



UNIVERSITÀ
degli STUDI
di CATANIA

Dipartimento di Agricoltura, Alimentazione e Ambiente
Di3A

Dottorato di ricerca

PRODUTTIVITA' DELLE PIANTE COLTIVATE IN AMBIENTE MEDITERRANEO

XXVII CICLO

2012-2014

**CARATTERISTICHE BIOAGRONOMICHE E COMPOSTI VOLATILI DI
VARIETA' DI FRUMENTO DURO
TRADIZIONALMENTE COLTIVATE IN SICILIA**

EMANUELA MATTIOLO

COORDINATORE

PROF.ssa D. ROMANO

TUTOR

PROF.ssa G.M. LOMBARDO

La presente ricerca è stata realizzata nell'ambito del progetto di ricerca dal titolo "Sviluppo tecnologico e Innovazione per la Sostenibilità e Competitività della Cerealicoltura Meridionale" (ISCOCEM), finanziato dal MIUR, PON01_01145

Indice

1. INTRODUZIONE	6
1.1. Importanza economica dei cereali nel mondo ed in Italia.....	6
1.2. Importanza economica del frumento nel mondo ed in Italia	13
1.3. Il frumento duro in Sicilia.....	19
2. LA BIODIVERSITA' DEL FRUMENTO DURO	21
2.1. Le vecchie varietà siciliane	24
2.1.1. La Timilia	24
2.1.1.1. Timilia a reste nere.....	27
2.1.1.2. Timilia a reste bianche	30
2.1.1.3. Disciplinare di produzione del Pane nero di Castelvetro.....	33
2.1.2. Il Russello.....	39
2.1.2.1. Il Russello ibleo.....	41
2.1.2.2. Disciplinare di produzione del Pane Ibleo.....	45
2.1.3. Bidì.....	49
2.1.4. Trinakria	53
2.1.5. Sicilia.....	56
3. CARATTERI LEGATI ALLA QUALITA'	57
3.1. L'amido.....	57
3.1.1. I granuli di amido.....	60
3.1.2. Proprietà funzionali dell'amido.....	67
3.2. La fibra alimentare: i β -glucani	72
3.2.1. Le caratteristiche funzionali dei β -glucani	76
3.3. Le sostanze volatili	79
3.3.1. Metodi di isolamento.....	83
3.3.2. Metodi di misurazione	86
3.3.3. SPME: teoria e tipi di fibra	88
3.3.4. Le sostanze volatili nel frumento	95
3.4. Le proteine	101
4. SCOPO DEL LAVORO.....	105
5. MATERIALI E METODI.....	107
5.1. Le vecchie varietà siciliane.....	107

5.1.1.	Caratterizzazione agronomica.....	107
5.1.2.	Caratterizzazione morfologica	110
5.1.3.	Caratterizzazione qualitativa.....	113
5.1.3.1.	Determinazione del contenuto in amilosio e amilopectina	113
5.1.3.2.	Osservazione dei granuli di amido	115
5.1.3.3.	Determinazione del contenuto in β -glucani	117
5.1.3.4.	Determinazione del contenuto in proteine	120
5.1.3.5.	Estrazione delle sostanze volatili	122
5.2.	Indagine sull'effetto di regimi idrici sulla produzione di sostanze volatili di frumento duro.....	125
5.3.	Indagine sull'effetto delle condizioni ambientali sulle produzioni di sostanze volatili della cultivar Timilia.....	127
5.4.	Elaborazioni statistiche	129
6.	ANDAMENTO TERMOPLUVIOMETRICO	130
7.	RISULTATI E DISCUSSIONI.....	135
7.1.	La messa a punto del metodo di estrazione delle sostanze volatili.....	135
7.1.1.	La scelta della fibra.....	135
7.1.2.	La scelta di tempo e temperatura di estrazione	138
7.1.3.	Confronto varietale per l'ottimizzazione del metodo.....	139
7.2.	Le vecchie varietà siciliane	142
7.2.1.	Caratterizzazione agronomica e qualitativa.....	142
7.2.2.	Caratterizzazione morfologica	151
7.2.3.	Dimensione forma e dei granuli di amido.....	154
7.2.4.	Le sostanze volatili	162
7.3.	Effetto di differenti regimi idrici sulla produzione di sostanze volatili di diverse cultivar.....	177
7.4.	Effetto delle condizioni ambientali sulla produzione di sostanze volatili della cultivar Timilia.....	192
8.	CONCLUSIONI.....	203
9.	BIBLIOGRAFIA.....	207

PARTE MONOGRAFICA

1. INTRODUZIONE

1.1. Importanza economica dei cereali nel mondo ed in Italia

I cereali comprendono un gruppo di specie la cui caratteristica principale è quella di produrre frutti o semi secchi, amidacei, utilizzati sia nell'alimentazione umana che in quella animale sotto forma di sfarinato e/o di prodotto trasformato (Baldoni *et al.*, 2000).

Essi appartengono alla famiglia delle *Poaceae* (*Graminaceae*) all'interno della quale è possibile distinguere 6 tribù principali quali: *Hordeae*, *Aveneae*, *Oryzeae*, *Panicaceae*, *Andropogoneae* e *Maydeae*. Tra le specie di maggiore interesse si annoverano *Triticum* spp., *Hordeum vulgare*, *Secale cereale*, *Avena* spp., *Oryza* spp., *Panicum miliaceum*, *Setaria* spp., *Sorghum bicolor*, *Zea mays*.

Si può asserire che la coltivazione dei cereali abbia favorito la nascita dell'agricoltura in varie parti del mondo; basti pensare che dalla Mezzaluna fertile hanno avuto origine l'orzo, il farro e il frumento, dall'Africa il sorgo e il miglio, dal Centro America il mais e dall'Estremo Oriente il riso. I cereali hanno, quindi, rappresentato l'elemento fondante dello sviluppo delle prime società civilizzate tanto nel Vecchio quanto nel Nuovo Mondo grazie ad alcune loro caratteristiche (Viggiani, 2007), prima fra tutte quella di dare un prodotto che per potere calorico, contenuto proteico, lipidico, di sali minerali e di vitamine è adatto per l'alimentazione umana. Essi hanno, poi, l'importante caratteristica di fornire un prodotto secco facilmente trasportabile e conservabile, idoneo a

costituire scorte da utilizzare nello stesso anno della produzione o in anni successivi. Altri aspetti non meno importanti riguardano il sapore e la semplicità di coltivazione delle piante (Baldoni *et al.*, 2000).

Sui circa 13 miliardi di ettari di terre emerse non occupate dall'acqua, gli arativi sono poco meno di 1,4 miliardi, di cui 226 milioni in Africa, 371 in America, 473 in Asia, 276 in Europa e 48 in Oceania (dati FAO 2011). Poco più della metà della superficie delle terre arabili è coltivata a cereali (FAO 2011). Secondo i dati FAO (tabella 1.1), nel periodo compreso tra il 2000 al 2011 sono stati coltivati a cereali nel mondo in media 686 milioni di ettari con una resa media di 3,3 t ha⁻¹.

Tabella 1.1 Superfici e produzioni unitarie dei cereali in complesso

	Superficie investita (000000 ha)		Resa unitaria (t ha ⁻¹)	
	Mondo	Europa	Mondo	Europa
2000	673	122	3,1	3,2
2001	673	126	3,1	3,4
2002	660	125	3,1	3,5
2003	671	113	3,1	3,2
2004	678	123	3,4	3,8
2005	691	123	3,3	3,5
2006	679	118	3,3	3,4
2007	697	117	3,4	3,3
2008	712	127	3,5	4,0
2009	699	123	3,6	3,8
2010	693	110	3,6	3,7
2011	707	119	3,7	3,9
Media	687	12002	3,4	3,6

Fonte: FAO 2000-2011

Dall'esame della tabella 1.1, è possibile notare che dal 2000 al 2006, ad eccezione del 2005, la superficie coltivata a cereali sia stata inferiore alla media mentre dal 2007 al 2011 tale superficie è sempre stata superiore alla media. Tra il 2000 e il 2011 i diversi cereali hanno contribuito alla produzione totale, con quote molto diverse: frumento 31,6%, riso 22,6%, mais 22,0%, orzo 7,9%, sorgo 6,3%, miglio 5,1%, avena 1,7% e segale 1,0% (Fig.1.1).

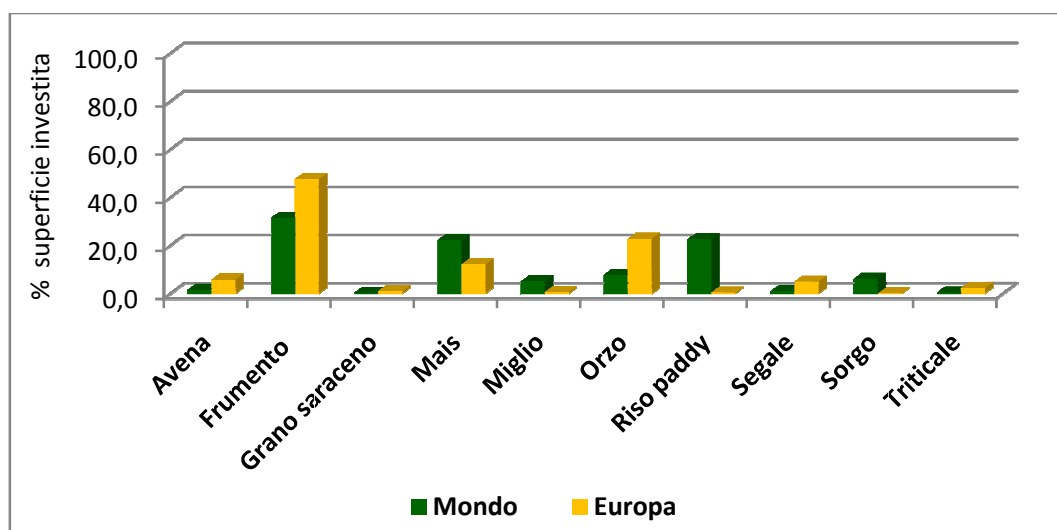


Figura 1.1. I cereali più coltivati al mondo ed in Europa

Dati: FAO 2000-2011

Le aree maggiormente coltivate a cereali sono India, Cina, USA, Russia, Brasile, Australia.

In Europa la superficie interessata dalla coltivazione di questa specie varia nei diversi anni e si attesta su 120 milioni di ettari circa (media 2000-2011) con una superficie minima nel 2010 (110 milioni di ettari circa) e una massima nel 2008 (127 milioni di ettari circa) (tab.1.1). La produzione unitaria di cereali in Europa è

in media superiore rispetto a quella mondiale: le rese maggiori sono state registrate negli anni 2008 e 2011 (4,0 e 3,9 t ha⁻¹ rispettivamente) rispetto ai rimanenti anni. Dopo il frumento, in Europa il cereale più coltivato è l'orzo con il 22,9 % della superficie coltivata a cereali, seguito da mais 12,2%, avena 5,9%, segale 5,0% e triticale 2,4% (fig.1.1). Le zone di coltivazione sono concentrate in Russia, Ucraina seguite da Francia, Polonia, Germania, Spagna, Romania e Italia (fig.1.2).

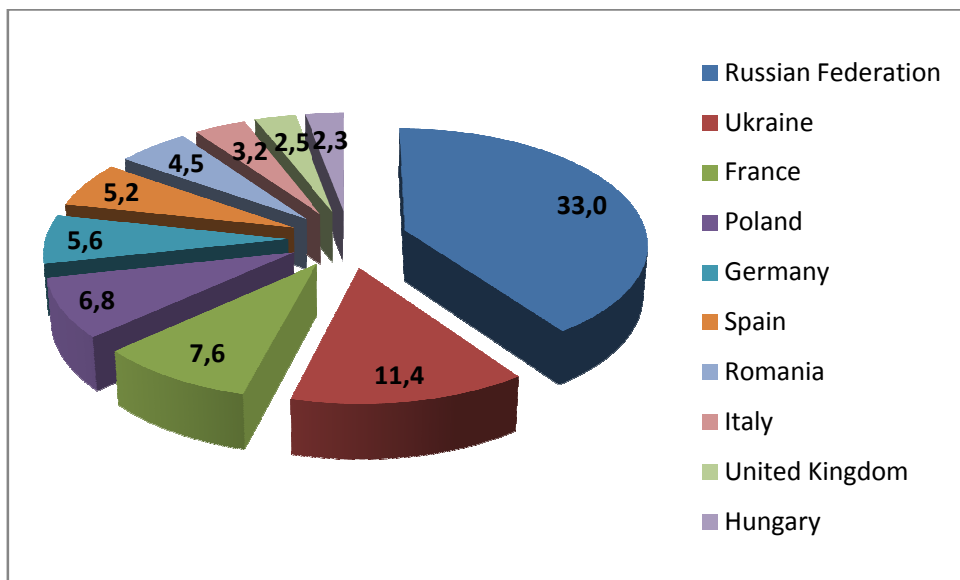


Figura 1.2. Zone di coltivazione dei cereali in Europa

Dati: FAO 2000-2011

L'analisi della situazione italiana è riportata nelle tabelle 1.2, 1.3, 1.4. La superficie destinata alla coltivazione dei cereali tra il 2000 e il 2011 è stata di poco superiore a 3,9 milioni di ettari. La coltivazione dei cereali è concentrata per il 26,8% al Sud, 22,6 % al nord est, 22,0% al nord ovest, 16,8% al centro e 11,8%

nelle isole (periodo 2000-11; fonte ISTAT). La produzione unitaria media è stata di $5,2 \text{ t ha}^{-1}$ con un valore massimo di $5,7 \text{ t ha}^{-1}$ nel 2011 e uno minimo nel 2003 pari a $4,3 \text{ t ha}^{-1}$ (tab.1.3). Il frumento, tra i cereali, risulta essere il più coltivato (54 %), seguito da mais (27%), orzo (8%), avena (3,7%) e sorgo (0,9%) (FAO medie 2000-11) (Fig.1.3).

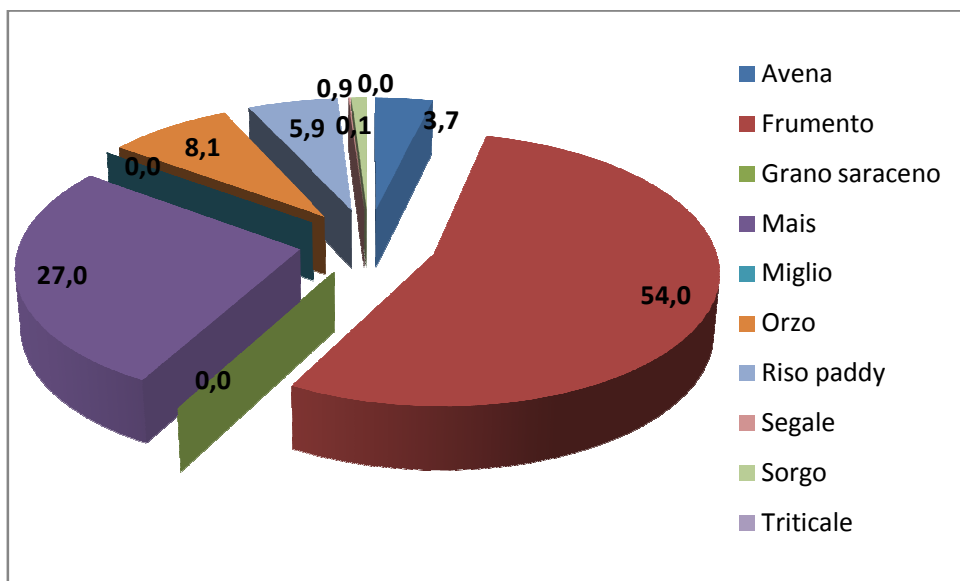


Figura 1.3. I cereali più coltivati in Italia

Dati: FAO 2000-2011

Tabella 1.2 Superficie investita e produzione unitaria di cereali nel Nord Italia dal 2000 al 2011

	2000-02		2003-05		2006-08		2009-11	
	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹
<i>Piemonte</i>	40,9	27,1	41,6	28,2	39,2	27,7	28,7	18,3
<i>Valle d'Aosta</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Liguria</i>	0,2	0,1	0,1	0,0	0,1	0,0	3,3	2,6
<i>Lombardia</i>	44,4	39,5	46,4	41,4	43,4	39,0	44,2	38,7
<i>Trentino-Alto Adige</i>	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0
<i>Bolzano</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trento</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Veneto</i>	34,4	31,4	38,1	32,9	38,7	31,6	35,3	30,2
<i>Friuli-Venezia Giulia</i>	13,4	13,0	12,3	8,7	12,1	10,5	10,5	8,0
<i>Emilia-Romagna</i>	39,8	26,2	38,5	26,2	40,3	26,2	37,9	26,7

Fonte: Istat 2000-11

Tabella 1.3 Superficie investita e produzione unitaria di cereali nel Centro Italia dal 2000 al 2011

	2000-02		2003-05		2006-08		2009-11	
	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹
<i>Toscana</i>	22,0	8,0	22,5	7,9	19,9	7,5	15,1	5,8
<i>Umbria</i>	12,5	6,8	12,4	6,6	11,8	7,0	13,7	7,4
<i>Marche</i>	22,8	9,5	22,5	9,6	20,6	8,6	15,4	5,9
<i>Lazio</i>	16,6	6,5	14,7	5,6	11,2	4,7	10,4	4,3

Fonte: Istat 2000-11

Tabella 1.4. Superficie investita e produzione unitaria di cereali nel Sud Italia dal 2000 al 2011

	2000-02		2003-05		2006-08		2009-11	
	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹
<i>Abruzzo</i>	9,8	4,1	8,8	3,7	8,5	3,7	7,9	3,4
<i>Molise</i>	9,9	2,8	8,8	2,5	8,0	2,4	6,5	1,8
<i>Campania</i>	14,6	5,1	13,6	4,9	11,8	4,4	10,6	3,7
<i>Puglia</i>	47,5	11,6	48,3	12,4	44,6	11,9	37,4	9,5
<i>Basilicata</i>	24,7	4,8	23,3	5,7	19,4	5,2	15,9	4,1
<i>Calabria</i>	12,3	3,0	9,9	2,6	8,7	2,4	6,4	1,7
<i>Sicilia</i>	36,9	7,6	36,6	9,6	33,6	9,3	30,2	8,3
<i>Sardegna</i>	15,6	2,4	15,4	2,8	13,0	2,5	6,3	1,3

Fonte: Istat 2000-11

1.2. Importanza economica del frumento nel mondo ed in Italia

L'impatto che il frumento ha avuto nella storia dei popoli è stato di rilevante importanza tanto da essere considerata come la specie che può meglio raccontare l'evoluzione del genere umano; tale graminacea, infatti, ha condizionato le azioni dell'uomo fino a segnare profondamente gli eventi che hanno portato all'attuale assetto della geografia sociale e politica di vaste aree del pianeta

Il "successo" dei cereali e del frumento in particolare, è da ascrivere alle caratteristiche dei semi che per dimensioni e umidità si prestavano bene ad essere conservati, essiccati, abbrustoliti e macinati. Tali caratteristiche lo resero adatto a soddisfare i bisogni alimentari delle popolazioni attraverso i millenni come dimostrano le citazioni bibliche che lo ritenevano la principale fonte di sostentamento (spesso era usata la parola *carne* per la sua identificazione).

Le prime evidenze archeologiche fanno risalire al 12.000 circa a.C. la coltivazione del frumento nelle aree geografiche del vicino Oriente (Levante), come Siria e Turchia. L'inizio della diffusione del frumento dal suo luogo di origine è avvenuto durante il periodo del Neolitico e dal 5000 a.C. il frumento raggiunse l'Etiopia, l'India, l'Irlanda e la Spagna, approdando un millennio più tardi anche in Cina. In seguito, l'aratura dei terreni agricoli eseguita attraverso l'uso dei cavalli (3000 a.C.) aumentò la produttività dei cereali e successivamente, nel XVIII secolo, il rimpiazzo della semina a spaglio con le seminatrici meccaniche migliorò

ulteriormente le rese unitarie; l'introduzione delle prime mietitrici contribuì a migliorare le operazioni di raccolta.

Gli studi sulla coltivazione del questo cereale si moltiplicarono nel corso del '700, epoca durante la quale una cospicua parte delle superfici europee coltivate a frumento cedette il posto alla coltura della patata allo scopo di arginare le carestie. Nonostante tutto, agli inizi dell'800 il frumento era la coltura più diffusa in Europa, seppure con varietà vecchie e all'inizio del '900 in Italia la coltivazione del frumento continuava a costituire la principale fonte di reddito degli agricoltori.

Ad oggi secondo i dati FAO (2011) la granella di frumento occupa il sesto posto tra gli alimenti più prodotti a livello mondiale, e il quarto a livello dell'Unione Europea con 224 milioni di tonnellate. La superficie mondiale destinata alla coltivazione del frumento negli anni compresi tra il 2000 e il 2011 è stata pari a 216 milioni di ettari. I paesi maggiori produttori di frumento nel mondo sono la Cina, India, Russia e USA.

L'UE ha investito a frumento, negli anni compresi tra il 2000 e il 2011, in media 57 milioni di ettari con una resa unitaria di 3,5 t ha⁻¹. Russia, Francia e Germania nel 2011 sono stati i paesi maggiori produttori; l'Italia ha occupato il nono posto.

In Italia la coltivazione del frumento duro si estende su circa 1,2 milioni di ettari con una produzione media di circa 4 milioni di tonnellate e una resa di 3,2 t ha⁻¹ (ISTAT 2011) (tab 1.5, 1.6, 1.7). Dall'osservazione dei dati Istat riferiti al periodo compreso tra il 2000 e il 2011, è possibile notare come la superficie e la

produzione di frumento duro in Italia siano diminuite di circa il 30% nel corso del dodicennio.

La Puglia è la regione granicola più importante d'Italia sia per la superficie investita ($373,1 \text{ ha} \times 10^3$ - media 2000-11) che per la produzione ottenuta ($949,1 \text{ t} \times 10^3$ - media 2000-11). Alla Puglia segue la Sicilia caratterizzata da una distribuzione territoriale alquanto diversificata per varietà ed epoca di semina. Nel periodo considerato (2000-11) in Sicilia sono stati destinati alla durogranicoltura $316,2 \text{ ha} \times 10^3$ dai quali è stata ottenuta una produzione di $798,1 \text{ t} \times 10^3$. Basilicata, Marche e Toscana seguono la Sicilia con notevole distacco ($161,6$, $129,1$ e $122,8 \text{ ha} \times 10^3$ e $513,5$, $385,1$ e $381,6 \text{ t} \times 10^3$ rispettivamente).

