<http://www.sinab.it/content/bio-statistiche>

<https://statistics.fibl.org/>

<http://www.ismea.it/flex/cm/pages/ServeBLOB.php/L/IT/IDPagina/9429>

<http://dati-censimentoagricoltura.istat.it/Index.aspx?lang=it>

<https://www.ifoam.bio/en/news/2017/02/09/world-organic-agriculture-2017>

<http://www.nomisma.it/index.php/it/area-download/presentazioni-dati/item/84-osservatorio-sana>

<https://www.ag.ndsu.edu/plantsciences/research/durum/production> (2012; "United States wheat Production", 2002).