Tabella 1.5. Superficie investita e produzione unitaria di frumento duro nel Nord Italia dal 2000 al 2011

	2000-02		2003-05		2006-08		2009-11	
	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹
<i>Piemonte</i>	1,2	5,6	1,1	6,0	3,0	13,3	3,2	14,2
<i>Valle d'Aosta</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Liguria</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
<i>Lombardia</i>	1,5	8,0	3,1	17,6	13,9	76,5	15,3	84,6
<i>Trentino-Alto Adige</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Bolzano</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Trento</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Veneto</i>	1,0	4,6	1,0	5,6	5,5	30,1	8,9	49,3
<i>Friuli-Venezia Giulia</i>	0,2	1,0	0,5	2,7	1,0	4,1	0,3	1,1
<i>Emilia-Romagna</i>	22,6	117,4	22,4	135,5	51,2	280,4	60,9	326,5

Fonte: Istat 2000-11

Tabella 1.6. Superficie investita e produzione unitaria di frumento duro nel Centro Italia dal 2000 al 2011

	2000-02		2003-05		2006-08		2009-11	
	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹
<i>Toscana</i>	142,0	411,9	147,2	453,2	116,5	384,3	85,5	277,0
<i>Umbria</i>	13,5	52,0	14,7	58,8	12,8	59,7	16,0	86,7
<i>Marche</i>	133,1	522,0	132,3	545,2	116,4	466,3	134,8	520,4
<i>Lazio</i>	85,4	240,6	78,4	244,8	49,7	169,7	45,6	140,1

Fonte: Istat 2000-2011

Tabella 1.7. Superficie investita e produzione unitaria di frumento duro nel Sud Italia dal 2000 al 2011

	2000-02		2003-05		2006-08		2009-11	
	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹	0000 ha	000 t ha ⁻¹
<i>Abruzzo</i>	42,2	162,8	37,5	127,0	32,0	122,1	33,0	123,0
<i>Molise</i>	73,2	192,2	65,0	178,9	56,9	174,5	45,6	130,3
<i>Campania</i>	69,9	200,5	72,8	214,2	59,9	182,4	44,1	114,3
<i>Puglia</i>	413,5	1005,8	415,4	1057,7	365,4	961,3	298,0	771,8
<i>Basilicata</i>	194,3	344,8	186,0	462,4	150,1	413,8	115,8	319,5
<i>Calabria</i>	62,9	144,4	49,3	127,9	36,8	98,3	22,5	62,2
<i>Sicilia</i>	341,2	698,9	338,5	879,3	309,9	856,2	275,4	757,8
<i>Sardegna</i>	89,2	103,1	95,0	166,0	76,0	142,8	32,1	61,2

Fonte: Istat 2000-2011

Tra il 2000 e il 2011 l'Italia ha importato in media 6,8 milioni di tonnellate di frumento con valori compresi tra 5,4 milioni di tonnellate del 2008 e 7,7 milioni di tonnellate del 2002 (FAO, 2000-11). Nel periodo compreso tra il 2000 al 2006, Usa, Canada, Australia, Francia e Argentina sono stati i primi Paesi ad esportare frumento. Dal 2007 al 2011 anche la Russia e la Germania entrano tra i primi Paesi esportatori di questo cereale. Solo negli anni 2008 e 2011 l'Italia compare tra i primi 20 Paesi esportatori. I flussi di frumento da questi paesi sono diretti verso Giappone, Brasile, Italia, ed Egitto. In particolari annate tra i primi paesi importatori si ritrovano l'Algeria, la Spagna e la Cina (FAO, 2000-11).

1.3. Il frumento duro in Sicilia

La coltivazione del grano duro in Sicilia ha storicamente rappresentato, e tutt'ora rappresenta, una delle principali risorse agricole. Sottoposta a Roma, la Sicilia fu di fatto condannata alla monocoltura cerealicola e divenne il “*granaio del popolo romano*”. Anche per la Sicilia, si registra, nel dodicennio di riferimento, un calo della superficie coltivata a frumento duro a partire dall'annata 2004-05 (Fig. 1.4).

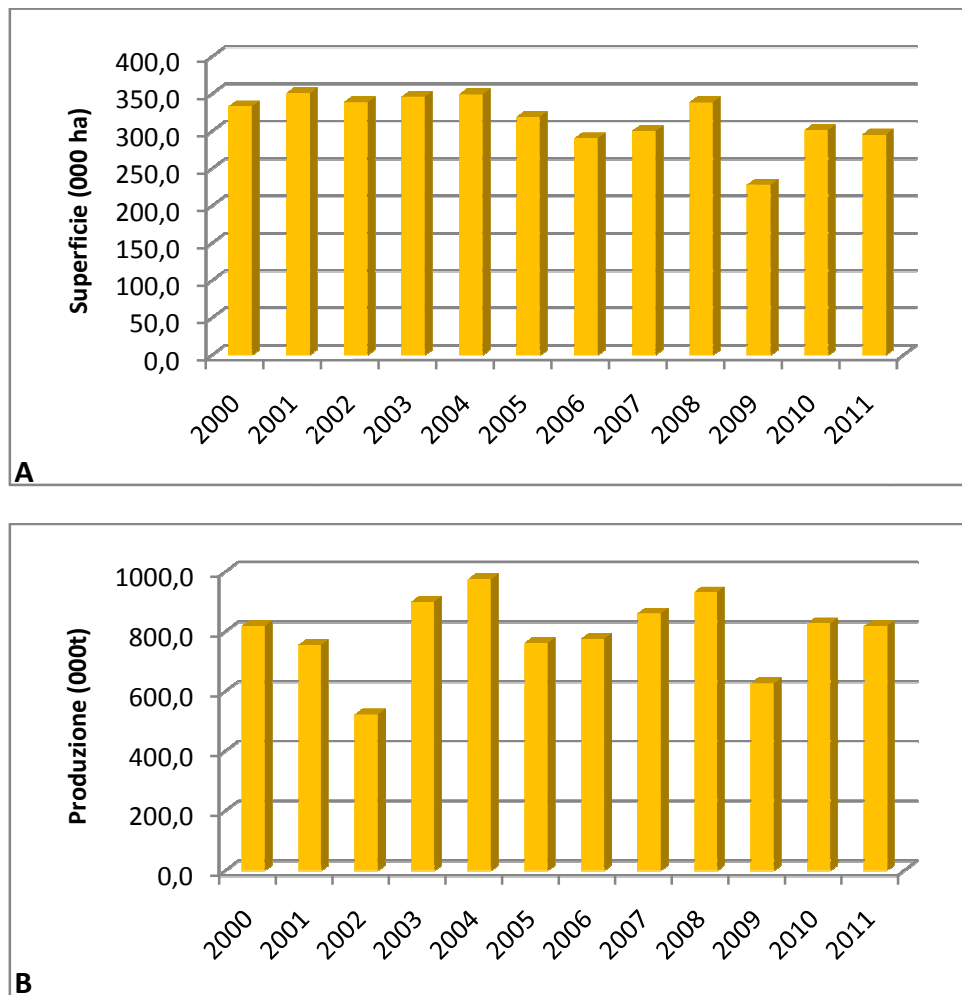


Figura 1.4. Superficie investita a frumento duro in Sicilia (A) e relativa produzione (B)

Fonte: Istat 2000-11

La riduzione della superficie dal 2005 al 2011 rispetto al periodo 2000-2004 pari al 14% è da spiegare con l'introduzione della riforma della PAC e con l'applicazione del regime del "disaccoppiamento". Da questa data l'agricoltore dell'Unione Europea non è più legato alla reale produzione nei vari settori produttivi (seminativi, allevamenti, ecc.), bensì alla superficie aziendale complessivamente destinata ad attività agricola, per la quale deve essere garantito il mantenimento delle buone condizioni agronomiche e ambientali, dei criteri di condizionalità in materia di sanità pubblica, salute delle piante, benessere degli animali ed il rispetto dell'ambiente (www.politicheagricole.it).

Palermo (85 ha x 10³), Enna (57 ha x 10³), Caltanissetta (43 ha x 10³) e Agrigento (42 ha x 10³) sono le province siciliane dove la durogranicoltura è maggiormente sviluppata con produzioni variabili da 216 a 100 t x 10³. A seguire le province di Catania, Trapani, Ragusa, Siracusa e Messina.

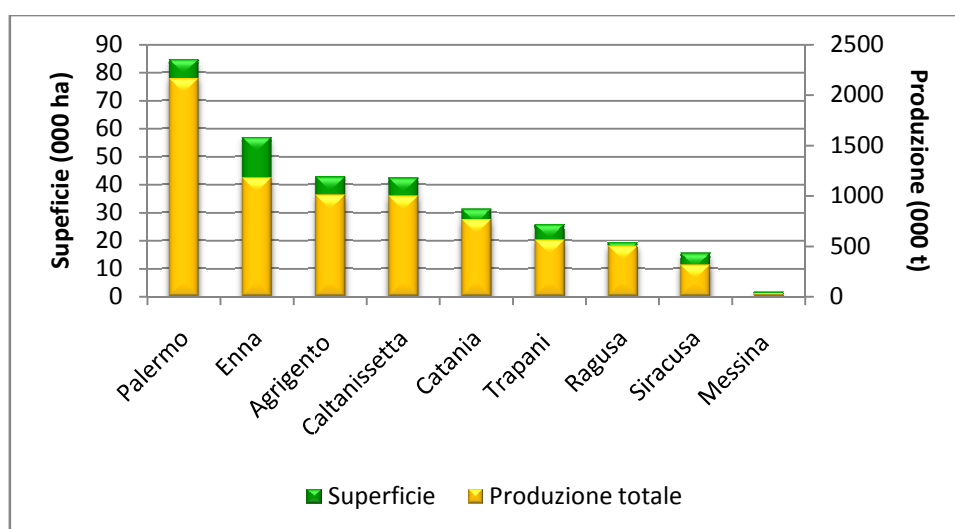


Figura 1.5. Superfici e produzioni di frumento duro nelle province siciliane

Fonte: Istat 2000-201

2. LA BIODIVERSITA' DEL FRUMENTO DURO

attualmente al Registro Nazionale delle varietà sono iscritte 225 varietà di grano duro nate dal processo di miglioramento genetico che l'uomo agricoltore inconsciamente ha messo in atto da sempre. Con il processo di domesticazione, l'uomo ha consapevolmente posto la sua attenzione solo su alcune specie e all'interno di queste ha esercitato una accurata selezione al fine di fissare alcuni caratteri specifici. Il risultato è stato una grave erosione genetica per la riduzione del numero di specie utilizzate e per la riduzione della loro diversità. Ad aggravare il fenomeno dell'erosione genetica ha contribuito la modernizzazione dell'agricoltura e/o industrializzazione agricola che si è fatta promotrice della sostituzione delle varietà locali con le varietà moderne (Porfiri, 2014).

Con particolare riferimento al panorama varietale della Sicilia, è bene mettere in luce la variabilità delle condizioni pedoclimatiche delle aree in cui tradizionalmente si coltiva questo cereale caratterizzate da terreni che variano dall'argilloso al sabbioso, da differente orografia, distanza dal mare, e regime di venti variabile. In questo mutevole panorama di situazioni ambientali, già riconosciute da Ugo De Cillis (1933) e da Azzi (1922), si sono nel tempo susseguite una serie di "razze" adatte per ogni areale dell'Isola. Della zona costiera erano tipiche Sammartinara, Biancuccia, Scorsonera e Cuccitta; della collina Ruscia e Realforte, quest'ultima nota come una delle più antiche e pregiate varietà siciliane con un glutine secco in quantità elevata. Particolare menzione merita la Timilia (Trimenia o Tumminia) tipica delle terre umide. Altre

varietà note sono: Margherito (o Bidì), Biancuccia o Biancolilla, Russello, Cappelli, Cicireddu, Francisa, Tripolino, Aziziah 17/45, Dauno, Garigliamo, Girgentara. Nonostante questa ampia variabilità, Ballatore nel 1951, sottolinea che *“La Sicilia non ha ancora trovato i grani adatti per tutti i suoi ambienti [...]”*. La svolta si manifesta con la costituzione della varietà Capeiti 8 (1969), Trinakria (1970), Simeto (1988), Valbelice (1992), Colosseo (1995), Platani (1995), Bronte (1996), Ciccio (1996), e Mongibello (1996), testimonianza dell’efficacia del lavoro di miglioramento genetico (Lombardo, 2004), che costituiscono varietà più produttive e stabili delle precedenti.

Secondo i dati forniti dall’Ente Nazionale Sementi Elette (ENSE, 2011) le varietà di frumento duro più diffuse nell’Isola, sono state la varietà Simeto con il 23,8% della quantità di seme certificato, Core con il 12,7%, Iride con il 12%. Duilio con il 9% e Saragolla con il 7,3%. Seguono Ciccio, K26, Anco Marzio, Rusticano e Maestrale.

Alla luce di quanto detto la preoccupazione dei ricercatori è quella di mettere in discussione il livello di diversità e che le “moderne varietà” possano determinare un ulteriore calo della biodiversità del frumento duro. Porfiri (2014) invita a riflettere sulla capacità delle varietà di più recente costituzione a ricostruire nel tempo una nuova diversità, così come è successo nei precedenti periodi storici.

Negli ultimi anni, l’attenzione degli addetti ai lavori, è stata rivolta verso il recupero della diversità varietale da quelle che sono definite *vecchie varietà* in un’ottica di conservazione della biodiversità. A tal proposito il Ministero

dell'Ambiente sostiene che *“La biodiversità e i servizi ecosistemici nostro capitale naturale, siano conservati, valutati e, per quanto possibile, ripristinati, per il loro valore intrinseco e perché possano continuare a sostenere in modo durevole la prosperità economica e il benessere umano nonostante i profondi cambiamenti in atto a livello globale e locale”*. L'attività di conservazione e recupero è stata già avviata a livello internazionale ed europeo dall'anno 2010, dichiarato dall'Assemblea Generale delle Nazioni Unite *“Anno Internazionale della Biodiversità”*, attraverso la revisione degli strumenti che consentiranno di arrestare la perdita di biodiversità e dei servizi eco sistemici che da essa derivano (www.minambiente.it).

Per le varietà che sono state oggetto di studio e sperimentazione nel corso di dottorato si riporta la caratterizzazione tratta da autori diversi. Particolare attenzione è stata riservata ai genotipi Russello e Timilia per il legame con il territorio siciliano.

2.1. Le vecchie varietà siciliane

2.1.1. La Timilia

La Timilia (*Triticum turdidum* L. subsp *durum*) nello scorso secolo era uno dei grani più diffusi nell'areale del Mediterraneo: Portogallo, Nord Africa, Francia ed in particolare Spagna dove nella valle alluvionale Guadalquivir, il grano riusciva a sfruttare il suolo molto ricco di elementi nutritivi senza danno per le colture successive (Werner, 1885). Questo genotipo era conosciuto come Tresemino in Spagna, Blètrimenia, Trèmois o Trimenia de Sicile in Francia e Dremonatweizen ovvero grano dei tre mesi in Germania.

Jannaccone (1950) riporta che Timilia è stata una popolazione estesamente diffusa nel primo cinquantennio di questo secolo nelle aree nel Meridione d'Italia. In una pubblicazione dal titolo "Il frumento in Italia" del 1914, il Ministero di Agricoltura, Industria e Commercio, riportando il prezzo medio mensile di ciascun mercato italiano, indicava tre tipi di grano per il mercato di Palermo quali Realforte, Sammartinara e Timilia e due per il mercato di Catania quali categoria "per pasta" e Timilia. Negli stessi anni erano proprio la Timilia di Catania e di Palermo a spuntare i prezzi maggiori rispetto alle varietà di frumento duro più rinomate quali "Tangarog" o "Nord America".

Ad oggi dati non ufficiali affermano che sono circa 450 gli ettari investiti dalla coltivazione di questo genotipo. Tale superficie è in costante aumento.

Crescini nella pubblicazione "Progressi conseguiti in Italia durante gli anni XV e XVII nella cerealicoltura fascista"(1939), riferisce i risultati ottenuti dalla Stazione

Sperimentale di Granicoltura per la Sicilia affermando che da “selezioni, attuate in popolazioni locali di grani duri, ed incroci di forme locali-dure e tenere estere, si sono ottenute il Russello S.G.7, duro autunnale, e le Timilie S.G.1 e S.G.2 duri marzuoli. Le Timilie S.G.1 e S.G.2 hanno, sulla popolazione originaria, produttività e resistenza all'alidore (siccatà) esaltata”. Il colore della resta è un carattere distintivo: la selezione Timilia S.G.1 presenta resta nera alla base e gialle verso l'alto mentre Timilia S.G.2 gialla chiara e di medie lunghezze. Tra le due selezioni di Timilia, quella a reste nere è la più produttiva (De Cillis,1942)

Autori (Bufalino, 1930; De Cillis, 1942), documenti e pubblicazioni diversi (Commissione provinciale per la propaganda granaria di Caltanissetta, 1926; Enciclopedia Agraria Italiana parte V, 1931; Enciclopedia Agraria REDA 1985) riportano che Timilia possiede buona tolleranza sia a stress biotici che abiotici. È riconosciuta la resistenza agli stress ambientali, in particolare alla siccatà e alla capacità di sfuggire alla stretta. Per questa sua importante caratteristica è annoverato tra i “Frumenti per regioni caldissime (Algeria e Sicilia)” insieme ad altri genotipi quali Realforte. Presenta però una scarsa resistenza alla bianconatura. Timilia, riconosciuto come unico grano marzuolo, era utilizzato nella classica rotazione maggese-cereale-riposo pascolato, si coltivava su ringrano e spesso veniva utilizzato come coltura miglioratrice. Si era soliti ricorrere alla Timilia quando le piogge autunnali abbondanti non permettevano la tempestiva preparazione del terreno, o della semina di varietà autunnali di frumento o se tali varietà non si sviluppavano adeguatamente. La semina in

gennaio nelle zone marittime ed in marzo nelle zone collinari rappresentava un valido compromesso per il recupero dell'annata agraria. È documentata la resistenza anche a stress fitopatologici per esempio ruggine (*Puccinia graminis*), mal del piede e carbone (*Ustilago tritici*).

Alla fine degli anni '90 uno studio condotto presso la Stazione Sperimentale di Granicoltura di Caltagirone (Blangiforti, 1997-98) ricorrendo all'analisi cariotipica, ha dimostrato che la Timilia è caratterizzata da una elevata quantità di eterocromatina indice di ancestralità ed ampia adattabilità. Le limitate manipolazione subite non hanno indotte variazioni nella lunghezza totale del complemento cromosomico contrariamente a quanto rilevato in Capeiti e Simeto.

Gallo *et al* (1997) riportano che i pattern elettroforetici delle gliadine delle popolazioni di Timilia di differente provenienza sono abbastanza simili. Tutte le accessioni collezionate mostrano la banda γ 45 ed alcune γ 42. Tra i caratteri qualitativi gli autori fanno rilevare il buon contenuto proteico e di glutine secco ma una scadente qualità proteica e indice di giallo della semola. Lo stesso studio mette in risalto l'elevata serbevolezza del pane ottenuto con sfarinati di Timilia: a confronto con pani di semola di cultivar diverse e di grano tenero, il pane di Timilia perde umidità con notevole lentezza conservando sapidità e anche fino a venti giorni dal confezionamento.

Di seguito si riporta la caratterizzazione della Timilia a reste bianche e della Timilia a reste nere.

2.1.1.1. Timilia a reste nere

Come nel caso di Russello, anche Timilia fu costituita da De Cillis presso la stazione di granicoltura di Catania. Timilia era largamente diffusa in Sicilia (Baldoni e Toderi, quaderno n°8 dell'ENSE, 1959).

Sinonimi (De Cillis, 1942): confusa con Timilia a reste bianche, Tumminia, Diminia, Tummulia, Riminia, Marzuolo, Marzuolo siciliano, Timilia napoletana, Napoletana.

Caratteri morfologici

Giovani cespi eretti; foglie verde chiaro, glabre, a margini lisci; guaine verdi, glabre; auricole bianche, glabre.

Paglia bianca, flessibile e fragile; ultimo internodo pieno.

Spiga aristata, oblunga sulla faccia e fusiforme sui profili; poco appiattita sui profili; semidensa; eretta a maturità; rachide rigida e alquanto tenace.

Glume glabre, bianche, raramente col margine del mucrone strettamente lineato in nero, lunghe e di media larghezza; spalla variabile: più o meno larga, da quadra ad obliqua, dente assente; mucrone stretto, dritto, acuto, lungo intorno a mm 1,5.

Reste lunghe, nere alla base e gialle verso l'apice.

Cariosside bruna fosca, di media lunghezza, più o meno gibbosa; embrione di media grandezza; pennello esteso e corto; solco di media larghezza e superficiale, a bordi arrotondati; struttura glutinosa.

Caratteri biologici

Molto produttiva; a fioritura e maturazione tardive. Mediamente resistenze all'allettamento; resistente alla stretta e alle ruggini: mediamente resistente al mal del piede; resistente al carbone.

La resistenza al freddo è discreta, e buona alla bianconatura (Baldoni e Toderi, quaderno n°8 dell'ENSE, 1959). È più resistente alla siccità rispetto a Timilia a reste bianche (Prestianni, 1926).

Accestimento medio.

Caratteristiche della granella (De Cillis, 1942)

	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi
Peso ad Hl	6	80.6	79.4-82.1
Peso di 1000 semi	6	29	25.6-32

Caratteristiche bioagronomiche e composti volatili di varietà di frumento duro
tradizionalmente coltivate in Sicilia

Caratteristiche della farina (De Cillis, 1942)

	Integrale			Abburattata al 60% circa		
	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi
Dati sulla s.s. a 105°						
Ceneri %	6	2.2	1.8-2,5	2	1.1	0.9-1.2
Cellulosa %	6	2.7	2.3-3.3			
Sostanza azotata (Nx6,25)	6	13.8	11.3-15.6	2	11.5	10.8-12.2
Resa media alla macinazione di tipo industriale in semole e semolini % 51.2						

Caratteristiche degli impasti (De Cillis, 1942)

	Farina abburattata al 60% circa			Semola	
	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi	Num. Di campioni esaminati	Dato medio
Acqua assorbita % di macinato, misurata al Farinografo Brabender					
Per consistenza normale 450	2	58.5	54-63		
Per consistenza 500				1	51.3
All'estensimetro Chopin: (per le dette consistenze)					
Tenacità (P)	2	21.2	17.5-25	1	31
Indice di rigonfiamento (G)	2	16	15.5-16.5	1	20
Valore di panificazione (W)	2	33	28-39	1	55
Al farinografo Brabender:					
Resistenza dell'impasto alla consistenza 450 minuti	2	1'45''	1'-30''-2'		
Perdita di consistenza dopo 15'd'impasto (caduta d'impasto)	2	175	150-200		
Prova di Pelschenke (su farina integrale) tempo medio di rottura minuti 34					

2.1.1.2. Timilia a reste bianche

Sinonimi (De Cillis): confusa con Timilia a reste nere. – Tumminia, Diminia, Tummulia, Riminia, Marzuolo, Marzuolo siciliano. Prestianni (1926) sostiene che sia l'unico grano marzuolo che possiede la Sicilia.

Caratteri morfologici (De Cillis, 1942)

Giovani cespi eretti; foglie verde chiaro, glabre, a bordi scabri; guaine verdi, glabre; auricole bianche, glabre.

Paglia gialla chiara, flessibile e fragile; ultimo internodo pieno.

Spiga bianca (Prestianni, 1926), aristata, fusiforme sulla faccia e sul profilo; leggermente appiattita sui profili; semidensa; eretta a maturità; rachide flessibile e fragile.

Glume glabre, gialle chiare di media lunghezza e strette; spalla larga, da quadra ad obliqua, con dente assente o appena rilevato e non sporgente; mucrone di media larghezza, dritto, acuto, lungo intorno a mm 1,5.

Reste di media lunghezza, gialle chiare.

Cariosside bruna di media lunghezza, a profilo normale; embrione grande; pennello esteso e corto; solco stretto e di media profondità, a bordi leggermente angolosi; struttura glutinosa.

Caratteri biologici

Mediamente produttiva: Prestianni (1926) scrive: “Con poche cure, se la primavera corre favorevole per le piogge, rende bene, in media q 12 ad ha”; a fioritura e maturazione tardive. Resistente all’allettamento, alla stretta e alle ruggini; mediamente resistente al mal del piede, resistente al carbone (De Cillis, 1942). Accestimento scarso (Prestianni, 1926).

Caratteristiche della granella(De Cillis, 1942)

	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi
Peso ad HI	5	79.8	79.2-80.3
Peso di 1000 semi	5	27.5	25.9-29.2

Caratteristiche della farina (De Cillis, 1942)

	Integrale			Abburattata al 60% circa		
	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi

Dati sulla s.s.
a 105°

Ceneri %	5	2.2	1.9-2,4	2	1.1	1.3-1.4
Cellulosa %	5	2.6	2.5-3.0	1	0.4	0.6-0.7
Sostanza azotata (Nx6,25)	5	13.0	11.2-14.5	2	12.1	10.4-12.9

Resa media alla macinazione di tipo industriale in semole e semolini % 56.2

**Caratteristiche bioagronomiche e composti volatili di varietà di frumento duro
tradizionalmente coltivate in Sicilia**

Caratteristiche degli impasti

	Farina abburattata al 60% circa			Semola	
	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi	Num. Di campioni esaminati	Dato medio
Acqua assorbita % di macinato, misurata al Farinografo Brabender					
Per consistenza normale 450	3	59.9	58.6-60.9		
Per consistenza 500				1	54.3
All'estensimetro Chopin: (per le dette consistenze)					
Tenacità (P)	3	17.3	16.5-22.5	1	25.0
Indice di rigonfiamento (G)	3	13.3	12.5-15	1	20.2
Valore di panificazione (W)	3	25	20-32	1	44
Al farinografo Brabender:					
Resistenza dell'impasto alla consistenza 450 minuti	3	1'33"	1'-15"-2'10"		
Perdita di consistenza dopo 15'd'impasto (caduta d'impasto)	3	168	150-200		
Prova di Pelshenke (su farina integrale) tempo medio di rottura minuti 24					

Molto ricercato per la fabbricazione delle paste, per il suo alto tenore e la qualità del suo glutine. Usato nella panificazione dà un pane molto scuro, ma dolce e morbido, carattere che conserva per molti giorni (Prestianni, 1926).

Allo stato attuale Timilia è utilizzata per ottenere il Pane Nero di Castelvetrano che è compreso tra i presidi Slow Food.

2.1.1.3. Disciplinare di produzione del Pane nero di Castelvetro

Art.1. Denominazione del prodotto

La denominazione "Pane nero di Castelvetro" è riservata al pane rispondente ai requisiti ed alle prescrizioni imposte dal presente disciplinare.

Art.2. Riferimenti storici

La denominazione "Pane nero di Castelvetro" è propria del pane ottenuto mediante l'antico sistema di lavorazione (con lievito madre, *lu criscenti*) e dall'impiego di una miscela di due semole: quella ottenuta da grano biondo siciliano integrale e quella ricavata da un'antica varietà di frumento locale, la tumminia. Quest'ultima è una varietà di grano duro a ciclo breve (detta anche grano marzuolo) anticamente seminata come ringrano o quando le annate piovose non consentivano la semina autunnale. Pare che la coltivata, con il nome di trimeniaios, già dai coloni greci insediatisi nella vicina città di Selinunte. Il pane fatto con la tumminia si mantiene gustoso e morbido per diversi giorni. Questo particolare ingrediente, di scarsa reperibilità, conferisce al prodotto finito un caratteristico sapore dolce.

La cottura secondo il metodo antico avviene esclusivamente in forni di pietra riscaldati con legna d'ulivo (solitamente immagazzinata ed essiccata direttamente dal fornaio, che la recuperava dalle fronde eliminate durante la potatura).

Se ne ottiene una pagnotta rotonda di media pezzatura, che in siciliano si chiama *vastedda*, in grado di mantenersi per 7-10 giorni. La forma tondeggiante e bassa è considerata, sin dall'antichità, funzionale per poter essere spezzata a mano, e sembra essersi così tramandata nei secoli.

Un'altra forma, caratteristica di quasi tutte le zone rurali dell'isola, è quella che ricorda lo zoccolo di bovino, o "a piede di bue", chiamata *cuddura*: veniva in passato confezionata una volta l'anno con il primo frumento dell'ultimo raccolto, con funzione di rito di ringraziamento e propiziazione, come ogni altra forma di offerta delle primizie.

La pezzatura è anch'essa una reminiscenza antica, in quanto le massaie preparavano il pane una volta alla settimana (il sabato o il lunedì).

Art.3. Zona di produzione

La zona di produzione del "Pane nero di Castelvetro" comprende il territorio amministrativo del Comune di Castelvetro, in provincia di Trapani.

Art.4. Elenco e quantità degli ingredienti

Le materie prime impiegate sono:

- una miscela di due semole, secondo le proporzioni: 80% integrale da grano duro e 20% di timilia, (o tumminia in dialetto). Entrambe le semole devono essere macinate a pietra in mulini della valle del Belice e devono provenire da grano coltivato nell'ambito della Regione Siciliana

- semi di sesamo, da aggiungere sulla superficie della forma prima che il pane venga infornato

-lievito madre (con una eventuale piccola aggiunta di lievito di birra)

- acqua

- sale marino integrale di Trapani

Non sono ammessi coloranti, conservanti, additivi, materie prime provenienti da prodotti geneticamente modificati.

Art.5. Modalità di trasformazione

Le fasi e le modalità di produzione del “Pane nero di Castelvetro” sono le seguenti:

Impasto (dosi e composizione)

Per quintale di semola sono necessari: kg.1 (1%) di lievito naturale ottenuto da lievito madre (con una eventuale piccola aggiunta di lievito di birra), kg.1,5 (1,5%) di sale marino artigianale di Trapani, lt.60 (60%) circa di acqua. Il lievito madre è preparato in proprio utilizzando farina e acqua e viene rinnovato, all'occorrenza, aggiungendo i due ingredienti. Tali percentuali possono variare leggermente a causa di un diverso tasso di umidità dell'ambiente.

L'operazione d'impasto avviene modellando con macchine impastatrici in acciaio inox, mediamente per 30 minuti.

Lievitazione

Ad ultimazione dell'operazione d'impasto si fa riposare la massa, in una o più fasi, per un periodo di tempo complessivo di almeno 2 ore.

Modellatura

A conclusione della precedente fase di lavorazione si procede con la spezzatura della massa (in unità dal peso di 1 o 1,20 chili) e la modellatura manuale in forma di pagnotte.

Riposo

Una volta ottenute le forme, la massa viene lasciata nuovamente riposare dai 30 ai 60 minuti, secondo la temperatura dell'ambiente.

Art.6. Cottura e sfornatura

Il forno deve essere alimentato con rami secchi d'ulivo (a conduzione diretta)e deve raggiungere la temperatura di 300°C. A fiamma spenta, il forno viene ripulito con una scopa di palma nana dal lungo manico. Si inforna quindi il pane, che cuoce per circa 60 minuti, senza fuoco diretto e a temperatura calante.

Art.7. Descrizione del prodotto finito

Il "Pane nero di Castelvetro" all'atto dell'immissione al consumo deve rispondere alle seguenti caratteristiche:

- 1) pagnotta in pezzatura di 500 grammi o un kg, in forma: rotonda (localmente chiamata "*vastedda*") di 23-25 cm di diametro e 10-15 cm di altezza; allungata (localmente chiamata "*filone*"); a "*piede di bue*" (localmente chiamata "*cuddura*");
- 2) la crosta deve essere croccante e spessa, di color marrone scuro e cosparsa di semi di sesamo
- 3) la mollica deve essere morbida di colore giallo grano, morbida ed omogeneamente alveolata
- 4) il prodotto fresco deve avere un caratteristico odore di tostato, che ricorda il malto e la mandorla, unito al sentore di legno di olivo.

Art.8. Commercializzazione

Prima dell'immissione al consumo il prodotto finito sarà confezionato in termodetraibile microforato con etichetta riportante:

Ingredienti

Nome e indirizzo del produttore

Data di scadenza

Denominazione "Pane nero di Castelvetro"

In alternativa, con la sola apposizione sul prodotto finito di un bollino in materiale biologico riportante i dati sopra elencati e la dicitura "Pane nero di Castelvetro".

Art.9. Controlli

Autocontrollo igienico-sanitario previsto dai Reg. (UE) 852/853 del 2004.

Rintracciabilità secondo il Reg. (UE) 178/2002.

Per quanto riguarda la semola di timilia, il controllo sulla purezza del seme di tale varietà sarà effettuato (su richiesta e a campione) dalla Stazione Consorziale Sperimentale di Granicoltura per la Sicilia di Caltagirone.

I sottoscritti dichiarano di aver esaminato in ogni sua parte il regolamento del disciplinare e di condividere e accettare interamente il contenuto.

2.1.2. Il Russello

Crescini nella pubblicazione “Progressi conseguiti in Italia durante gli anni XV e XVII nella cerealicoltura fascista”(1939), riferisce che Russello , come Timilia, è il frutto di selezione attuata “in popolazioni locali di grani duri, ed incroci di forme locali-dure e tenere estere”.

Il Russello è stato secondo De Cillis (1942), una delle popolazioni maggiormente coltivate agli inizi de secolo scorso in Sicilia ed in modo particolare nelle provincie di Agrigento, Caltanissetta e Palermo. Nella zona iblea, invece, secondo l’Autore, molto diffuso era il Ruscia con il quale si confonde Russello. Tuttavia la popolazione è un caso rappresentativo dell’equilibrio che si può instaurare tra genotipo ed ambiente, caratterizzato soprattutto da terreni poco profondi.

Nella provincia di Ragusa, Russello trovava diffusione per le caratteristiche della semola che ancora oggi, viene largamente impiegata per la preparazione del tipico “pane di pasta dura ragusano”. Essendo una varietà a taglia alta era anche richiesta dagli agricoltori per l’impiego della paglia negli allevamenti zootecnici (Abbate *et al.*, 1997). Russello produce infatti abbondante paglia con ottime caratteristiche qualitative che risulta molto appetibile dal bestiame. Lombardo (1994) riporta che da un’indagine effettuata in provincia di Ragusa è emerso che con la denominazione Russello vengono indicate “varietà” che presentano caratteristiche morfologiche (rilevabili anche solo con una stima visiva) ed agronomiche differenti. Quanto affermato è stato appurato per mezzo di analisi specifiche che mettono in luce le differenze per contenuto proteico (12,2 e

11,4%), per l'indice di glutine (4 e 2,2%) ma soprattutto per le componenti gliadiniche. Solo i genotipi con banda gliadinica 45 e HMW 13+16 sono risultati riconducibili a Russello (Lombardo, 1994).

La cultivar di grano duro Russello è caratterizzata da un ciclo produttivo abbastanza precoce, dalla taglia alta e da una produzione che nelle zone dell'altopiano ibleo è sostanzialmente identica a quella delle altre cultivar utilizzate in zona. Il Russello è una varietà resistente alla siccità che si adatta ad essere coltivata nei terreni superficiali tipici dell'altopiano ibleo.

Tutt'oggi Russello è utilizzato per il confezionamento del tipico pane di pasta dura ragusano. In tal senso il C.R.A. - Istituto Sperimentale di Cerealicoltura - sez. di Catania ha eseguito studi e prove, sia sperimentali che artigianali di panificazione allo scopo di valutare l'adattabilità di semole rimacinate di differenti genotipi di grano duro. I risultati hanno evidenziato come la migliore qualità del pane a pasta dura sia stata ottenuta impiegando semole di Russello e Arcangelo da sole o in miscela ed altre linee. Ciò non è sempre dovuto al superiore contenuto di proteine, ma al basso assorbimento di acqua, modesto tempo di sviluppo dell'impasto, elevati valori di stabilità e bassi indici di caduta, basso indice di porosità, crosta più rugosa, colore della mollica con indice di giallo elevato.

Di seguito si riporta la caratterizzazione di autori diversi.

2.1.2.1. Il Russello ibleo

La varietà Russello nasce come frutto di un lavoro selettivo che da sempre, come ricordato già nel 1954 dal Prof. Conti (Abbate *et al.*, 1997), ha avuto come obiettivi produttività, resistenza a malattie ed ad avversità ambientali, adattabilità ai vari tipi di terreni. Russello S.G.7, che ha incontrato subito il favore degli agricoltori grazie alle sue ottime qualità, è stata la prima razza costituita (1933) da De Cillis (Stazione di Granicoltura, Catania) e iscritta al Registro Nazionale delle varietà elette.

Baldoni e Toderi (ENSE, 1959) affermano che la Sicilia era la regione di maggiore diffusione

Sinonimi (De Cillis, 1942): confuso qualche volta con Regina, con Sammartinanara, con Ruscia, con Dauno-Tangarò, Taganrog, Russulidda, Preziosa, Rossetta, Russia, Sammartinara rossa, Gigante rosso, Urrulia, Riga.

Caratteri morfologici

Giovani cespi eretti; foglie verde scuro, glabre, a margini scabri, guaine verdi per lo più rosee, glabre, auricole bianche con sfumature rosee, glabre.

Paglia gialla scura, rigida e tenace; ultimo internodo semipieno.

Spiga aristata, fusiforme sul profilo e oblunga sulla faccia; a sezione quadra; semidensa; rachide flessibile e fragile (De Cillis, 1942). Spighette triflore e quadriflore abbastanza serrate in numero di 24-26 (Prestianni, 1926).

Glume glabre, rosse giallastre con mucrone e margine esterno della carena più chiari, lunghe e di media larghezza; spalla irregolare, generalmente larga e quadra, a qualche volta più o meno stretta ed obliqua fino a divenire deficiente, generalmente senza dente; mucrone di media larghezza, dritto o arcuato, acuto o acuminato, lungo mm. 1,5 a 3.

Reste di media lunghezza, rosso giallastre.

Cariosside di colore ambra, lunga, più o meno gibbosa; embrione grande; pennello esteso e corto; solco di media larghezza o largo e di media profondità, a bordi più o meno arrotondati, struttura vitrea.

Caratteri biologici

Mediamente produttiva (12q ha^{-1} fino a 16 q ha^{-1}) in buoni terreni collinari (Prestianni, 1926); fioritura e maturazione a ciclo medio. Mediamente resistente all'allettamento; mediamente resistente alle ruggini, al mal del piede ed al carbone (De Cillis, 1942).

Ha una buona resistenza alla bianconatura, discreta resistenza al freddo (Baldoni e Toderi, ENSE, 1959) ed è resistente allo scirocco e alla siccità. L'accestimento è piuttosto scarso (Prestianni, 1926). Lo stesso autore sottolinea come si adatti bene ai terreni tenaci, anche secchi, ma che risulta migliore e più resistente all'allettamento in quelli freschi e profondi.

Caratteristiche della granella (De Cillis, 1942)

	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi
Peso ad Hl	22	75.9	73.8-79.2
Peso di 1000 semi	22	40	35.3-48

L'indice di sedimentazione in SDS, la cui componente genetica prevale sull'effetto ambientale, oscilla tra 20 e 35 ml (Doust *et al.*, 2009).

Caratteristiche della farina (De Cillis, 1942)

	Integrale			Abburattata al 60% circa			
	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi	
Dati sulla s.s. a 105°							
Ceneri %	22	2.2	1.8-2,6	5	1.3	1.1-1.5	
Cellulosa %	22	2.8	2.5-3.6	5	0.4	0.3-0.5	
Sostanza azotata (Nx6,25)	22	14.	12.2- 16.9	5	13.5	12.7- 13.9	
Resa media alla macinazione di tipo industriale in semole e semolini % 57.8							

Caratteristiche bioagronomiche e composti volatili di varietà di frumento duro
tradizionalmente coltivate in Sicilia

Caratteristiche degli impasti (De Cillis, 1942)

	Farina abburattata al 60% circa			Semola				
	Num. campioni esaminati	Di	Dato medio	Estremi	Num. campioni esaminati	Di	Dato medio	Estremi
Acqua assorbita % di macinato, misurata al Farinografo Brabender								
Per consistenza normale 450	5		63.9	60-65.8				
Per consistenza 500					3		52.3	51.5-52.8
All'estensimetro Chopin: (per le dette consistenze)								
Tenacità (P)	5		45.9	42.5-50.8	2		44.7	42-47.5
Indice di rigonfiamento (G)	5		17.5	16.3-18.5	2		17.5	17.5-17.5
Valore di panificazione (W)	5		92	73-104	2		88	78-98
Al farinografo Brabender:								
Resistenza dell'impasto alla consistenza 450 minuti	5		5'12''	4'-6'				
Perdita di consistenza dopo 15'd'impasto (caduta d'impasto)	5		58	50-80				
Prova di Pelshenke (su farina integrale) tempo medio di rottura minuti 40								

2.1.2.2. Disciplinare di produzione del Pane Ibleo

Il “Pane Ibleo” è pane di pasta dura modellata a mano dall’uomo. La modalità e le condizioni di produzione del “Pane Ibleo” devono essere quella tipiche della zona, nel pieno rispetto della tradizione, che conferiscono al prodotto caratteristiche assolutamente particolari, meritevoli del riconoscimento di una produzione tipica legata al territorio.

Ingredienti:

Farina di semola rimacinata di grani duri prodotti e trasformati dei Monti Iblei, acqua, lievito naturale (*cruscènti*), lievito di birra, sale.

Rapporto degli ingredienti:

Per la produzione del “Pane Ibleo” sono ammesse soltanto miscele di farina e di semola rimacinata nelle quali sia presente la varietà Russello

- Il rapporto acqua/farina è calcolata al 35-40% di acqua rispetto alla farina impiegata
- Il rapporto lievito naturale/farina corrispondente al 10% di farina impiegata
- Il rapporto sale/farina corrispondente all’1,2-1,5 di farina impiegata
- Il rapporto lievito di birra/farina corrisponde all’1-2% massimo di farina impiegata

L'impasto:

Per ottenere la cosiddetta pasta dura gli ingredienti vanno immessi nell'impastatrice a forcella per un tempo variabile da 15 a 20 minuti. Si ritiene al riguardo che l'impastatrice a forcella sia più idonea rispetto ad altri tipi, perché più vicina a riprodurre il processo di impasto effettuato attraverso la "scaniatura".

Raffinatura:

L'impasto così ottenuto viene successivamente passato, per la fase di raffinatura, nel cilindro automatico.

Formellatura:

Ultimata la fase di raffinatura, la pasta viene tagliata a strisce dall'altezza desiderata a seconda del formato del prodotto che si intende realizzare; quindi le strisce di pasta vengono spezzate a meno o mediante spezzatrice automatica per la fase di pesatura. Da qui il procedimento è realizzato in modo completamente manuale: mediante la forza delle mani i pezzi di pasta vengono lavorati fino a quando non assumono le forme desiderate: pane a "S", "rotondo", "cuddura" o "cùccia", "lunèdda", "pistulùni", "rugnuneddu". Le forme già definite vengono intaccate con le mani oppure con opportuni strumenti quali coltelli o spatole (fase del taglio), che consentono l'apertura del pane in fase di cottura. In alcune forme sono previste tagli di decoro nelle punte dei fianchi.

Pezzatura:

Le pezzature variano a cottura ultimata tra i 250 e i 1000 g.

Lievitazione:

Una volta effettuate le forme e tagliate, il pane viene posto su cassettoni di legno sovrapponibili aventi alla base un telo, quindi lasciato lievitare per una durata di circa 30-50 minuti.

Cottura:

Ultimata la fase di lievitazione, si procede all'infornamento in forni a platea di tipo meccanico o a calore diretto (forno a pietra) ad una temperatura tra i 220 ed i 250°C; in questa fase, nella tipologia meccanica, le valvole del camino devono rimanere aperte per consentire l'espulsione di vapore acqueo eventualmente presente nella camera

Caratteristiche:

Il pane "*ammazzafame naturale*" grazie al volume che occupa nello stomaco procura una sazietà che placa il desiderio di consumare altri alimenti.

Il "Pane Ibleo", all'atto dell'immissione al consumo, deve rispondere alle seguenti caratteristiche:

Crosta: di colore dorato, o dorato scuro, liscia. Croccante, di sapore biscottato

con la emblematica sgranatura in superficie a buccia d'arancia.

Mollica: colore giallo paglierino, caratteristico della semola con riferimento

all'odore del lievito (debolmente acido), morbida con porosità fine ed uniforme.

Sapore: corposo, appagante, poco acido, biscottato specie nelle forme più piccole.

Umidità: massima del 10-20%, a secondo delle pezzature.

Rapporto crosta/mollica: variabile a seconda delle forme.

Zona di produzione

I comuni della provincia di Ragusa e comuni limitrofi della provincia di Siracusa e Catania.

2.1.3. Bidì

Varietà costituita da Nazareno Strampelli a partire dalla selezione della cultivar nord africana Jean Retifah, Bidì è largamente diffusa in tutti gli ambienti adatti per la coltivazione di grani duri (Baltoni, Toderi, ENSE, 1959).

Sinonimi: Margherito, Senatore Cappelli, Mahmoudi (De Cillis, 1942).

Venne importato dal Prof. Tucci dall’Africa Settentrionale (Tunisia); altra importazione dello stesso grano ha fatto il Dr. Santagati, che lo chiamò Margherito dal fondo dove venne coltivato per la prima volta. Il Senatore Cappelli dello Strampelli, è una linea pura del Jean Rhetifa, ma si può dire identico a Bidì nei caratteri morfologici (Prestianni, 1926)

Caratteri morfologici (De Cillis, 1942)

Giovani cespi eretti; foglie verde scuro, glabre, a margini scabri; guaine verdi, glabre.

Auricole: auricole bianche, con sfumature rosee, glabre.

Paglia gialla scura, rigida e tenace; ultimo internodo pieno.

Spiga aristata, oblunga sulla faccia e fusiforme sul profilo; appiattita sui profili; densa; eretta a maturità; rachide rigida e piuttosto fragile.

Glume glabre, cremee con breve e stretta lineatura nera al margine esterno del mucrone, lunghe e larghe; spalla stretta e obliqua, dente assente o appena rilevato ma non sporgente; mucrone largo, dritto acuto, lungo circa 2mm.

Reste lunghe nere alla base e gialle all’apice.

Cariosside ambra, lunga, a profilo normale; embrione di media grandezza; pennello esteso di media lunghezza; solco di media larghezza e profondità, a bordi lievemente angolosi o arrotondati; struttura vitrea. Peso 83-84 kg hl⁻¹ (Prestianni, 1926).

Caratteri biologici

Molto produttiva (15-20 q ha⁻¹) (Prestianni, 1926); fioritura e maturazione a ciclo medio. Resistente all'allettamento o alla stretta; mediamente resistente alle ruggini; suscettibile al mal del piede; resistente al carbone (De Cillis, 1942).

Baldoni e Toderi (ENSE, 1951) riferiscono che la varietà presenta scarso accestimento, mediocre resistenza all'allettamento; ottima resistenza alla bianconatura delle cariossidi; buon grado di adattamento alle avversità pedoclimatiche: predilige terreni profondi e ben concimati (Prestianni, 1926).

Caratteristiche della granella (De Cillis, 1942)

	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi
Peso ad Hl	18	82.4	79.9-84.2
Peso di 1000 semi	18	49.0	46.6-50.2

Recenti ricerche hanno evidenziato che il contenuto proteico è generalmente piuttosto elevato attestandosi su un valore di 12,0% e l'indice di sedimentazione espresso in SDS oscilla tra 25 e 45 ml (Doust *et al.*, 2009).

Caratteristiche della farina (De Cillis, 1942)

	Integrale			Abburattata al 60% circa		
	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi
Dati sulla s.s. a 105°						
Ceneri %	18	1.9	1.7-2.2	5	1.1	1.0-1.2
Cellulosa %	16	2.5	2.0-3.2	5	0.6	0.5-0.4
Sostanza azotata (Nx6,25)	18	13.5	11.2- 14.5	2	12.1	11.2- 12.4
Resa media alla macinazione di tipo industriale in semole e semolini % 60.6						

Caratteristiche bioagronomiche e composti volatili di varietà di frumento duro
tradizionalmente coltivate in Sicilia

Caratteristiche degli impasti (De Cillis, 1942)

	Farina abburattata al 60% circa			Semola		
	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi	Num. Di campioni esaminati	Dato medio	Estremi
Acqua assorbita % di macinato, misurata al Farinografo Brabender						
Per consistenza normale 450	5	70	68.2-71.8			
Per consistenza 500				2	56	55-56
All'estensimetro Chopin: (per le dette consistenze)						
Tenacità (P)	5	43	41-55	2	50	49.5-50.5
Indice di rigonfiamento (G)	5	18.3	17-19	2	18.2	18-18.2
Valore di panificazione (W)	5	86	72-97	2	113	109-118
Al farinografo Brabender:						
Resistenza dell'impasto alla consistenza 450 minuti	5	1'34''	1'-30''-1'50''			
Perdita di consistenza dopo 15'd'impasto (caduta d'impasto)	5	56	40-70			

Prova di Pelshenke (su farina integrale) tempo medio di rottura minuti 30

2.1.4. Trinakria

Frutto dell'incrocio tra B14 e Capeiti8, fu costituita presso l'Istituto di Agronomia generale e Coltivazioni erbacee dell'Università di Palermo.

Caratteri morfologici (Ballatore, 1970)

Giovani cespi eretti.

Foglia a portamento semieretto; colore verde scuro; margine, pagina superiore ed inferiore glabri.

Culmo: flessibile e tenace; ultimo internodo pieno; di colore verde scuro alla fioritura e giallo chiaro a maturazione. Altezza della vegetazione cm 105.

Spiga: fusiforme, aristata, compatta, di colore giallo chiaro, sezione leggermente appiattita sui profili; portamento eretto; lunghezza cm 4,8-5,3. Fertilità elevata.

Spighetta: glumelle aperte a maturazione piena. Gluma di colore giallo chiaro con una leggerissima sfumatura più intensa verso la base; lineature poco percettibili; lunghezza, medio-corta; larghezza, media; mucrone, medio; carena dritta e seghettata; spalla stretta ed obliqua.

Rachide: elastica, tenace, con pelosità sulle tre sezioni.

Reste: lunghe e persistenti, dello stesso colore della spiga alla base e all'apice.

Cariossidi: colore ambra-chiaro; forma ellittica; profilo normale; lunghezza e larghezza medie, solco profondo con margini arrotondati ai bordi; struttura vitrea; scutello piccolo; pennello medio.

Peso 1000 cariossidi: g 44-48. Peso ettolitrico: kg 81-82

Caratteri biologici

Alternatività: autunnale. Accestimento: medio. Spigatura: precoce e uniforme.

Maturazione: precoce e uniforme.

Resistenza alle avversità

Pedoclimatiche: resistenza al freddo: media. Resistenza alla siccità: elevata.

Resistenza alla bianconatura: molto elevata. Resistenza alla stretta: buona.

Parassitarie: resistenza alle ruggini: elevata. Resistenza al carbone: elevata.

Resistenza all'oidio: elevata. Resistenza al mal del piede: media.

Caratteristiche tecnologiche

Cariosside intera: Ceneri 1,9-2,10% S.S. Proteine: 14,64-15,66%.

Semola: ceneri 0,77-1,00%. Proteine: 13,58-14,32% S.S. Glutine umido: 38,95-44,58% S.S. Glutine secco: 12,96-14,20% S.S. Test di qualità al farinografo IRVINE: buono.

Pasta: colore giallo-ambra. Imbibimento acqua dopo cottura: g 31. Perdita di sostanza secca dopo cottura: <10%.

Attitudine complessiva alla pastificazione: soddisfacente, paragonabile o a volte superiore a quella delle cultivar di grano duro più note.

Valore agronomico ed industriale

Nelle prove geografiche pluriennali la cultivar Trinakria ha manifestato una elevata adattabilità alle diverse condizioni pedoclimatiche che si possono riscontrare nelle tipiche zone cerealicole di collina e di pianura. Possiede elevate capacità produttiva e competitiva con quelle delle migliori cultivar attualmente diffuse in coltivazione. A questi pregi si aggiungono quelli dell'alto contenuto proteico e delle qualità pastificatorie discrete o buone.

2.1.5. Sicilia

Grano autunnale, derivato dall'incrocio artificiale Russello X Aziziah. Ha cespi eretti; foglie, guaine e spiga di colore verde-azzurro pubescenti, vorrei dire pruinosi. Ultimo internodo lungo e vuoto. In condizioni di buona fertilità la piantina può anche superare l'altezza di 1,50 m.

La spiga, lungamente aristata, è oblunga sulla faccia e fusiforme sul profilo. È semidensa a sezione quadrata. Porta spesso fino a 27-29 spighe. Non di rado, le spighe della parte centrale presentano fino a 5 fiori fertili. A maturazione la spiga è bianca e reclinata. Glume con mucrone dritto, acuminato, piuttosto lungo. Cariosside di colore biondo, di media lunghezza, più o meno gibbosa, a struttura vitrea. La panificazione casalinga ne ha trovato la farina di qualità ottima.

Di buona precocità, matura una settimana prima del Russello e del Senatore Cappelli. Accestimento scarso.

Capacità produttiva potenziale ottima. Richiede terreni un po' profondi, ben lavorati e ben fertilizzati. In terreni superficiali è danneggiato dalla siccità prolungata. Resiste bene all'allettamento. Si è discretamente diffuso in provincia di Ragusa e fu sostituito da Realfonte grazie alla sua buona resistenza alla siccità. Resistente alla stretta e alla ruggine.

3. CARATTERI LEGATI ALLA QUALITA'

3.1. L'amido

“Amido” è un termine che deriva dal greco ἄμυλον, che significa "non macinato".

È un polimero dell'α-(D)-glucosio e rappresenta la riserva energetica delle piante fotosintetiche. Si trova nell'endosperma amilifero della cariosside sotto forma di granuli insolubili e semicristallini, concentrato soprattutto nei semi e nei tuberi.

(Cappelli e Vannucchi, 2011) L'amido dei cereali è la parte fondamentale dell'endosperma, non solo perché rappresenta il 65-73% della massa secca della farina, ma anche perché presenta proprietà uniche che non sono replicabili utilizzando amido proveniente da patate, mais e manioca (Park *et al.*, 2009)

Nell'endosperma amilifero (conosciuto anche come mandorla farinosa o albume) oltre ai granuli di amido, si trovano anche proteine di riserva, che costituiscono una sorta di cemento attorno ai granuli; prima della maturazione sono disposte all'interno di globuli sferici detti corpi proteici, la cui membrana viene distrutta quando la cariosside è matura (Cappelli e Vannucchi. 2011).

L'amido contribuisce per il 50-70% del livello energetico, garantendo un apporto diretto di glucosio, substrato essenziale per le cellule nervose e per i globuli rossi. Infatti, la disponibilità di una fonte sicura di amido è considerata un importante fattore per lo sviluppo delle popolazioni (Perry *et al.*, 2007), nonostante l'assunzione eccessiva sia correlata all'insorgenza di malattie a carattere glicemico.

L'amido è costituito da due polimeri del glucosio: l'amilosio e l'amilopectina.

L'amilosio è una catena relativamente lunga e lineare o scarsamente ramificata (legami α -1,6 <1%), contenente circa il 99% di legami α -1,4. Ha un peso molecolare approssimativamente di $1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ g/mol (Mua and Jackson, 1997; Buléon *et al.*, 1998a; Biliaderis, 1998), un grado di polimerizzazione di 324-4920 con 9-20 punti di ramificazione equivalenti a 3-11 catene per molecola (Takeda *et al.*, 1987; Morrison e Karkalas, 1990; Hizukuri, 1993; Wang e White, 1994; Mua e Jackson, 1997; Yoshimoto *et al.*, 2000; Yashushi, *et al.*, 2002;).

L'amilopectina invece è una catena ampiamente ramificata con un peso molecolare di $1 \times 10^7 - 1 \times 10^9$ g/mol (Morrison e Karkalas, 1990; Mua e Jackson, 1997; Biliaderis, 1998; Bule'on *et al.*, 1998a;)

Ha una struttura ramificata formata per il 95% da legami α -1,4 e per il 5% da legami α -1,6. La percentuale di legami α -1,6 conferisce alla molecola un alto grado di ramificazione e una complessa architettura molecolare che può variare sostanzialmente tra amidi differenti in relazione alla collocazione e alla lunghezza delle catene. Il grado di polimerizzazione della molecola è tipicamente compreso tra 9600-15900.

Molti amidi contengono una percentuale di amilopectina compresa tra il 60 e il 90%, mentre gli amidi ad alto contenuto di amilosio ne contengono circa il 30%, infine gli amidi waxy sono costituiti dal quasi 100% di amilopectina.

In generale il peso molecolare, la forma, la struttura sia dell'amilosio che dell'amilopectina variano con l'origine botanica. Contrariamente all'amilosio, esiste una grande differenza nella lunghezza delle singole catene e negli schemi

di ramificazione dell'amilopectina: le sue catene sono tipicamente lunghe 18-25 unità in media (Hizukuri, 1985, 1986, 1988, 1993; Morrison e Karkalas, 1990; Wang e White, 1994; Mua e Jackson, 1997; Takeda *et al.*, 2003).

L'origine botanica influenza il rapporto tra amilosio e amilopectina (Tester *et al.*, 2002) giocando un ruolo determinante nell'estrinsecazione delle proprietà funzionali dell'amido durante i processi di lavorazione industriale e di successiva conservazione degli alimenti. Riveste, inoltre, un interesse nutrizionale in quanto l'amilopectina risulta essere più digeribile rispetto all'amilosio e per la maggior tendenza di quest'ultimo a trasformarsi in amido resistente durante la digestione

3.1.1. I granuli di amido

L'endosperma amilaceo nel frumento rappresenta la maggior parte della massa cellulare dell'endosperma e consiste di circa 60000 cellule (Chojecki *et al.*, 1986).

Lo sviluppo dell'endosperma è generalmente diviso in cinque fasi (Simmonds e O'Brien, 1981). La fase I (0 DPA, day post anthesis) è la fase di fertilizzazione. La fase II (1-5 DPA) è la fase di crescita, in cui il nucleo iniziale dell'endosperma si divide ripetutamente formando endosperma cenocitico. La fase III (6-13 DPA) è la fase di accrescimento delle cariossidi; la fase IV (14-24 DPA) è la fase di massimo accrescimento delle cariossidi, in cui la sintesi dell'amido e delle proteine nell'endosperma avviene rapidamente (Bechtel *et al.*, 1990). Infine la fase V è la fase di essiccazione. I cambiamenti morfologici e biochimici che avvengono nell'endosperma amilifero durante lo sviluppo delle cariossidi di frumento costituiscono i fattori che influenzano la qualità del prodotto finale.

Nell'endosperma i granuli di amido sono prodotti individualmente in amiloplasti separati. I granuli di forma e dimensioni differenti si sviluppano nell'endosperma durante periodi diversi della maturazione delle cariossidi, e sono stati divisi in classi diverse. Tutti gli studi effettuati confermano che nel periodo iniziale dello sviluppo delle cariossidi, la prima popolazione di granuli (di tipo A >15 µm) emerge a 4-7 giorni dopo l'antesi (DPA) (Bechtel e Wilson, 2003). Questi sono inizialmente granuli sferici di diametro 0,5-1,0 µm che crescono radialmente fino a 2-4 µm. Come affermato da Evers (1971), un'incisione equatoriale che circonda i granuli si forma dopo che i granuli hanno raggiunto una specifica dimensione.

La deposizione di molecole di glucani avviene oltre questa incisione equatoriale, e conferisce ai granuli la loro forma lenticolare caratteristica. Una seconda popolazione di piccoli granuli (tipo B, 5-15 μm) inizia a formarsi a 12-14 giorni dopo l'antesi, si sviluppa nelle protrusioni degli amiloplasti e rimane sferica durante lo sviluppo (Bechtel e Wilson, 2003). Alcuni autori suggeriscono la presenza di una terza popolazione di granuli sferici ancora più piccoli (i granuli di tipo C , <5 μm) a 21 giorni dopo l'antesi (Raeker *et al.*, 1998).

Altri autori riportano valori relativi alle dimensioni dei granuli che si discordano leggermente da quelli sopra citati, tuttavia non in disaccordo; Raeker *et al.*, nel 1998, pubblica i seguenti dati: granuli grandi di tipo A maggiori di 10 μm e quelli più piccoli di tipo B $\leq 10 \mu\text{m}$. Riguardo ai granuli di tipo C, invece, i dati sono perfettamente identici, e compresi nel range tra 1,7 e 2,3 μm .

Sebbene i granuli di amido varino per forma e dimensione, essi hanno tutti una caratteristica comune: al microscopio ed irradiati con luce polarizzata, i granuli di amido colorati con lo iodio mostrano una caratteristica "croce di Malta", che indica l'esistenza di un generale ordine interno (fig. 3.1).

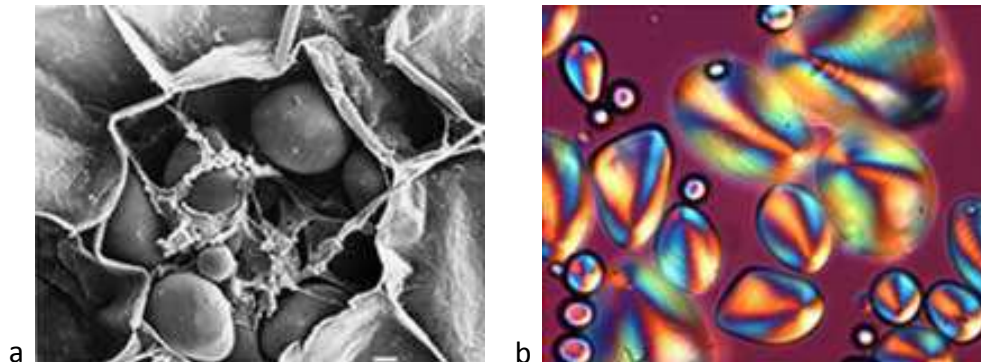


Figura 3.1. Granuli di amido

a) Granulo di amido crudo osservato mediante microscopia elettronica a scansione b) Il medesimo granulo alla luce polarizzata

Fonte: www.scienceinschool.org

Quando i granuli vengono scaldati in acqua, per esempio durante la cottura, la croce di polarizzazione comincia a scomparire, dimostrando che questo ordine molecolare si sta spezzando (www.scienceinschool.org).

L'osservazione al microscopio elettronico consente di identificare la struttura gerarchica tipica dei granuli di amido. Gli strati concentrici dei cosiddetti anelli di accrescimento di diametro via via maggiore si estendono dall'ilo (centro di accrescimento) sino alla superficie del granulo. Gli anelli sono tipicamente spessi 120-140 nm e rappresentano la fluttuazione diurna nella deposizione dell'amido nei tessuti di riserva (Gallant *et al.*, 1997; Ridout e Gunning, 2002; Copeland *et al.*, 2009). Gli anelli di accrescimento concentrici, alternativamente, contengono regioni cristalline e amorfe di densità rispettivamente maggiore e minore. Le regioni ad alta densità hanno una struttura lamellare di strati cristallini e amorfi, come rappresentato in figura 3.2.

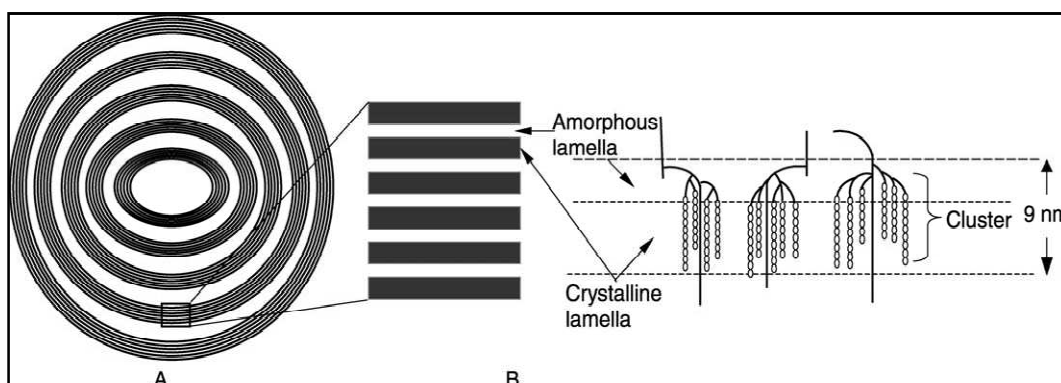


Figura 3.2. Struttura lamellare dei granuli di amido.

(A) Lamelle cristalline separate da strati amorfi. (B) ingrandimento delle regioni amorfe e cristalline. (C) strutture a doppia elica formate da catene adiacenti di amilopectina producono le lamelle cristalline. I punti di ramificazione costituiscono le regioni amorfe.

Fonte: J. Cereal Sci. 39 (2004) 151–165.

In queste lamelle, gli strati cristallini sono formati principalmente da catene di amilopectina impacchettate in un reticolo cristallino, mentre gli strati amorfi contengono i punti di ramificazione dell'amilopectina. Le lamelle rilevate con la ricerca mediante diffrazione ai raggi X sono composte dai clusters (o grappoli) di doppie eliche già evidenziati con gli studi biochimici. L'amilosio è localizzato negli strati a bassa densità, tuttavia alcune molecole sono disperse tra l'amilopectina degli strati cristallini, distruggendo i cristalli di amilopectina (Copeland *et al.*, 2009).

Un altro studio, che utilizza la microscopia a interazione atomica per osservare la superficie del granulo di amido, ha mostrato la presenza di blocchetti all'interno degli anelli di crescita (Gallant *et al.*, 1997). Questi blocchetti sono più o meno sferici ed hanno dimensioni di 20 – 100 nm. La figura 3.3 riassume i diversi livelli

strutturali (unità di glucosio, eliche, lamelle, supereliche, blocchetti ed anelli di accrescimento), dal livello molecolare (10^{-9} m) a quello microscopico (10^{-5} m).

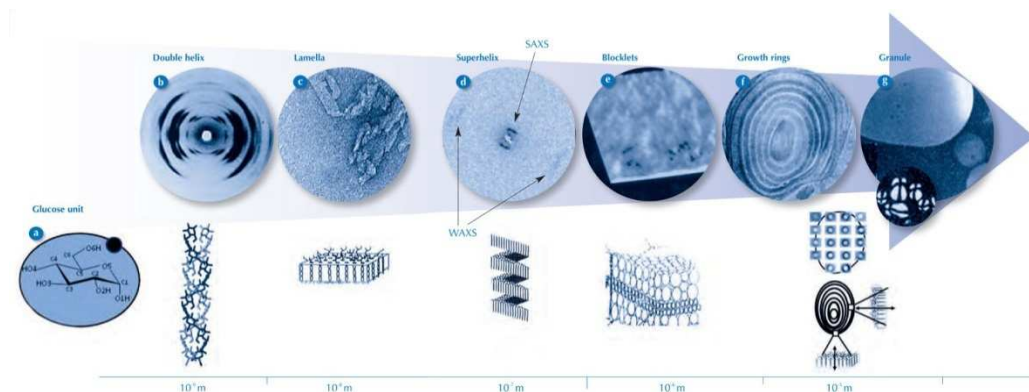


Figura 3.3 I livelli di organizzazione dell'amido

a) Unità di glucosio. b) Doppia elica. Sopra: Figura di diffrazione ai raggi X della fibra che evidenzia una struttura a doppia elica. Sotto: modello della struttura a doppia elica.
c) Lamella. Sopra: Immagine al microscopio elettronico a trasmissione dell'amido idrolizzato, che mostra la forma della lamella cristallina. Sotto: modello di una lamella cristallina costituita da circa 100 doppie eliche.
d) Superelica. Sopra: Immagini di diffrazione ai raggi X di scattering ad angolo piccolo (SAXS) e di scattering ad angolo ampio (WAXS) che indicano la presenza di una struttura a superelica. Sotto: il modello a superelica, con un passo di 9 nm e un diametro di 18 nm.
e) Blocchetti. Sopra: immagine di microscopia a interazione atomica della caratteristica superficie di un granulo di amido. Le protuberanze che si vedono sulla superficie indicano la presenza di blocchetti. Sotto: modello di blocchetto. Si ritiene che i blocchetti siano più piccoli nelle zone amorphe (zona centrale) che in quelle semi-cristalline (sovrastanti e sottostanti).
f) Anelli di accrescimento. Immagine al microscopio elettronico a trasmissione di una sezione ultrasottile di un granulo di amido idrolizzato, che mostra gli anelli di accrescimento come strati alternati di regioni amorphe e semicristalline.
g) Granulo. Sopra: granulo di amido osservato al microscopio a scansione elettronica (figura grande) e il granulo corrispondente alla luce polarizzata (riquadro). Centro: set di schemi di diffrazione ai raggi X micro focalizzati registrati su di un granulo di amido che mostrano la distribuzione e l'orientamento dei campi cristallini in un granulo d'amido. Ogni modello di diffrazione corrisponde ad un'area di circa $3 \mu\text{m}^2$ del campione, e distanze di $7 \mu\text{m}$ separano due schemi. Sotto: sezione di un granulo di amido che mostra l'orientamento radiale dei domini cristallini (lamelle).

Fonte: www.scienceinschool.org

Dal punto di vista morfologico, i granuli di amido di tutte le varietà mostrano caratteristiche tipiche: granuli grandi lenticolari, e granuli piccoli sferici. Tuttavia, la superficie dei granuli di amido provenienti da cultivar di grano duro sembrano presentare più depressioni rispetto a cultivar di tenero e tipi waxy, come mostrato di seguito (figura 3.4) (Brites *et al.*, 2008).

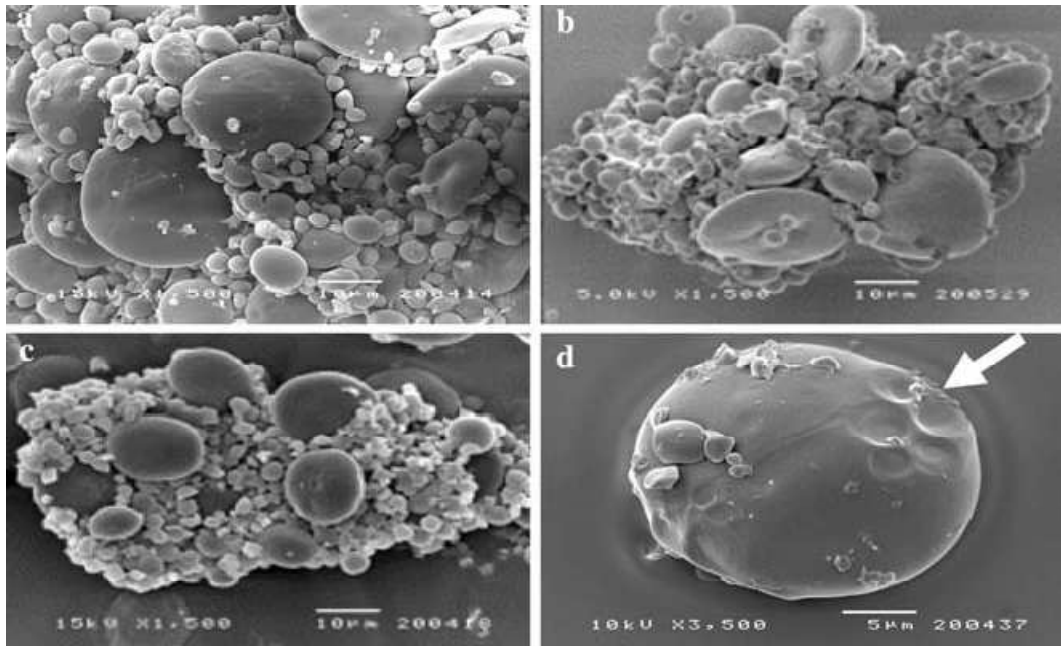


Figura 3.4. Granuli di amido di diverse varietà di frumento ottenuta tramite SEM.

a) Frumento duro Trapio; b) frumento tenero Centauro; c) frumento waxy a 1,500x di amplificazione; d) frumento duro Trapio a 3,500x di amplificazione. La freccia indica le depressioni nel granulo di amido.

Fonte: EurFood Res Technol (2008) 226:1205–1212

Il granulo di amido è una struttura molto complessa, in relazione alla composizione (alfa glucani, lipidi, proteine e residui fosforilati) e alla struttura dei singoli componenti. Un ulteriore livello di complessità riflette il modo in cui elementi cristallini e amorfi sono associati. Infatti, mentre è nota la struttura a livello di nanoscala (doppie eliche che formano lamelle) e degli anelli di accrescimento (che alternano strati amorfi e semicristallini) l'evidenza per la struttura intermedia (le supereliche e i blocchetti) è meno concreta. Inoltre, non è ancora chiaro come le supereliche, i blocchetti e gli anelli di accrescimento siano in relazione gli uni con gli altri.

L'amido dei cereali contiene lipidi integrali sotto forma di lipofosfolipidi (LPL) e acidi grassi liberi (FFA) che sono positivamente correlati con la frazione di amilosio. I granuli di amido tuttavia possono essere contaminati da lipidi di superficie come trigliceridi, glicolipidi, fosfolipidi, e acidi grassi liberi derivanti dalla membrana degli amiloplasti e da fonti non amilacee. (Morrison, 1985, 1988, 1995). Questi differiscono dai lipidi strutturali che sono composti esclusivamente da FFAs e LPL (Morrison, 1985, 1988, 1993,1995; Morrison e Karkalas, 1990).

Gli amidi delle Triticeae contengono quasi esclusivamente LPLs, mentre gli amidi degli altri cereali sono ricchi in FFAs. Parte della frazione di amilosio che contiene i lipidi esiste come un complesso di amilosio in cui gli acidi grassi occupano la parte idrofobica localizzata dentro la singola elica di amilosio.

Nei cereali la quantità di amilosio complessato con i lipidi va da meno del 15% a più del 55% rispetto al contenuto totale di amilosio (Morrison, 1993, 1995). Tuttavia è riportato che non tutti i lipidi nell'amido possono essere complessati con l'amilosio (Kiseleva *et al.*, 2003).

Per quanto riguarda il contenuto proteico, l'amido purificato contiene meno dello 0,6% di proteine che indipendentemente dall'origine sono incorporate nella matrice dei granuli. Proteine e lipidi sono capaci di moderare la funzionalità dell'amido (Appelqvist e Debet, 1997). Nella farina, le proteine di superficie sono state oggetto di particolare attenzione in quanto associate alla durezza delle cariossidi (Greenwell e Schofield, 1986; Schofield, 1994; Oda e Schofield, 1997; Baldwin, 2001; Morris, 2002).

Le proteine strutturali hanno un maggiore peso molecolare delle proteine di superficie (50-150 e 15-30 KDa rispettivamente) e includono residui di enzimi coinvolti nella sintesi dell'amido (Baldwin, 2001).

Gli amidi contengono anche piccole quantità di minerali (<0,4%) come calcio, magnesio, fosforo, potassio e sodio che, ad eccezione del fosforo, sono di ridotta importanza funzionale. Nell'amido dei cereali il contenuto di fosforo è molto vicino a quello del LPL e c'è una quantità relativamente piccola di fosfato monoestere, legato a regioni specifiche nelle molecole di amilopectina. (Kasemsuwan e Jane, 1996; Blennow *et al.*, 1998, 2000 a, b, 2003;).

3.1.2. Proprietà funzionali dell'amido

Gli alimenti sono in genere sistemi multi-fase che contengono miscele complesse di acqua, polisaccaridi, proteine, lipidi e numerosi composti minori. L'amido è il macro-costituente in molti alimenti e le sue proprietà e interazioni con altre sostanze, in particolare acqua e lipidi, sono di interesse per l'industria alimentare e per la nutrizione umana.

La forma e la funzionalità dell'amido variano in rapporto al genotipo e all'ambiente. Tale variabilità potrebbe determinare l'insorgere di problemi durante la lavorazione per effetto delle caratteristiche diverse delle materie prime. Di conseguenza si ricorre all'utilizzo di amidi chimicamente modificati per sopperire alla mancanza di versatilità nelle varie condizioni di processo.

Molte delle proprietà funzionali dell'amido dipendono dalla temperatura dell'acqua durante i processi di trasformazione. In tal senso giocano un ruolo determinante la composizione chimico-fisica dell'amido, il rapporto amilosio-amilopectina, il complesso amilosio-lipidi e il grado di polimerizzazione dell'amilopectina (Tester *et al.*, 1990; Lindeboom *et al.*, 2004).

Anche i trattamenti fisici ai cui sono sottoposte le cariossidi durante i processi di macinazione interferiscono con la funzionalità dell'amido, in quanto ne modificano la struttura molecolare (Leon *et al.*, 2006).

Alcuni autori mettono in luce le differenze riscontrate durante il processo di gelatinizzazione dell'amido, in rapporto alle diverse classi di granuli presenti (Peng *et al.*, 1999; Vermeylen *et al.*, 2005) con riferimento alla grandezza (da 1 a 100 μm di diametro) ed alla forma (poligonale, sferica, lenticolare) del granulo.

La maggior parte dell'amido consumato è sottoposto a diversi processi, che usualmente coinvolgono il riscaldamento umido e poi il raffreddamento. Durante il trattamento termico i granuli di amido vengono gelatinizzati, perdendo così la loro cristallinità e l'organizzazione strutturale. Durante il raffreddamento, le molecole di amido si disaggregano, formano prima un gel e poi retrogradano gradualmente in strutture semicristalline la cui forma differisce rispetto a quella dei granuli nativi. Gli alimenti ricchi di amido, cotti e successivamente raffreddati spesso contengono quantità sostanziali di amido retrogradato. La gelatinizzazione avviene quando l'amido nativo è riscaldato in presenza di sufficiente umidità. I granuli assorbono acqua e si gonfiano, così l'organizzazione

cristallina viene irreversibilmente distrutta. Jenkins e Donald (1998) hanno accertato che durante la cottura della pasta l'acqua entra negli anelli di accrescimento determinando la trasmissione di uno stress distruttivo attraverso le molecole di connessione dalle regioni amorfe a quelle cristalline. Le molecole di amilosio iniziano ad allontanarsi (percolare) dai granuli quando sono distrutti dal taglio e la viscosità della pasta aumenta al massimo; questa condizione corrisponde al punto in cui il numero dei granuli di amido gonfi, ma ancora intatti, è al massimo. Segue un decremento della viscosità della pasta, quando i granuli si rompono e le molecole di amido sono disperse nella fase acquosa. La velocità e l'entità del rigonfiamento e della rottura dei granuli dipende dal tipo e dalla quantità di amido, dal gradiente termico, dalla forza del taglio, dalla composizione della miscela (ad esempio dalla presenza di lipidi e proteine) (Debet e Gidley, 2007). La temperatura di gelatinizzazione dell'amido è compresa tra i 60 e gli 80°C. Generalmente, c'è una correlazione negativa tra il contenuto di amilosio, la temperatura di gelatinizzazione e il picco di viscosità.

Quando la salda d'amido si raffredda, la viscosità aumenta a causa della formazione di un gel costituito da legami intermolecolari tra l'amilosio e l'amilopectina.

Successivamente, il gel retrograda e forma cristalli insolubili di tipo-B dovuti all'associazione di catene lineari di α -1,4 legate a unità di glucosio (Gidley, 1989).

La retrogradazione è un processo continuo che si verifica nell'amilosio da minuti a ore e nell'amilopectina da ore a giorni, a seconda dell'abilità delle catene di associarsi.

Questa trasformazione può essere considerata il processo inverso della gelatinizzazione e consiste nella tendenza dell'amido a riassumere la sua struttura iniziale, perdendo quindi la capacità di legarsi all'acqua. In realtà l'amido non ritorna mai alla struttura e all'organizzazione originaria, ma rimane a uno stadio intermedio. Si forma una struttura rigida dovuta all'avvicinamento delle catene di amilosio; infatti la quantità di amido retrogradato è direttamente proporzionale al contenuto in amilosio. (Cappelli e Vannucchi, 2009).

La retrogradazione dell'amilosio negli alimenti trasformati è considerata di fondamentale importanza per le proprietà di collosità, capacità di assorbire acqua, digeribilità della pasta, mentre la retrogradazione dell'amilopectina è probabilmente più importante nel rafforzamento del pane e dei prodotti da forno.

Il processo di gelatinizzazione e i profili delle miscele farina-acqua e amido-acqua sono comunemente monitorati usando il Rapid Visco Analyser (RVA), un viscosimetro che simula la trasformazione degli alimenti ed è utilizzato per relazionare le proprietà funzionali a quelle strutturali.

Le analisi viscometriche sono utilizzate per mettere in luce differenze nelle proprietà funzionali tra amidi e farine di diverse varietà (Dang e Copeland, 2004).

I complessi tra l'amilosio e i lipidi, come acidi grassi, lisofosfolipidi e monoacilgliceroli, possono significativamente modificare la proprietà e la funzionalità dell'amido sia dal punto di vista industriale che nutritivo. Per esempio, la complessazione con i lipidi riduce la solubilità dell'amido in acqua, altera le proprietà reologiche, aumenta la temperatura di gelatinizzazione, riduce la rigidità del gel, ritarda la retrogradazione e riduce la suscettibilità all'idrolisi enzimatica (Copeland *et al.*, 2009).

Questi complessi sono stati a lungo utilizzati in numerose applicazioni dell'industria alimentare, per ridurre la durezza degli alimenti amilacei, per migliorare la stabilità durante la fase congelamento-scongelamento, per ritardare il rafferimento del pane, e per ammorbidire la mollica del pane stesso.

La complessazione dell'amido con i lipidi endogeni o aggiunti può avvenire durante la gelatinizzazione o quando l'amido e i lipidi sono riscaldati insieme nel RVA.

Una proprietà funzionale dell'amido di particolare interesse per la nutrizione è la sua suscettibilità alla digestione. L'amido che non è digerito rapidamente dagli enzimi digestivi è stato associato a effetti benefici sulla salute dovuti a un lento rilascio del glucosio nel sangue, con conseguente riduzione della glicemia post-prandiale e della produzione di insulina. Il termine "amido resistente" è usato per descrivere l'amido non completamente digerito.

3.2. La fibra alimentare: i β -glucani

Col trascorrere degli anni e con l'avvento della civilizzazione, l'uso di alimenti non raffinati ricchi di fibra è stato sempre più trascurato: il pane nero è considerato un retaggio di povertà mentre a simbolo di ricchezza e della moderna panificazione sono stati assunti rispettivamente il pane bianco e l'anonima baguette.

Negli ultimi decenni la fibra alimentare ha conquistato una notevole rilevanza nella nutrizione e nella dietoterapia di diverse patologie.

Il termine di fibra alimentare fu usato per la prima volta da Hipsely (1953) per descrivere la parete di cellule vegetali utilizzata nelle diete, che egli riteneva essere protettiva contro alcune patologie tipiche del periodo della gravidanza. Successivamente Trowel (1974) definì la fibra come una parte di alimento, derivata dalla parete di cellule vegetali, che è digerita in minima misura nell'intestino tenue. Nel 2001 la AACC, definì la fibra come *“porzione edibile delle piante, o analoghi carboidrati, che è resistente alla digestione e all'assorbimento nell'intestino tenue con completa o parziale fermentazione nell'intestino crasso”*.

La fibra alimentare include polissaccaridi, oligosaccaridi, lignina e sostanze vegetali associate. Le fibre alimentari promuovono effetti fisiologici benefici riferibili alle loro proprietà lassative e/o alla riconosciuta capacità di modulare il livello di colesterolo e di glucosio ematico.

Per l'uomo non ha alcun valore energetico in quanto, non essendo digerita dagli enzimi propri dell'apparato gastrointestinale, giunge integra nell'intestino.

Nonostante ciò, la fibra alimentare esercita effetti di tipo funzionale inclusa la prevenzione di malattie cardiovascolari (Wolk *et al.*, 1999) e di tipo metabolico che la rendono un'importante componente della dieta, prescindendo dal suo nullo apporto energetico. Poiché alle fibre appartengono classi di polisaccaridi con proprietà chimico-fisiche differenti, è conveniente doverne effettuare una classificazione. Tale classificazione prende in esame la loro diversa solubilità in acqua, e dunque è possibile distinguere fibre solubili da fibre insolubili.

Tra le prime sono inclusi i pentosani solubili, le pectine, i glucomannani, i betaglucani, gli oligosaccaridi, l'inulina ed i fruttoligosaccaridi (FOS).

Alle seconde appartengono le lignine, la cellulosa, l'emicellulosa ed i pentosani.

Le fibre insolubili sono presenti principalmente nella crusca di cereali. Sono caratterizzate soprattutto dalla loro elevata capacità di assorbire acqua. L'assunzione di questa fibra determina un aumento della massa fecale, un accelerato transito intestinale, e la riduzione del tempo di contatto tra la mucosa intestinale e le sostanze potenzialmente dannose. E' particolarmente indicata nella regolazione delle funzioni gastrointestinali, quali stipsi e diverticolosi intestinale.

Le fibre solubili sono contenute principalmente nella frutta, in alcuni legumi, nelle verdure ed in alcuni cereali (avena, orzo e segale). Hanno la proprietà di formare gel e di essere altamente fermentabili dalla microflora intestinale; determinano rallentamento dello svuotamento gastrico, aumento del senso di sazietà, rallentamento del transito e della peristalsi intestinale, rapida

eliminazione degli acidi biliari e riduzione dell'assorbimento e della produzione di colesterolo (Fulgoni, 2001).

Le suddette proprietà rendono gli alimenti, specialmente quelli più ricchi nella frazione solubile della fibra, prodotti funzionali. Il concetto di alimento funzionale che ebbe origine in Giappone, identifica alimenti arricchiti con sostanze specifiche benefiche per la salute.

I β -glucani dei cereali sono considerati come polisaccaridi lineari non ramificati costituiti da monomeri di β -D-glucopiranosio tenuti assieme da legami β (1-3)(1-4) glicosidici in misura rispettivamente del 30% e 40% (Anker-Nilssen *et al.*, 2008). I legami (1-3) contribuiscono alla flessibilità, solubilità e viscosità della molecola (Lazaridou e Biliaderis, 2007, Redaelli *et al.*, 2013). La loro presenza determina la formazione di pieghe nella catena lineare polimerica, permettendo all'acqua di entrare tra le catene e determinare quindi la solubilità delle molecole.

I β -glucani, ampiamente diffusi in natura; sono localizzati nelle pareti cellulari dello strato aleuronico dell'endosperma amilaceo. Nei cereali questi sono presenti soprattutto in orzo e avena in quantità pari al 7% e 5% rispettivamente. In segale e frumento la quantità di questa fibra è decisamente più contenuta (2% e meno dell'1% rispettivamente). I β -glucani dei cereali sono presenti in parte in forma solubile, insolubile e in parte non sono estraibili in acqua (Anker-Nilssen *et al.*, 2008).

Dal punto di vista agronomico molti studi effettuati su orzo e avena hanno dimostrato che esiste una variabilità del contenuto in β -glucani legata tanto al genotipo quanto all'ambiente. Lim *et al.*, (1992), Peterson (1992), Ajithkumar *et al.*, (2005) hanno dimostrato che il contenuto di β -glucani di diverse cultivar di avena può essere ascrivibile ad almeno due o tre livelli quantitativi differenti. Tra i fattori ambientali, il contenuto di azoto nel terreno e le temperature giocano un ruolo fondamentale nella determinazione del quantitativo di fibra solubile. Seppur non privi di discordanza, i dati in merito riportano la diretta proporzionalità tra contenuto di β -glucani e azoto nel suolo (Andersson *et al.*, 2011), e l'influenza positiva dei climi caldi e secchi sul contenuto di β -glucani a differenza dei climi caldi e umidi (Brunner e Freed, 1994; Güler, 2003).

I β -glucani nella dieta

E'ormai nota l'azione benefica che i β -glucani esercitano sulla salute dell'uomo, tanto che è stato definito il consumo minimo quotidiano di β -glucani pari a 3 grammi.

Affinché un prodotto alimentare possa riportare il claim salutistico "capace di ridurre il rischio di malattie cardiovascolari" deve apportare alla dieta almeno 0,75 grammi di β -glucani per la FDA (Food and Drug Administration) e almeno 1 grammo di β -glucani per porzione secondo il Regolamento Europeo CE 1924/2006 (EFSA, 2009; EFSA, 2010; EFSA, 2011).

3.2.1. Le caratteristiche funzionali dei β -glucani

Riduzione del colesterolo

La maggior parte degli studi condotti per la valutazione degli effetti fisiologici dei β -glucani sul nostro organismo, indicano che questi contribuiscono a ridurre il colesterolo totale abbassando la concentrazione della frazione LDL, dei trigliceridi, ed aumentando i livelli della frazione HDL. Questi agiscono sul riassorbimento degli acidi biliari nell'intestino con la conseguente utilizzazione di colesterolo endogeno per la neosintesi dei sali biliari (Andersson *et al.*, 2002; Ellegard e Andersson, 2007).

In genere sono state riscontrate riduzioni del colesterolo LDL dal 5 al 24%, per un valore medio dell'8% (Ames e Rhymer, 2008).

Effetti sulla risposta glicemica

I β -glucani, se assunti quotidianamente con l'alimentazione, hanno un effetto positivo anche sul livello glicemico postprandiale e sulla risposta insulinemica. Diversi studi clinici hanno evidenziato riduzioni osservabili del picco glicemico postprandiale, significative riduzioni dell' AUC (area sotto la curva) ed una diminuita risposta insulinemica (Tapola *et al.*, 2005; Makelainen *et al.*, 2007; Alminger e Eklund, 2008).

Il meccanismo con cui i β -glucani modificano la risposta glicemica non è ancora stato completamente chiarito; vengono ritenute rilevanti in merito le caratteristiche fisiche relative alla solubilità, viscosità, al peso molecolare ed alla

loro concentrazione nell'alimento (Ebringerova *et al.*, 2005; Papageorgiou *et al.*, 2005).

Diete ricche di β -glucani hanno oltretutto mostrato interessanti effetti sulla pressione arteriosa (Behall *et al.*, 2006) ed una diminuzione della pericolosa massa grassa viscerale (Shimizu *et al.*, 2007).

Effetti sul senso di sazietà

L'assunzione regolare di alimenti che contengono β -glucani procura un più accentuato senso di sazietà per la capacità della fibra di trattenere acqua ed abbassare la densità energetica del chimo. Inoltre i β -glucani migliorano la risposta glicemica, e, per effetto dalla viscosità della fibra, aumentano il tempo di contatto tra i nutrienti e l'intestino (Slavin, 2005; Nilsson *et al.*, 2008). In altre parole il consumo di β -glucani è in grado di modulare la secrezione post ingestiva di peptidi gastro-intestinali aumentando la secrezione di colecistochinina (Bourdon *et al.*, 1999) e di PYY (peptide YY) e diminuendo la concentrazione di grelina (Vitaglione *et al.*, 2009). La riduzione del tempo di svuotamento gastrico, l'abbassamento del picco glicemico e l'aumento della sensazione di sazietà sono tra le risposte fisiologiche alla colecistochinina ed al PYY (Moran, 2000; McGowan e Bloom, 2004). La grelina è considerata il più importante ormone oressizzante (ovvero stimolante l'appetito) del nostro organismo (Olszewski *et al.*, 2003).

Effetti prebiotici

Diversi studi clinici evidenziano l'attività prebiotica dei β -glucani in quanto favoriscono la selezione e la crescita nell'intestino della flora batterica lattacida (bifidobatteri, lattobacilli) (Snart *et al.*, 2006) la cui fermentazione produce acidi grassi a catena corta (SCFA). Gli SCFA migliorano significativamente il trofismo e la contrattilità dell'enterocita e sembrano in grado di diminuire l'incidenza di varie patologie del colon (Scheppach, 1994; Wong *et al.*, 2006).

Effetto immunostimolante

All'inizio degli anni 2000 si sono consolidate le conoscenze in merito al recettore Dectin 1, ritenuto il più rilevante recettore per i β -glucani presente sui leucociti, in particolare sui macrofagi e sui neutrofili (Harada e Ohno, 2008). Pare che l'effetto immunostimolante dei β -glucani dipenda dalla fonte (da cereali, da lievito, da funghi o batteri) e, nel caso dei cereali, dall'origine botanica.

In sintesi, i β -glucani rivestono un ruolo chiave sia nell'alimentazione di soggetti sani che di soggetti malati. Questi, infatti, possono essere consumati dalla popolazione adulta e pediatrica in buone condizioni di salute allo scopo di prevenire l'insorgenza di malattie croniche legate ad un'alimentazione scorretta. In soggetti ipercolesterolemici e/o diabetici può contribuire all'ottimizzazione del metabolismo dei carboidrati.

3.3. Le sostanze volatili

La legislazione italiana definisce composti organici volatili, quei composti organici che, alla temperatura di 293,15 K (20 °C), hanno una pressione di vapore di 0,01 kPa o superiore. La classe dei composti organici volatili, COV o VOC (dall'inglese Volatile Organic Compounds) comprende diversi composti chimici formati da molecole dotate di gruppi funzionali diversi, aventi comportamenti fisici e chimici differenti.

Si classificano come COV gli idrocarburi, che contengono come unici elementi carbonio e idrogeno e che sono suddivisi in alifatici e aromatici, e i composti contenenti oltre a carbonio e idrogeno anche ossigeno, cloro od altri elementi come aldeidi, eteri, alcoli, ed esteri.

In relazione alle fonte di provenienza, i composti organici volatili si suddividono in tre categorie:

- Composti antropogenici, originati principalmente dalle attività umane, come i solventi derivati del petrolio, e i prodotti delle combustioni.
- Composti biogenici di origine prevalentemente naturale, come gli oli essenziali vegetali.
- Composti sia antropogenici che biogenici, come l'isoprene, ad esempio, presente solo negli organismi vegetali come composto intermedio nella sintesi di biomolecole, come resine e oli essenziali.

Dal punto di vista alimentare le sostanze volatili sono le sostanze chimiche responsabili della percezione di sensazioni olfattive riconosciute come aroma

(www.minerva.unito.it). Tali sostanze possono trovarsi allo stato gassoso a temperatura ambiente e/o con punto di ebollizione superiore a diverse centinaia di gradi (Zouh *et al.*, 1999). Dette sostanze, trovandosi allo stato di vapore, sono inalate attraverso le narici dove vengono a contatto con i recettori olfattivi.

Quando si consuma un alimento, l'interazione tra gusto e odore determina una sensazione che è definita come "flavour". Tale termine inglese indica la combinazione di gusto e odore, ovvero di sapore e aroma. I composti responsabili del gusto sono generalmente non volatili a temperatura ambiente ed interagiscono solo con i recettori del gusto localizzati nelle papille gustative della lingua. Le sostanze aromatiche, invece, sono composti volatili che sono percepiti dai recettori odorosi siti anche nel tessuto olfattivo della cavità nasale: quando l'alimento, dopo essere stato masticato, raggiunge la gola, le sostanze aromatiche sono percepite dai recettori olfattivi (Belitz *et al.*, 2009).

La determinazione dell'identità chimica delle sostanze volatili aromatiche è fondamentale non solo per distinguere un composto da un altro, ma anche per valutare il loro potenziale aromatico essendo queste sostanze dotate di aroma caratteristico e penetrante.

I composti volatili possono fornire informazioni non solo sulle componenti nobili che conferiscono al prodotto l'aroma tipico, ma possono rappresentare marcatori di prodotto e processo. Questi infatti variano in funzione della specie, della cultivar, dello stato fisiologico della materia prima, delle condizioni pedoclimatiche dell'area di produzione, dei processi di trasformazione e

conservazione (Seitz, 1995). Le sostanze volatili permettono quindi di seguire sia la tracciabilità che la rintracciabilità del prodotto in quanto lo descrivono lungo tutto il percorso della filiera produttiva, dalla raccolta al punto vendita (www.minerva.unito.it).

In un alimento le sostanze volatili sono presenti a livello di tracce o ultra-tracce (Zouh *et al.*, 1999, Belitz *et al.*, 2009) e solo un numero limitato di questi composti sono importanti per l'aroma. In generale, il numero di composti è dipendente dai processi tecnologici utilizzati per la preparazione e il confezionamento di un alimento. Ad esempio gli alimenti ottenuti da processi termici come il caffè o in combinazione con processi di fermentazione come il pane o la birra, contengono più di diverse centinaia composti volatili.

Di tutti i composti volatili, solo un numero limitato è importante per l'aroma.

Sulla base del loro contributo aromatico tali composti sono classificabili come:

- composti d'impatto: composti che possiedono individualmente l'odore caratteristico del prodotto agroalimentare tanto da determinarne le qualità sensoriali tipiche del prodotto stesso;
- composti contributivi: composti che completano l'aroma del prodotto;
- off-flavours: composti che rappresentano una deviazione dell'aroma del prodotto rispetto a quello caratteristico. Esempi di off-flavour sono i composti che derivano dalla fermentazione dei prodotti in seguito a reazioni metaboliche da parte dei microrganismi o da accumuli di pesticidi ed erbicidi.

I composti d'impatto sono presenti negli alimenti in concentrazioni più alte rispetto alla soglia olfattive e/o gustative.

La soglia olfattiva e/o gustativa è la concentrazione minima di un composto che consente l'individuazione del suo odore. Questa si calcola mediante la diluizione di una concentrazione nota di composto aromatico di interesse con una base neutra (per esempio acqua o aria) fino a raggiungere il limite di rivelazione olfattiva dell'assaggiatore. Questa misura, negativamente correlata con l'intensità dell'aroma del composto saggiato, può essere utilizzata come un indice di impatto sensoriale.

Se la soglia di individuazione di una sostanza è più bassa della soglia dell'odore, la sostanza è comunque identificata, ma la qualità dell'aroma non può essere stabilita con esattezza.

Il valore aromatico di un composto è calcolato come segue:

$$A_x = \frac{C_x}{a_x}$$

dove A_x è il valore aromatico, C_x è la concentrazione del composto X nell'alimento e a_x è la soglia di odore. Da questa relazione segue che più è bassa la soglia di percezione, e più alta è la concentrazione, maggiore sarà il valore aromatico.

La valutazione dei composti volatili sulla base del loro valore aromatico fornisce solo una informazione di massima sull'alimento. È necessario, quindi, considerare la dipendenza dell'intensità dell'odore dalla concentrazione della

sostanza e la difficile valutazione dell'effetto additivo esercitato da diverse sostanze sull'aroma di un prodotto. È possibile dedurre che, sebbene l'intensità dei composti con una nota aromatica simile possa sommarsi, l'intensità della miscela potrebbe risultare più bassa rispetto alla somma delle intensità individuali. Per le sostanze le cui note aromatiche sono chiaramente diverse, il profilo dell'odore di una miscela è composto dal profilo dell'odore dei componenti in miscela, solo se le intensità dell'odore sono approssimativamente uguali. Se il rapporto di concentrazione è tale che l'intensità dell'odore di uno dei componenti predomina, il composto più largamente rappresentato determina il profilo dell'odore (Belitz *et al.*, 2009).

3.3.1. Metodi di isolamento

L'analisi del flavor prevede la successione delle seguenti fasi: isolamento delle sostanze volatili dall'alimento, preconcentrazione delle stesse sul materiale estraente, separazione e quindi identificazione delle sostanze.

Grazie al progresso scientifico e tecnologico sono state sviluppate diverse metodologie per l'estrazione delle sostanze volatili ognuna delle quali offre vantaggi e svantaggi. Tra queste metodologie sono annoverate la distillazione, l'estrazione con solvente e l'analisi dello spazio di testa. Tutte queste tecniche sono accomunate dal rischio di una potenziale distruzione di componenti aromatici con la successiva produzione di off-flavour manifestabile con presenza

di sostanze estranee all'alimento, perdita di odore o cambiamento nella concentrazione della singola sostanza aromatica.

Affinché possa essere prodotto un giudizio oggettivo sulla validità scientifica della tecnica analitica è necessario valutare la fedeltà tra l'aroma del materiale di partenza e quello isolato dall'estratto. Pertanto, le condizioni alle quali è applicata ognuna delle tecniche sopra citate, devono essere quanto meno invasive possibile per evitare l'ossidazione, degradazione termica, e altri cambiamenti chimici e biochimici del campione.

L'estrazione con solvente seguita dalla concentrazione delle sostanze estratte in azoto o in evaporatore rotante è uno dei metodi tradizionalmente usati per il recupero dei componenti del flavour dagli alimenti. Mulder *et al.*, (1973) hanno riportato 30 composti in estratti di pentane-etoxyethano dalla crosta del pane mentre Richard-Molard *et al.*, (1979) trovarono quasi 100 composti nel pane francese utilizzando il diclorometano come solvente di estrazione. Questa tecnica è utile per campioni come pane e certi componenti che hanno un ruolo indiretto nel conferimento del flavorai cereali. Tra gli svantaggi dell'estrazione con solventi certamente la contaminazione dei componenti del flavor con materiale indesiderato come i lipidi e gli idrocarburi non aromatici, è il principale. La **distillazione/estrazione** simultanea o sequenziale che prevede l'isolamento dei composti volatili, seguito dall'estrazione degli stessi, è stata ampiamente applicata ai cereali. Con questa tecnica sono stati estratti i componenti

dell'aroma dal glutine e dal germe di frumento, da macinati di triticale e di riso (Zhou *et al.*, 1999).

La distillazione/separazione simultanea rimane la più utilizzata nel campo della ricerca dei composti aromatici e l'apparato di Likens-Nickerson ha rappresentato uno standard operativo per lungo periodo. L'uso dell'apparato che opera a pressione ridotta per abbassare il punto di ebollizione del campione, è stato limitato per la difficoltà di trattenere il solvente e per la formazione di sostanze "artefatte" (Zhou *et al.*, 1999).

L'estrazione con fluido supercritico (SFE) è una tecnica alternativa solvent-free, economica ed ecocompatibile. La base teorica di questa tecnica poggia sullo stato supercritico in cui si trova l'agente estraente nello stato fisico intermedio tra quello gassoso e quello liquido. L'aumento della temperatura aumenta la diffusività alla pressione fissata e decrementa la viscosità (Cserhati, 2010).

L'estrazione in fase solida (SPE) è una tecnica applicata per l'isolamento degli estratti per mezzo di solventi di estrazione o distillazione fatti passare attraverso una cartuccia adatta (Zhou *et al.*, 1999) contenente polimeri ad alta capacità di adsorbimento. Una volta ultimato lo step di adsorbimento, la resina è lavata per rimuovere la maggior parte dei componenti coadsorbiti (Cserhati, 2010).

Uno dei metodi più popolari per l'isolamento dei composti del flavor è il campionamento dello spazio di testa (**headspace**). Questa tecnica consente di recuperare una quantità di composti inferiore rispetto all'estrazione con solventi o alla distillazione, ma a differenza di altre tecniche restituisce un estratto pulito

grazie alla incapacità di estrazione di sostanze non volatili e a sostanze volatili strettamente legate ed incapsulate alla matrice. Questo tipo di campionamento può essere effettuato mediante un recupero statico o un recupero dinamico (purge and trap) delle sostanze volatili localizzate nello spazio di testa di un contenitore sigillato. Il recupero statico delle sostanze volatili è stato utilizzato per il recupero delle sostanze volatili dai fiocchi della farina d'avena e dei prodotti di ossidazione dei lipidi prodotti dalla semola di avena. La procedura dinamica, che prevede il passaggio di un gas inerte attraverso il campione e la raccolta degli analiti in una trappola, è stata utilizzata per il recupero di sostanze volatili da prodotti di mais (Zhou *et al.*, 1999).

Di più recente utilizzo è la tecnica della **microestrazione in fase solida (SPME)** che prevede l'utilizzo di una fibra di silice rivestita con materiali diversi che viene direttamente immersa in un campione acquoso o esposta nello spazio di testa di una vial contenente il campione liquido o solido (Zhou *et al.*, 1999).

3.3.2. Metodi di misurazione

I classici metodi utilizzati per determinare i costituenti dell'aroma sono le tecniche fisico-chimiche e le analisi sensoriali. Tipici esempi di tecniche fisico-chimiche sono la gas cromatografia ad alta risoluzione e HPLC con varie tecniche accoppiate.

Come testimoniato da molti studiosi (Huang e Zayas 1996, Buttery e Ling 1995, Nitz 1989) l'uso dell'HPLC è meno idoneo per la determinazione dei composti

volatili dell'aroma tradizionalmente associati con il flavor rispetto alla gas cromatografia. Il largo ricorso alla tecnica cromatografica è stato accoppiato all'utilizzo di colonne ad alta risoluzione (30m o più lunghe) con fase relativamente non polare (Heydanek e McGorin, 1981 a,b).

L'identificazione delle sostanze isolate può essere effettuata con l'accoppiamento alla gas cromatografia della spettrometria di massa (GC/MS) o dell'olfattometria (GC/O) (Pfannhauser, 1993, 1990). GC/MS si presta bene per l'identificazione di composti omologhi ma risulta poco adatta all'identificazione di specie isomeriche. GC/O è una tecnica basata sull'identificazione dell'odore del composto da parte di uno o di un team di valutatori adeguatamente addestrati. La valutazione qualitativa e quantitativa dell'odore è effettuata per ogni analita che viene fuori dalla colonna cromatografica.

Un approccio alternativo include l'utilizzo di nasi elettronici comprendenti una serie di sensori con una tecnica di ricognizione del pattern associato. (Talou 1996). Questi dispositivi non misurano singolarmente un composto volatile, ma correlano i segnali ottenuti con la massa dei composti volatili.

3.3.3. SPME: teoria e tipi di fibra

La tecnica SPME è stata sviluppata per l'esigenza di ridurre la dimensione degli strumenti di estrazione e per evitare l'utilizzo di solventi. Questa tecnica consente, inoltre, di effettuare la preparazione del campione sia in laboratorio che fuori.

La procedura analitica prevede che alla fase di campionamento seguano le fasi di preparazione del campione, separazione, quantificazione, valutazione statistica dei dati ottenuti. Ognuna di queste fasi è strettamente collegata alla successiva tanto che commettere un errore in un singolo step compromette la performance dell'intera procedura e nessuno step può avere inizio se prima non si è concluso il precedente. La fase del campionamento è probabilmente la più delicata in quanto la scelta definisce propriamente la finalità delle analisi. L'obiettivo della fase di preparazione è l'isolamento dei componenti di interesse dalla matrice del campione e l'eventuale pulizia dello stesso qualora questo presenti delle impurità. Questa fase richiede che si porti l'analita al livello di concentrazione adatto per la sua individuazione. Successivamente alla preparazione del campione, gli analiti isolati sono divisi nei loro costituenti per mezzo delle tecniche cromatografiche o elettroforetiche. Infine la quantificazione è la determinazione della quantità del singolo analita ed è basata sul tempo di accumulo dell'analita stesso nel rivestimento della fibra (Pawliszyn, 2000). L'identificazione di ogni composto isolato può essere basata sul tempo di

ritenzione combinato con la individuazione selettiva; più frequentemente, gli strumenti forniscono informazioni più precise (nome, spettro) (Pawliszyn, 2012).

La teoria SPME poggia sui principi base della termodinamica e del trasferimento di massa che sono applicabili rispettivamente alla condizione di raggiungimento dell'equilibrio e al tempo di estrazione. La tecnica SPME prevede l'utilizzo di un filamento di silice corto e sottile (1cm di lunghezza e 0,11mm di diametro) rivestito da un polimero assorbente. La fibra è la stessa utilizzata per costruire la colonna del GC ed è stabile anche ad alte temperature. Il rivestimento del filamento di silice detto fibra, è attaccato ad un'asta metallica. Entrambi sono protetti da una guaina metallica che copre la fibra quando non è utilizzata. Il sistema richiama l'immagine di una siringa che è chiamata holder. Nel campionamento dello spazio di testa la fibra è inserita nel volume libero sopra il campione e gli analiti sono estratti dalla fase gassosa in equilibrio con il campione. Questa tecnica è utile per campioni con molecole ad alto peso molecolare (Pawliszyn, 1999, 2012, Wercinski, 1999).

La tecnica SPME prevede in una prima fase la partizione dell'analita tra il campione e il rivestimento della fibra e il successivo desorbimento degli analiti concentrati dalla fibra allo strumento analitico. Per eseguire l'estrazione, un campione acquoso o solido è posto in una vial chiusa con un tappo provvisto di un setto. Il pistone viene abbassato e la fibra, la cui guaina protettiva ha forato il setto, è immersa nel campione acquoso o esposta nello spazio di testa del

campione. Gli “analiti target” sono quindi estratti dalla matrice del campione e accumulati all’interno della fibra. Trascorso un predeterminato tempo di assorbimento, la fibra è ritirata nella guaina protettiva, che a sua volta viene tirata fuori dalla vial di campionamento e immediatamente inserita nell’iniettore GC o HPLC. Nell’iniettore la fibra rimane esposta ad alta temperatura per permettere agli analiti concentrati di essere desorbiti termicamente e riconcentrati nella colonna.

Nel momento in cui la fibra viene esposta nello spazio di testa della vial contenente il campione, inizia la fase di adsorbimento dell’analita: le molecole vengono adsorbite superficialmente nel rivestimento della fibra e successivamente si dissolvono in essa. Al di sotto di un gradiente di concentrazione, le molecole dell’analita si diffondono attraverso lo spessore della fibra dal punto a maggiore concentrazione verso quello a minore concentrazione. Se il coefficiente di diffusione dell’analita nella fase di estrazione è alto, l’analita viene assorbito dal rivestimento della fibra. Al contrario, se il coefficiente di diffusione è basso, l’analita rimane nell’interfaccia del rivestimento e il risultato è l’adsorbimento. Il principale vantaggio dell’assorbimento (partitioning) è una reazione isotermica lineare in quanto la fase dell’interfaccia non cambia sostanzialmente fino a quando la quantità estratta è approssimativamente 1% sul peso della fase estratta. Questo causa problemi nel raggiungimento dell’equilibrio perché la risposta della fibra per

l'analita che si trova a concentrazioni alte del campione dipendono dalle concentrazioni sia dell'analita che delle interfacce (Pawliszyn, 2000).

L'SPME si considera ultimata quando la concentrazione dell'analita ha raggiunto l'equilibrio di distribuzione tra la matrice del campione e il rivestimento della fibra (Pawliszyn, 1999). In questa fase la quantità di analita estratto è costante ed è indipendente da ulteriori aumenti del tempo di estrazione: l'esposizione della fibra per altro tempo non determina l'ulteriore accumulo di analiti (Pawliszyn, 2000). Questo consente di proteggere la fibra dagli effetti negativi causati dalle sostanze non volatili e in genere da quelle ad altro peso molecolare presenti nella matrice del campione (proteine, acidi umici).

La temperatura ha un effetto significativo sulla cinetica del processo estrattivo in quanto permette agli analiti di raggiungere la pressione di vapore necessaria per la loro estrazione. In generale i primi analiti ad essere estratti sono quelli volatili rispetto a quelli semi-volatili.

Le condizioni di equilibrio sono descritte dalla seguente equazione in accordo con la legge della conservazione della massa:

$$C_0 V_s = C_s^\infty V_s + C_f^\infty V_f$$

dove C_s^∞ e C_f^∞ sono rispettivamente l'equilibrio di concentrazione nel campione e nella fibra; V_s e V_f descrivono il volume del campione e della fibra. Il rapporto tra le concentrazioni nel campione e nella fibra descrive il coefficiente di distribuzione dell'analita tra la fibra e la matrice del campione

$$K_{fs} = \frac{C_f^\infty}{C_s^\infty}$$

Le precedenti equazioni possono essere semplificate come segue:

$$C_f^\infty = C_0 \frac{K_{fs}V_sV_f}{K_{fs}V_s + V_f}$$

Questa equazione indica che la quantità di analita estratto è direttamente proporzionale alla concentrazione del campione (C_0) che è la base analitica per la quantificazione.

La selezione del rivestimento della fibra è tra le variabili necessarie affinché la metodologia operativa possa fornire risultati rispondenti alla reale composizione del campione analizzato. La selezione innanzitutto, deve essere basata sulla polarità e volatilità dell'analita (Torrens *et al.*, 2004).

Il peso molecolare dell'analita influenza la velocità con cui questo si sposta dentro e fuori il rivestimento della fibra: un analita piccolo si sposta velocemente, mentre un analita più grande migra più lentamente attraverso il rivestimento. Ne deriva che è richiesto un tempo maggiore per il raggiungimento dell'equilibrio (www.supelco.com). Sia lo spessore del rivestimento che la costante di distribuzione determina la sensibilità del metodo e il tempo di estrazione. I rivestimenti più spessi offrono, infatti, una sensibilità elevata ma richiedono tempi di estrazione più lunghi (Pawliszyn, 2000; www.supelco.com).

Una prima modalità di classificazione delle fibre è la polarità della stessa. Infatti, è possibile distinguere fibre non-polari (polidimetilsilossano-PDMS), polari (polyacrylate o PA, carbowax o CW carbowax/divinylbenzene o DVB/CW) e

bipolari o a polarità mista (PDMS/DVB, CAR/PDMS E DVB/CAR/PDMS) (Lorenzo, 2014, www.supelco.com).

Inoltre i rivestimenti sono di tipo omogeneo e non omogeneo (Pawliszyn, 2002); tra fibre la modalità estrattive è di tipo assorbente o adsorbente (Pawliszyn, 2000, Shirey, 2000).

I rivestimenti non omogenei sono costituiti da un componente poroso particolato e da uno non particolato. Il componente particolato è parzialmente incorporato nel componente polimerico (cross-linked). A differenza della preparazione del rivestimento con polimero omogeneo, la preparazione di questo tipo di fibra è difficile da automatizzare ed è assemblata manualmente. La presenza di due sorbenti nel rivestimento migliora la selettività della fibra. È necessario, però, tenere conto che i rivestimenti compositi posseggono una più bassa stabilità meccanica rispetto ai rivestimenti dei polimeri omologhi.

Appartengono a questa categoria i seguenti rivestimenti SPME: polydimethylsiloxane/divinylbenzene (PDMS/DVB), polydimethylsiloxane/carboxen (PDMS/CAR), carbowax/divinylbenzene (CW/DVB), e carbowax/templated resin (CW/TPR) (Pawliszyn, 1999). Queste fibre sono considerate come rivestimenti a fase bipolare che intrappolano fisicamente i composti volatili (Torrents *et al.*, 2004).

Tra le fibre non polari, il polidimetilsilossano (PDMS) è il rivestimento più utilizzato essendo capace di resistere alle alte temperature dell'iniettore del GC (temperature anche superiori a 300°C). PDMS rientra nella categoria dei

rivestimenti omogenei (Pawliszyn, 2002) che essendo una fase liquida non polare, estrae analiti non polari. Tuttavia è utilizzabile anche per molti composti polari, particolarmente dopo l'ottimizzazione delle condizioni di estrazione (Pawliszyn, 2002). PDMS è una fibra di tipo assorbente (Cserhati, 2004) della quale sono commercialmente disponibili tre differenti spessori: 7, 30 e 100 µm.

PDMS/DVB è un rivestimento adsorbente, bipolare, ideale per molti analiti polari in particolar modo per le ammine (www.supelco.com).

PDMS/CAR è una fibra adsorbente, bipolare, particolarmente sensibile per le molecole piccole e a basso peso molecolare. Ha una capacità estrattiva 200 volte superiore rispetto a PDMS 100µm in quanto presenta un alto livello di ritenzione anche per analiti presenti in tracce (www.supelco.com).

Le fibre assorbenti, sono la migliore opzione per gli analiti di dimensioni elevate. Tuttavia il divinilbenzene (DVB), sebbene sia di tipo adsorbente, è adatto per molti di questi analiti per la presenza di pori più grandi (www.supelco.com).

DVB/CAR/PDMS è stato descritto come il rivestimento adatto per estrarre un più ampio range di molecole a diversi pesi molecolari. Questo rivestimento consiste di un layer di DVB sospeso nel rivestimento PDMS sopra uno strato di Carboxen-PDMS. Gli analiti più grandi sono trattenuti da DVB mentre quelli più piccoli migrano dentro la fase adsorbente costituita da Carboxen. L'unico limite di questa fibra è la più bassa capacità di campionamento dovuta ai rivestimenti sottili di ogni

3.3.4. Le sostanze volatili nel frumento

Nel 1978 Maga in una review riportava che nonostante i cereali rappresentassero l'80% della dieta umana, pochi studi ne avevano studiato la componente volatile soprattutto allo stato grezzo. Gli unici autori ad avere approfondito l'argomento erano Hougen *et al.*, (1971), Lorenz e Maga (1972), McWilliams e Mackey (1969).

Hougen *et al* (1971) hanno studiato la composizione volatile dello spazio di testa di cinque varietà di frumento. Quattro di esse avevano parentali simili; tuttavia solo due di queste varietà avevano composizione quantitativa simile a differenza delle restanti. In questo lavoro veniva studiato anche il profilo aromatico di frumento infestato dalla calandra.

Lorenz e Maga (1972) valutarono la composizione degli idrocarburi a catena corta di varietà di frumento duro e tenero. Non fu rilevata differenza qualitativa, ma solo una minima differenza quantitativa. Questo studio dimostrò come tra varietà diverse di frumento non esistano sostanziali differenze contrariamente a quelle di triticale.

McWilliams e Mackey (1969) identificarono 18 sostanze volatili nella farina integrale di frumento.

Tabella 3.1 composti volatili isolati in frumento

Methanol ^a	Pentanal ^{a-c}
Ethanol ^a	Isopentanal ^c
Acetaldehyde ^{a-c}	Pentanone ^b
Acetone ^b	2,3-Dimethyl-3-pentanone ^c
Butanal ^{a-c}	Hexanal ^{a-c}
Isobutanal ^{a,c}	Heptanal ^{a-c}
Butanone ^{b,c}	Octanal ^c
3-Methyl-2-butanone ^c	Ethylacetate ^c
Butenal ^c	Isoamylalcohol ^c
Diacetyl ^c	Cyclopentanone ^c
Propanal ^{a,b}	Phenylacetaldehyde ^{c,d}
Propanone ^a	Amylalcohol ^c

^aHougen *et al.*, 1971), ^b Lorenz e Maga(1972), ^c McWilliams e Mackey(1969), ^d La Voie *et al.*, 1970). Fonte: Maga *et al.*, 1978.

Nel 1995 Seitz in accordo con Maga sottolinea come pochi lavori di caratterizzazione volatile siano stati effettuati su granella di frumento a differenza degli studi effettuati su tessuti vegetali della pianta e su prodotti trasformati. Seitz ha studiato la composizione volatile di alcune varietà di frumento proveniente da diverse località del Kansas raccolti in due annate agrarie successive. Dalle analisi effettuate, sono stati individuati 100 composti diversi. Gli alcoli sono risultati i più abbondanti, seguiti da aldeidi, alcani, alchilbenzeni, chetoni, esteri metilati, naftaleni, terpeni e altri composti in miscela. Le quantità di alcuni volatili differiscono tra le località e le varietà, ma nessuna differenza è tale da discriminare le varietà.

Buško *et al.*, (2014) affermano che nel grano non infestato, la presenza di alcuni composti volatili determina il suo aroma caratteristico. Questi composti sono il risultato dei cambiamenti enzimatici determinato dal metabolismo lipidico.

D'altro canto, alcuni microrganismi che vivono sulla superficie della cariosside producono composti volatili, la cui presenza può influenzare l'odore del grano stesso.

Dalla letteratura consultata è stato possibile mettere in evidenza che allo stato attuale è stato oggetto di indagine il profilo aromatico di cereali diversi (frumento tenero e duro, avena, orzo) e dei loro derivati. Le matrici saggiate sono varie: germe fermentato (Yusuf e Bewaji, 2011), amido (Sayaslan *et al.*, 2000;), pane e crosta di pane (Chang *et al.*, 1995, Ruiz *et al.*, 2003; Poinot *et al.*, 2007 – 2008 - 2009; Bianchi *et al.*, 2008; Chiavaro *et al.*, 2008; Maeda *et al.*, 2009; Jensen *et al.*, 2011; Birch *et al.*, 2013 a,b), semola e pasta (Beleggia *et al.*, 2009).

Altre ricerche hanno avuto come obiettivo lo studio del profilo aromatico di frumenti infestati sia da funghi (Sinha *et al.*, 1988; Borjesson *et al.*, 1992; Demyttenaere *et al.*, 2004; Perkowski *et al.*, 2008; Buško *et al.*, 2010) che da insetti (Lenardis *et al.*, 2007; Piesik *et al.*, 2011. Senthilkumar *et al.*, 2012).

Numerose ricerche hanno dimostrato che sulla base del profilo dei composti organici volatili è possibile distinguere specie diverse di funghi appartenenti al genere *Penicillium* e *Aspergillus* (Larsen e Frisvad, 1995; Jelen *et al.*, 2005). Come dimostrato da Jelen *et al.* (1997) quattro differenti specie di *Fusarium* (*F. sporotrichioides*, *F. poae*, *F. graminearum* e *F. crookwellense*) sono caratterizzate da specifici profili di sesquiterpeni prodotti (Buško *et al.*, 2014). L'analisi dei

composti volatili rende possibile determinare il processo di biosintesi dei composti tossici a partire dal gruppo dei tricoteceni.

Numerosi autori riportano che i composti volatili e le relative classi di appartenenza sono il frutto di reazioni metaboliche differenti. Buško (o.c) sostiene che alcani ed alcheni sono i composti prodotti a partire dagli acidi grassi, mentre le aldeidi possono derivare sia dall'ossidazione degli acidi che essere enzimaticamente ridotti dagli alcoli corrispondenti. I chetoni, invece, sono stati identificati come il prodotto dell'ossidazione dell'acido linolenico. Giannetti (2014) in uno studio effettuato sulla pasta, sottolinea che proprio le aldeidi (esanoale e nonanoale) gli alcoli (esanoale e octanoale) derivano dal metabolismo lipidico. Egli sostiene che presumibilmente questi composti sono prodotti dall'ossidazione termica degli acidi grassi a catena lunga. Altri composti volatili come l'acido acetico derivano dal metabolismo microbico degli zuccheri. Secondo lo stesso autore i terpeni contribuiscono notevolmente all'aroma della pasta sebbene composti come limonene e/o α -pinene siano dipendenti dalla varietà di frumento di partenza.

Di seguito si riportano i principali composti aromatici con i rispettivi descrittori odorosi rilevati da autori vari (tab 3.2).

In definitiva, l'analisi delle frazioni aromatiche di cereali e dei loro derivati non riveste un interesse solo nel campo della individuazione di marker varietali, ma è anche un potenziale strumento di valutazione della qualità e nella scoperta di eventuali infestazioni.

Tabella 3.2. Composti aromatici rilevati da autori diversi

Chemical group	Volatile compound	Origin	OAV	FD factor	OT in water (µg/kg)	Odour
Aldehydes	(E)-2- Nonenal	L	40-65 ^d	256 and 128 ^b ,152 ^a	0.08	Green, tallow
	3-Methylbutanal	F,M	25-54 ^d and 56-236 ^c		0.2	Malty
	Nonanal	L	15-20 ^d and 18-34 ^c		1	Citrus
	Hexanal	L	12-20 ^d and 49-87 ^c	16 ^a	4.5	Green
	Phenylacetaldehyde	F,M	8-13 ^d and 6-35 ^c	<8 and 16 ^b	4	Honey-like
	Heptanal	L	5-13 ^d and 14-26 ^c		3	Fatty, rancid
	Octanal	L	4-7 ^d and 19-30 ^c		0.7	Citrus
	Decanal	L	2-4 ^d and 8-21 ^c		2	Citrus
	Benzaldehyde	F,L	0-0.2 ^d and 0.1-0.2 ^c		350	Almond
	(E,E)-2,4-Decadienal	L		152 ^a	0.07	Fatty,waxy
	trans-4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	L		152 ^a	0.02	Metallic
	(Z)-2-Nonenal	L		128 ^a	0.02	Green
	Methional	L		16 and 64 ^b ,64 and 128 ^a	0.04	Potato-like
	2,4-Decadienal	L		64 ^a	0.1	Fatty,green
	(E,E)-2,4-Nonadienal	L		32 and 128 ^a	0.06	Fatty,waxy
	4,5-Epoxy-(E)-2-decenal	L		<8 and 32 ^b		Metallic
	(Z)-4-Heptenal	L		16 ^a	0.06	Biscuit-like
	(E)-2-Octenal	L		16 ^a	3	Fatty,nutty
Vanilin			8 and 16 ^b	22	Vanilla-like	
Alcohols	3-Methyl-1-butanol	F	17-25 ^d and 25-35 ^c , 18 and 10 ^b	128 and 32 ^b , 32 and 256 ^a	250	Balsamic,alcoholic
	1-Octen-3-ol	L	9-13 ^d		1	Mushroom
	1-Heptanol	L	2-3 ^d and 8-14 ^c		3	Green
	2-Methyl-1-propanol	F	0.1-0.3 ^d and 0.2-0.8 ^c		3	Glue,alcohol

Caratteristiche bioagronomiche e composti volatili di varietà di frumento duro tradizionalmente coltivate in Sicilia

Chemical group	Volatile compound	Origin	OAV	FD factor	OT in water (µg/kg)	Odour
Alcohols	2-Phenylethanol	F	0.2-0.4 ^d and 0-0.1 ^c ,12 and 3 ^b	512 and 128 ^b , 4 and 256 ^a	1,1	Flowery
	1-Propanol	F	0.1-2 ^a		6,6	Fruity, plastic
Ketones	2,3-Butanedione	F,M	9-33 ^d and 19-103 ^c	8 and 16 ^b , 64 and 128 ^a	6.5	Buttery,caramel
	6-Methyl-5-hepten-2-one		2-5 ^c		50	Herbaceous,green
	3-Hydroxy-2-butanone	F	0.8-1.5 ^c		800	Bulterscotch
	1-Octen-3-one	L		<8 and 64 ^b , 128 and 128 ^a	0.01	Mushroom-like
	2-Octanone (Z)-1,5-Octadien-3-one		0.1-0.2 ^d	16 ^a	0.0004	Green, geranium
Acids	3-Methylbutanoic acid	F,L,M	55 and 15 ^b	<8 and 32 ^b	120	Rancid,sweaty
	Acetic acid	F,M		64 and 128 ^b	32,3	Acidic, pungent
	Butanoic acid	F,L	<1 ^b	<8 and 32 ^a	240	Rancid,sweaty
Esters	3-methylbutanoate	F	1.5-11 ^d		0.2	Fruity,apple
	Ethyl hexanoate	F	0.2-0.5 ^d		1	Fruity,juicy
	Ethyl octanoate	F	0-0.1 ^c ,19 and 15 ^b	512 and 128 ^b	92	Sweet,soap,fresh
	Ethyl acetate	F	0-0.1 ^c		6,2	Sweet,fruity
	Ethyl-2-methyl propanoate	F		16 ^c	4.5	Fruity
	Ethyl nonanoate	F		16 and <8 ^b		Fruity
Furans	2-Pentylfuran	F,L,M	1-3 ^{c,d}		6	Floral,fruity
	4-Hydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furanone	M		8 and 64 ^b	40	Caramel-like
Phenol	4-Vinyl-2-methoxyphenol	M		16 and 64 ^b	3	Spicy
Pyrroline	2-Acetyl-1-pyrroline	M		8 ^b and 32 ^a	0.053	Roasted
Pyrazine	2-Methoxy-3-isopropylpyrazine	M		16 and 32 ^a		Roasty

Origine: F= attività fermentativa dei lieviti; L= degradazione lipidica; M= reazione di Maillard. Fonte: Birch et al., (2014).

3.4. Le proteine

L'interesse per il tenore proteico del grano deriva dall'importanza svolta dal glutine nel determinare le caratteristiche tecnologiche degli impasti, e quindi dei derivati, delle farine di frumento (Calò *et al.*, 2002).

Nel frumento, il contenuto in proteine varia dal 10 al 18% della sostanza secca. In funzione della loro solubilità in solventi diversi, le proteine del frumento si classificano come segue:

- Albumine: solubili in acqua
- Globuline: insolubili in acqua ma solubili in soluzione saline neutre
- Gliadine: solubili in soluzione alcolica
- Glutenine: solubili in acidi o basi.

Nei cereali, le albumine e le globuline sono proteine enzimatiche localizzate nelle cellule aleuroniche, nel germe e in minima quantità nelle cellule dell'endosperma. Sono ricche di aminoacidi essenziali e per questo importanti per la qualità dietetica (Giardini e Baldoni, 2000). Le albumine e le globuline rappresentano il 25% del contenuto proteico totale (Belderok *et al.*, 2000).

Le gliadine e le glutenine sono proteine di riserva che rappresentano il 75% del contenuto proteico totale. Queste sono localizzate essenzialmente nell'endosperma e sono determinanti per la loro attività tecnologica: pur non avendo attività enzimatica, esse contribuiscono alla formazione dell'impasto ritenendo i gas e quindi determinano la porosità dei prodotti cotti. Le gliadine e

le glutenine fortemente idratate, formano un complesso proteico viscoelastico detto glutine, principale responsabile delle proprietà dell'impasto. Le gliadine, per la loro viscosità, influiscono prevalentemente l'estensibilità del glutine, mentre le glutenine controllano principalmente l'elasticità e la forza del glutine, la stabilità dell'impasto, l'idratazione della semola e la resistenza alla cottura della pasta.

Glutine di tipo corto, elastico e tenace è sinonimo di un alto valore di pastificazione, mentre glutine di tipo fragile o non elastico corrisponde ad una qualità pastificatoria scadente (Landi, 1987).

Nella sezione della pasta cruda la parte interna appare notevolmente diversa da quella esterna; nella prima si ha la presenza di una matrice proteica amorfa che avvolge i granuli di amido, mentre nella seconda si osserva l'esistenza di un film proteico, avvolgente, liscio e continuo, il cui ruolo nel determinare la qualità della pasta non è ben chiaro (Dexter *et al.*, 1978, 1979).

Una volta cotta, la pasta mostra una rete fibrillare compatta di proteine coagulate, che avvolge i granuli di amido gelatinizzati e senza alcuna differenza tra la parte interna e quella esterna.

La percentuale di glutenina rispetto al contenuto totale di proteine ha un'influenza negativa sul volume del pane; le proteine residue incidono positivamente sul volume del medesimo.

In sintesi, il contenuto in sostanze azotate è considerato l'indice più importante ai fini della pastificazione, in quanto elevati tenori di proteine determinano un'alta qualità pastificatoria.

Correlazioni positive fra componenti gliadinici e caratteristiche reologiche del glutine sono evidenziate da numerosi autori. Damidaux e Feillet (1980) analizzando i patterns elettroforetici di 75 varietà di grano duro, hanno rilevato che la presenza della componente gliadinica 45 nelle gliadine era associata a glutine tenace, mentre la componente gliadinica 42 risultava associata a glutine debole. Ad oggi le gliadine 42 e 45 sono riconosciute come marcatori genetici.

PARTE SPERIMENTALE

4. SCOPO DEL LAVORO

La ricerca agronomica come strumento a servizio della collettività e del consumatore finale dei prodotti agricoli, negli ultimi anni ha posto tra gli obiettivi prioritari la conservazione della biodiversità di specie diverse ed in particolare del frumento duro. L'esigenza è quella di assicurare la sostenibilità delle produzioni da un lato e il contenimento dell'erosione genetica causata dall'introduzione di nuove varietà ad alto livello produttivo dall'altro.

Da questo cereale si trae la materia prima che sostiene la dieta mediterranea e costituisce la base di produzioni tipiche essenziali per la caratterizzazione e valorizzazione del territorio siciliano. Il frumento rappresenta il cardine per lo sviluppo sociale e per il presidio delle aree svantaggiate, ed è un fattore determinante per la conservazione del paesaggio e del patrimonio culturale inteso anche come tradizioni alimentari.

In questo contesto si inseriscono le connessioni tra materia prima e prodotto trasformato che si traducono in una particolare richiesta del consumatore di prodotti fortemente connessi al territorio e caratterizzati da sapori e odori tradizionali che non si ritrovano nei prodotti alimentari "moderni". Tra i molteplici esempi di connessione fra territorio ed alimentazione, il pane di pasta dura ragusano, il pane nero di Castelvetro, il pane di Lentini, il pane di San Giuseppe (Valguarnera Caropepe) e la pagnotta del Dittaino sono tra i più esemplificativi. Per queste produzioni, che si fregiano di marchi come Presidio Slow Food, DECO e DOP, è indispensabile l'utilizzo di frumento siciliano o

addirittura di varietà tradizionalmente coltivate in Sicilia. È questo il caso del pane di pasta dura ragusano e del pane nero di Castelvetro prodotti a partire da sfarinati di Russello e Timilia già citati in precedenza.

La presente ricerca ha avuto per obiettivo la caratterizzazione agronomica, morfologica e qualitativa di antiche popolazioni di frumento reperite in areali diversi dell'Isola.

Con riferimento alla qualità del prodotto, particolare attenzione è stata posta allo studio dell'amido per l'influenza sulle caratteristiche reologiche degli impasti; le sostanze volatili per la connotazione aromatica conferita al prodotto trasformato ed il contenuto in fibra solubile. Sono, infatti, queste ultime variabili che determinano la percezione del gusto.

5. MATERIALI E METODI

5.1. Le vecchie varietà siciliane

5.1.1. Caratterizzazione agronomica

La prova è stata condotta nell'annata agraria 2012-2013 presso l'azienda sperimentale dell'Università di Catania, in località Primosole (37°24' N., 15°03' E., 10 m s.l.m.) nella Sicilia orientale, su terreno argilloso (Typic Psammaquents, USDA) precedentemente lasciato a maggese.

Le popolazioni di frumento duro utilizzate sono state reperite in anni precedenti presso agricoltori-custodi operanti in provincia di Enna (Barrafranca) e Catania (Randazzo e Raddusa). In un precedente lavoro (Interlandi, 2003-04) è stata effettuata una caratterizzazione elettroforetica per accertare se le denominazioni fornite dagli agricoltori-custodi corrispondessero a genotipi diversi ovvero che per le stesse popolazioni coltivate in ambienti differenti non si fosse verificato il fenomeno della ecotipizzazione. Pertanto l'analisi delle proteine di riserva ha costituito la base per l'indagine di cui si riferisce di seguito. Nella tabella che segue (tab 5.1). sono elencate le popolazioni in prova e le rispettive provenienze.

Tabella 5.1. Provenienza dei genotipi allo studio

Varietà	Provenienza
Russello	Barrafranca (En)
Trinakria	Barrafranca (En)
Sicilia	Barrafranca (En)
Margherito	Randazzo (Ct)
Timilia	Randazzo (Ct)
Timilia	Raddusa (Ct)

Nella prima decade di ottobre il terreno è stato sottoposto a lavorazione principale per mezzo di frangizolle a dischi a profondità pari a 20-25 cm. Per la preparazione del letto di semina è stato effettuato un lavoro di fresatura. Alla semina sono stati somministrati $0,3 \text{ t ha}^{-1}$ di fosfato bi ammonico (18-46). La semina è stata effettuata il 07/12/2012 su parcelle di dimensioni contenute (4m^2) a causa della ridotta quantità di seme disponibile. La semina è stata effettuata a file distanti 25 cm. In copertura è stato distribuito $0,1 \text{ t ha}^{-1}$ di nitrato di ammonio. Il 26/02/2013 è stato effettuato il controllo delle infestanti per mezzo di Atlantis WG e Bucril. Il primo, a base di mesulfuron-metile e iodosulfuron-metil-sodium è stato utilizzato per il controllo delle infestanti monocotiledoni; Bucril, a base di Bromoxinil e 2,4 D, è stato utilizzato per il controllo delle dicotiledoni. La raccolta è stata effettuata il 24/06/2013.

In campo, a maturazione, è stata rilevata l' altezza delle pianta. Sono inoltre state registrate le principali fenofasi del ciclo biologico in modo da determinare

intervallo semina/spigatura, spigatura/maturazione e semina/maturazione. Sono stati rilevate le componenti della resa: numero di spigette totali, sterili e fertili, peso cariossidi per spiga e peso 1000 semi. Sulla pianta è stato effettuato rilievo morfobiometrico utilizzando descrittori OCSE. Sulla granella è stato rilevato il profilo volatile mentre sullo sfarinato integrale il contenuto in proteine, in β -glucani, in amido con rilievo fotografico dei granuli (SEM).

5.1.2. Caratterizzazione morfologica

La caratterizzazione morfologica delle vecchie varietà siciliane di frumento duro è stata effettuata attraverso i caratteri di seguito riportati.

Caratteri del culmo

- Grado di pienezza della paglia: è stato valutato il lume midollare nella porzione intermedia dell'ultimo internodo in quanto assume nel frumento duro un valore tassonomico rilevante essendo presenti varietà a paglia piena ed altre a paglia vuota.
- Lunghezza ultimo internodo: è stata misurata a partire dal collaretto.

Caratteri della spiga

La spiga a maturità è stata valutata per i seguenti tratti:

- Forma: in accordo con i Servizi di Registrazione delle Varietà Italiane (I.R.E.V.,1976) e francesi (G.E.V.E.S., 1976) che utilizzano la medesima classificazione viene individuata la forma della spiga sul profilo come: piramidale, a bordi paralleli, semiclavata, clavata, fusiforme.
- Compattezza: valutata ricorrendo alla misura dei dieci segmenti centrali del rachide (misurazione in cm).
- Colore: le espressioni fenotipiche sono state classificate in bianco, rosso pallido, rosso scuro, bruno e nero.

- Colore ariste: è stato valutato il colore delle reste in bianco, bruno, nero, rosso
- lunghezza ariste (misurazione in cm).

Caratteri della spighetta

- Gluma inferiore (proveniente dal terzo medio della spiga): sono stati valutati la forma della spalla della gluma (inclinata, arrotondata, diritta, elevata, fortemente elevata); la larghezza della spalla (assente o molto stretta, stretta, media, larga, molto larga); la forma del mucrone (diritto, leggermente curvato, semicurvato, fortemente curvato, genicolato);
- Lunghezza del mucrone (misurazione in mm).
- Numero di spighette per spiga: le spighette sono state inoltre classificate in fertili e sterili.
- Numero di cariossidi per spiga
- Peso cariossidi per spiga
- Lunghezza rachide misurata dal collaretto all'inserzione dell'ultima spighetta.

▪ Caratteri del seme

La cariosside è stata valutata per i seguenti tratti:

- Dimensione: è stata valutata la lunghezza della cariosside (misurazione in mm).

- Colore: le espressioni fenotipiche sono state classificate in bianco, bianco
ambra, giallastro, rosso, bruno, nero.
- Peli all'apice: le espressioni fenotipiche sono state classificate in: assenti,
presenti.

I rilievi sono stati effettuati su venticinque individui per varietà.

5.1.3. Caratterizzazione qualitativa

5.1.3.1. Determinazione del contenuto in amilosio e amilopectina

Il contenuto di amilosio è stato rilevato con il metodo Megazyme, Total Starch, Assay Procedure (amyloglucosidase/ α -amylasemethod), AOAC Method 996.11, AACC Method 76.13, IICC Standard Method No.168.

Il metodo prevede una prima fase di pretrattamento dell'amido durante la quale 20 mg di sfarinato integrale reagiscono con 1 ml di dimetilsolfossido (DMSO) e 6 ml etanolo al 95% (v/v) necessari per la rimozione dei lipidi. La centrifugazione a 2000 rpm per 15 minuti consente il recupero dell'amido che viene ulteriormente trattato con 2 ml di DMSO in bagno bollente per 15 minuti. La fase successiva prevede la precipitazione dell'amilopectina per l'aggiunta di 4 ml di Con A Solvent a pH 6,4 composto da sodio acetato anidro, cloruro di sodio, cloruro di calcio esaidrato, cloruro di magnesio esaidrato, cloruro di manganese tetraidrato. L'amilopectina viene quindi allontanata dopo 60 minuti di reazione a temperatura ambiente e successiva centrifugazione a 14000 rpm per 10 minuti. Ad 1ml di surnatante sono aggiunti 3 ml di sodio acetato in bagno bollente per 5 minuti al fine di denaturare il Con A. L'aggiunta di amiloglucosidasi e α -amilasi attivano l'idrolisi enzimatica dell'amilosio a D-glucosio. Infine il D-glucosio è fatto reagire con glucosio ossidasi/perossidasi (GOPOD). La concentrazione di amilosio nel campione di amido è stimata come il rapporto dell'assorbanza a 510 nm del GOPOD del surnatante del campione precipitato con Con A e quella dell'amido totale .

Amiloso, % (w/w)

$$= \frac{\text{Assorbanza (Con A supernatante)}}{\text{Assorbanza (aliquota di amido totale)}} \times \frac{6,15}{9,2} \times \frac{100}{1}$$

Semplificando

$$\text{Amiloso, \% (w/w)} = \frac{\text{Assorbanza (Con A supernatante)}}{\text{Assorbanza (aliquota di amido totale)}} \times 66,8$$

Dove 6,15 e 9,2 sono rispettivamente fattori di diluizione del Con A e degli estratti di amido totale.

Lo spettrofotometro utilizzato è stato SHIMADZU UV SPECTOPHOTOMETER UV 1800.

5.1.3.2. Osservazione dei granuli di amido

L'isolamento e la purificazione dell'amido è stata effettuata seguendo il protocollo descritto da Zhang *et al* (2013) che è stato implementato con la liofilizzazione finale del campione. 5 grammi di sfarinato integrale sono stati miscelati con 3 ml di acqua distillata. L'impasto, lavorato con un'ansa metallica, è rimasto a riposo per 30 minuti al termine dei quali sono stati aggiunti 15 ml di acqua distillata. L'impasto è stato filtrato una prima volta attraverso un setaccio con lume di 150 µm e una seconda volta attraverso un setaccio con maglie di nylon a lume di 88 µm. Il filtrato è stato centrifugato a 3500 rpm per 15 min e il residuo lavato due volte con 5 ml di acqua distillata. Il pellet è stato mantenuto in agitazione costante per due ore in 5 ml di soluzione al 2% di SDS, quindi filtrato e lavato per tre volte con la stessa quantità di acqua distillata. Infine l'amido isolato è stato liofilizzato per 2 giorni.

Il campione così preparato è posizionato in appositi porta campioni detti stubs sui quali è attaccato un disco biadesivo in carbonio per favorire l'adesione dei granuli. Gli stubs con i granuli sono ricoperti con uno strato di oro spesso 12 nm per favorire il passaggio elettronico durante l'osservazione.

I granuli sono stati, quindi, osservati con microscopio a scansione elettronica ZEISS modello EVO LS10 a voltaggio variabile. Le immagini sono state effettuate ad un ingrandimento 300 X per una valutazione visiva dell'incidenza delle classi di granuli. Ingrandimenti diversi sono stati utilizzati per mettere in rilievo le caratteristiche strutturali dei granuli.

A carico dei granuli di tipo A sono state rilevate dodici misure del diametro longitudinale e trasversale per ogni varietà allo studio ad eccezione di Margherito a causa della mancata disponibilità di granella.

5.1.3.3. Determinazione del contenuto in β -glucani

Il contenuto di β -glucano è stato determinato con il metodo Megazyme, Mixed-linkage beta-glucan, Assay Procedure (McCleary method), AOAC Method 32-23; AACC Method 995.16; EBC Methods 3.11.1, 4.16.1 and 8.11.1; ICC Standard Method No.166.

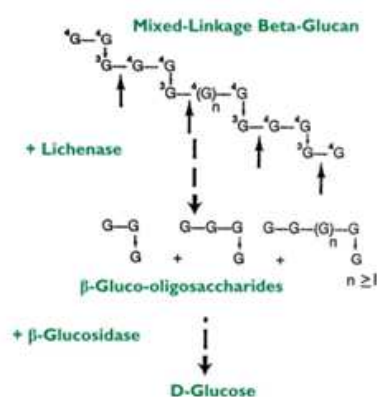


Fig. 5.1. Principio di misurazione dei β -glucani.

Fonte: www.megazyme.com

Questo metodo è basato sulla demolizione enzimatica del β -glucano fino a D-glucosio e conseguente determinazione spettrofotometrica. Il principio del metodo è schematizzato nella figura di seguito riportata (Fig. 5.1.).

La procedura di analisi viene eseguita in doppio su sfarinato integrale e su campioni di farina a titolo noto di β -glucano presenti all'interno del kit di analisi. 0,5 grammi di sfarinato integrale vengono trattati con soluzione di etanolo acquoso (50 % v/v) e tampone fosfato (20 mM a pH 6,5). La sospensione viene riscaldata in bagnomaria bollente per 5 minuti provvedendo ad una agitazione periodica (2 minuti) al fine di evitare la formazione di grumi gelatinosi. Tale sospensione è quindi raffreddata a 40°C per potervi aggiungere l'enzima lichenasi (0,2 ml). e mantenuta in bagnomaria a 40°C per un ora. A questo punto avviene la prima depolimerizzazione del campione. Passata questa fase, il campione è portato a 30 ml con acqua distillata e

un'aliquota di surnatante (3 ml) è trasferita in un tubo da centrifuga. Segue un ciclo di centrifugazione a 1000 rpm per 10 minuti al termine dei quali 3 aliquote da 0,1 mL di surnatante sono trasferite in 3 tubi test: il primo, il bianco della reazione, è trattato con 0,1 ml di tampone acetato (50 mM a pH 4,0) mentre i restanti due sono trattati con 0,1 ml di enzima β -glucosidasi. I tubi sono incubati prima a 40°C per 15 minuti durante i quali avviene la demolizione del β -glucano a D-glucosio e, in seguito all'aggiunta di 3 ml di Reagente GOPOD, a 40°C per 20 minuti. Al termine dell'incubazione, il contenuto dei tubi è trasferito in appropriate cuvette da spettrofotometria. L'assorbanza dell'analita è stata misurata con spettrofotometro UV (caratteristiche) a lunghezza d'onda di 510 nm.

La quantità di β -glucano è derivata dall'assorbanza dell'analita, dal D-glucosio standard, dal peso esatto e dall'umidità del campione secondo la formula:

$$\beta - \text{glucan (\% w/w)} = \Delta A \times F \times 300 \times \frac{1}{1000} \times \frac{100}{W} \times \frac{162}{180}$$

Semplificando

$$\beta - \text{glucan (\% w/w)} = \Delta A \times \frac{F}{W} \times 27$$

Dove

ΔA è la differenza tra l'assorbanza dopo il trattamento con β -glucosidasi e l'assorbanza del bianco di reazione

F è un fattore di conversione dei valori dell'assorbanza a μg di glucosio

300 è un coefficiente di aggiustamento del volume

$\frac{1}{1000}$ è il fattore di conversione da μg a mg

$\frac{100}{W}$ fattore necessario per esprimere il contenuto di β -lucani in percentuali sul

peso secco della farina

W è il peso secco del campione in mg .

Ogni campione è stato replicato due volte.

Lo spettrofotometro utilizzato è stato SHIMADZU UV SPECTOPHOTOMETER UV

1800.

5.1.3.4. Determinazione del contenuto in proteine

La determinazione del quantitativo di azoto organico e quindi della percentuale di proteine è stato effettuato in accordo con metodica Kjeldahl. A questo scopo è stato utilizzato il digestore BÜCHI digestion Unit K-435 e il distillatore BÜCHI distillation Unit B-324.

1g di farina integrale è miscelata a 3 pasticche di catalizzatore Kjeldahl K_2SO_4+Se kg 3.5 (Panreac) e 20 ml di acido solforico al 96%. Il campione così trattato è lasciato digerire per 15 minuti a livello 7 e 60 minuti a livello 10. A termine della digestione, quando il campione ha assunto un colore giallo paglierino o addirittura incolore, il campione è trasferito nel distillatore dove sono aggiunti 50 ml di acqua distillata e 70 ml di NaOH al 32%. La distillazione ha una durata di 9 minuti. Il distillato è raccolto in una beuta contenente 50 ml dell'Indicatore per titolazione acido base preparato con acido borico al 4%, 10 ml di soluzione metabolica di verde di bromo cresolo allo 0,1% e 7 ml soluzione etanolica di rosso di metile allo 0,1%.

La titolazione è effettuata con H_2SO_4 0.1N fino al viraggio da verde a rosa.

$$N = \frac{pe * ml * N * 100}{P}$$

$$PG = N \times 5,7$$

dove:

pe è il peso equivalente azoto (0,14); ml è il quantitativo di H_2SO_4 utilizzato; N è la normalità di H_2SO_4 (0,1), P è il peso del campione e 5,7 è il fattore di conversione dell'azoto organico in proteine per frumento.

Ogni campione è stato replicato tre volte.

5.1.3.5. Estrazione delle sostanze volatili

La bibliografia relativa all'estrazione delle sostanze volatili dalla cariosside di frumento è risultata scarsa rendendo, perciò, necessaria una messa a punto del metodo di estrazione. Tale operazione ha previsto in una prima fase la selezione del rivestimento della fibra, e in una seconda fase la scelta del tempo e della temperatura di estrazione.

I rivestimenti saggiati sono stati: 100 μm poly dimethylsiloxane (PDMS); 75 μm Carboxen/PDMS (CAR/PDMS); 50/30 μm divinylbenzene/CAR/PDMS (DVB/CAR/PDMS); 65 μm PDMS/DVB.

Tutte le fibre sono state acquistate presso Supelco (Bellefonte, PA, USA) e sono state condizionate secondo le istruzioni fornite dalla casa costruttrice: 250°C per 30 min per PDMS, 300°C per 60 min per CAR/PDMS, 270°C per 60 min per DVB/CAR/PDMS e 250°C per 30 min per PDMS/DVB. Le fibre sono state montate in un holder manuale (standard 24 gauge needle).

Per la selezione della fibra è stata usata granella della cultivar Mongibello coltivato presso l'azienda didattico-sperimentale dell'Università degli Studi di Catania sita in contrada Primosole in agro di Catania (37°24' N., 15°03' E., 10 m s.l.m.).

All'interno di una vial da 30 ml, chiusa con un tappo a semaforo (Supelco, Bellefonte, PA, USA), sono stati posti 20 grammi di seme.

Il campione è stato sottoposto a 15 minuti di pretrattamento a 60°C in un bagno termostato e successivamente nello spazio di testa della vial è stata esposta la

fibra per 60 minuti. La fibra è stata trasferita al GC dove è avvenuto il desorbimento a 250 °C per 3 minuti. Ogni campione è stato replicato tre volte. Per la scelta della fibra sono stati valutati l'area cromatografica totale e il numero dei picchi in quanto tali parametri forniscono una stima della specifica capacità di estrazione della fibra e della loro affinità per i composti volatili del frumento.

Per l'ottimizzazione delle condizioni di estrazione sono state comparate tre temperature (40, 60 e 90°) e tre tempi di estrazione (60, 90, 120 minuti). La condizione ottimale è stata scelta in base al raggiungimento dell'equilibrio tra la matrice del campione e la fase di estrazione. Anche in questa fase il campione è stato replicato tre volte.

L'efficienza del metodo è stata valutata attraverso lo studio del profilo aromatico di quattro varietà di frumento (Anco Marzio, Duilio, Sculptur e Orizzonte) allevate nelle medesime condizioni pedoclimatiche.

L'analisi cromatografica è stata effettuata usando Gas Cromatografo Agilent 6890 N GC (Palo Alto, CA, USA) di 30 m di lunghezza, 0.20 mm i.d., 0.20 µm film thickness, fused silica capillary column (SUPELCOWAX™ 10, Supelco) accoppiato a Agilent 5973 Network mass selective detector. Una volta avvenuta l'estrazione, la fibra è stata desorbita nell'iniettore del GC per 3 minuti a 250°C in modalità splitless. Il programma delle temperature è stato il seguente: la temperatura iniziale è di 40° C per 5 min, aumenta a 220°C a intervalli di 5°C/min e mantenuta per 10 minuti. Il gas carrier utilizzato è stato l'elio ad una portata di 1,1 mL/min. I parametri dello spettrometro di massa sono i seguenti: sorgente ionica 230°C;

energia electron 70 eV; multiplier voltage, 1247 V; GC/MS interface zone, 280°C; ed uno scan range di 35-350 mass units. L'identificazione dei composti è stata effettuata per mezzo del confronto del pattern di frammentazione dell'analita con lo spettro di uno standard puro e con gli spettri delle librerie.

5.2. Indagine sull'effetto di regimi idrici sulla produzione di sostanze volatili di frumento duro

La prova è stata condotta nell'annata agraria 2013-2014 presso l'azienda sperimentale dell'Università di Catania, in località Primosole (37°24' N., 15°03' E., 10 m s.l.m.) nella Sicilia orientale, su terreno argilloso (Typic Psammaquents, USDA) precedentemente lasciato a maggese.

Sei varietà di frumento duro sono state valutate in due differenti regimi di disponibilità idrica. I sei genotipi in prova sono stati individuati tra quelli di recente costituzione e tra popolazioni siciliane tradizionalmente coltivate. Tra le prime sono state scelte Mongibello e Simeto mentre tra le seconde Timilia, Russello, Cappelli e Margherito. La prima tesi allo studio si è avvalsa di approvvigionamento idrico naturale, mentre nella seconda la disponibilità idrica è stata limitata per mezzo di canalette in acciaio zincato installate tra le file allo scopo di raccogliere l'acqua piovana e allontanarla dalla parcella. Queste sono state poste in loco all'inizio della levata.

La lavorazione principale è stata effettuata con frangizolle, quella complementare per mezzo di erpice a profondità pari a 25 cm; la preparazione del letto di semina è stata effettuata con fresa a profondità di 20 cm. La semina è stata effettuata il 18/12/2013 per mezzo di seminatrice parcellare a sei solchi distanti 18 cm in parcelle di 4 m². L'investimento unitario è stata pari a 400 semi per m².

Alla semina sono stati somministrati 54 kg di N ha⁻¹ e 138 kg di P₂O₅ ha⁻¹. In copertura è stato somministrato nitrato di ammonio in quantità pari a 27 kg ha⁻¹. Il controllo delle infestanti a foglia larga è stato effettuato per mezzo di Logran e Manta Gold rispettivamente a base di Triasulfuron e Fluroxipir, Clopiralide MCPA. Le infestanti monocotiledoni sono state controllate con Traxos One a base di Pinoxaden, Clodinafop-propargyl, Florasulam e Cloquintocet-mexyl. La raccolta è stata effettuata il 27/06/2014.

Oggetto di rilievo è stata la componente volatile dei genotipi allo studio.

5.3. Indagine sull'effetto delle condizioni ambientali sulle produzioni di sostanze volatili della cultivar Timilia

L'interesse che in questi ultimi anni è stato dimostrato nei confronti della Timilia come costituente principale di prodotti da forno (Pane nero di Castelvetro – presidio Slow Food), birra ed altri prodotti alimentari ha indotto ad effettuare un'indagine qualitativa utilizzando granella proveniente da tre zone diverse dell'Isola: Raddusa (EN), Villarosa (EN) e Catania. Nelle prime due località, le cui aziende operano in regime di coltivazione biologico, il campione è stato prelevato in due annate consecutive (2012/13 e 2013/14). Una prima azienda è sita in contrada Pietrapesce in agro di Raddusa (350 m s.l.m.). In entrambe le annate, la semina è stata effettuata in terreno prevalentemente argilloso, a spaglio la prima decade di novembre utilizzando 200 kg ha⁻¹ di seme; la raccolta ha avuto luogo nella seconda decade di luglio. I campioni saranno di seguito identificati come Raddusa 13 e Raddusa 14.

La seconda azienda è sita in agro di Villarosa (EN) in contrada San Giovannello (600m s.l.m.). La semina è stata effettuata in terreno di medio impasto, a spaglio nella seconda decade di dicembre utilizzando 200 kg ha⁻¹ di seme; la raccolta ha avuto luogo nella seconda decade di luglio. I campioni saranno di seguito identificati come Villarosa 13 e Villarosa 14.

Gli stessi genotipi sono stati allevati presso l'azienda didattico-sperimentale dell'Università di Catania, in località Primosole (10 m s.l.m.). La semina è avvenuta il 30/01/14. Sono stati somministrati 0,3 t ha⁻¹ di fosfato bi ammonico

presemina e $0,1\text{t ha}^{-1}$ di nitrato ammonico in copertura. Il controllo delle infestanti è stato effettuato con Manta Gold e Traxos. La raccolta è stata effettuata nella seconda decade di giugno.

I campioni saranno di seguito identificati come Primosole A-14 in riferimento del campione prelevato ad Raddusa e Primosole V-14 in riferimento del campione prelevato a Villarosa.

È stata studiata la componente volatile della Timilia allevata in ambienti diversi. Il concetto di ambiente è da intendersi "*sensu lato*" in quanto sono stati messi a confronto contemporaneamente località, anni e regimi colturali differenti.

Sia il campione prelevato a Raddusa sia quello proveniente da Villarosa avevano la stessa origine in quanto forniti dalla Stazione consorziale di Granicoltura di Caltagirone.

5.4. Elaborazioni statistiche

I dati ottenuti dai singoli esperimenti sono stati sottoposti all'analisi della varianza utilizzando programma CoHort.CoStat. Le medie sono state confrontate per mezzo della DMS.

Per la caratterizzazione delle vecchie varietà siciliane è stata effettuata l'analisi delle componenti principali (PCA).

6. ANDAMENTO TERMOPLUVIOMETRICO

Durante le annate in cui sono state effettuate le prove agronomiche sono stati raccolti i dati relativi alle temperature massime, minime e medie mensili ai valori mensili delle precipitazioni.

In località Primosole i dati sono stati rilevati dalla stazione Weather Underground sita presso il polo industriale di Catania (Alt.18m; 37.45°N,15.04°E) sia per l'annata agraria 2012-13 che per la successiva 2013-14.

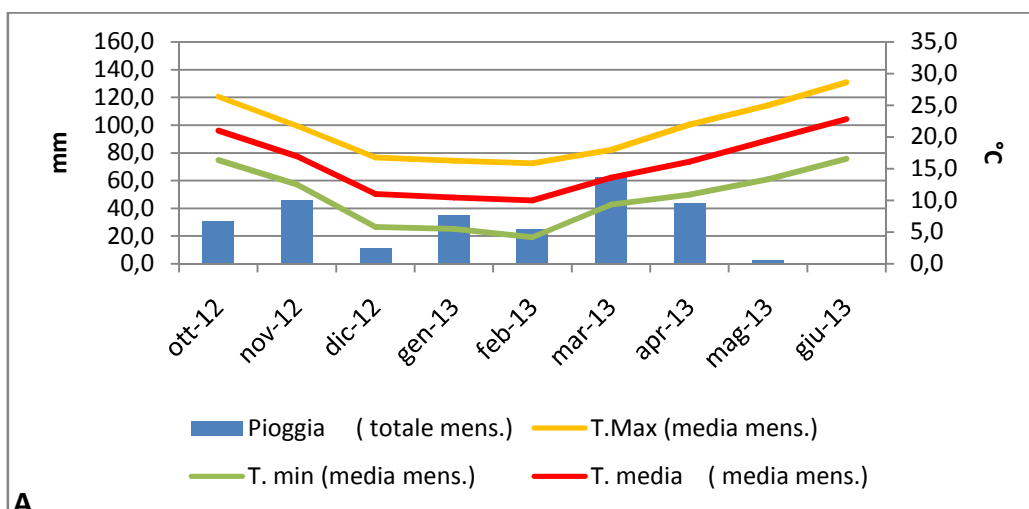
I dati meteorologici delle località Raddusa e Villarosa sono stati rilevati dalle stazioni meteorologiche del Servizio Informativo Agrometeorologico Siciliano (SIAS).

L'andamento termopluviometrico registrato nel corso dell'annata agraria 2012-13 è stato caratterizzato da temperature basse, precipitazioni di modesta entità e mal distribuite durante il ciclo biologico della coltura. L'annata successiva, invece, è stata caratterizzata da un andamento meteorico generalmente mite, con una piovosità relativamente ben distribuita durante il ciclo colturale. Le piogge autunnali hanno consentito una corretta esecuzione della semina e un'emergenza regolare delle piantine.

In località Primosole (CT) nel periodo compreso tra ottobre e giugno delle due annate di prova (2012-13 e 2013-14) sono state registrate precipitazioni pari rispettivamente a 256 e a 297 mm. La piovosità minima è stata registrata in dicembre e in maggio nella prima annata in oggetto e in ottobre e maggio nella seconda. I mesi più piovosi sono stati marzo e aprile (62 e 43 mm

rispettivamente) nell'annata 2012-13 e dicembre nell'annata successiva (82,5 mm) (fig. 6.1 a-b).

Il 2012-13 è stato più freddo rispetto al successivo: le temperature minime hanno sfiorato i 4°C nel mese di febbraio con escursioni termiche intorno ai 10°C. Nella seconda annata agraria come sopra detto, la stagione invernale è stata più mite, senza minime termiche particolarmente rigide. Nessuna differenza sostanziale è stata registrata fra le due annate nei periodi in cui si sono verificate la levata, la botticella e la spigatura



A

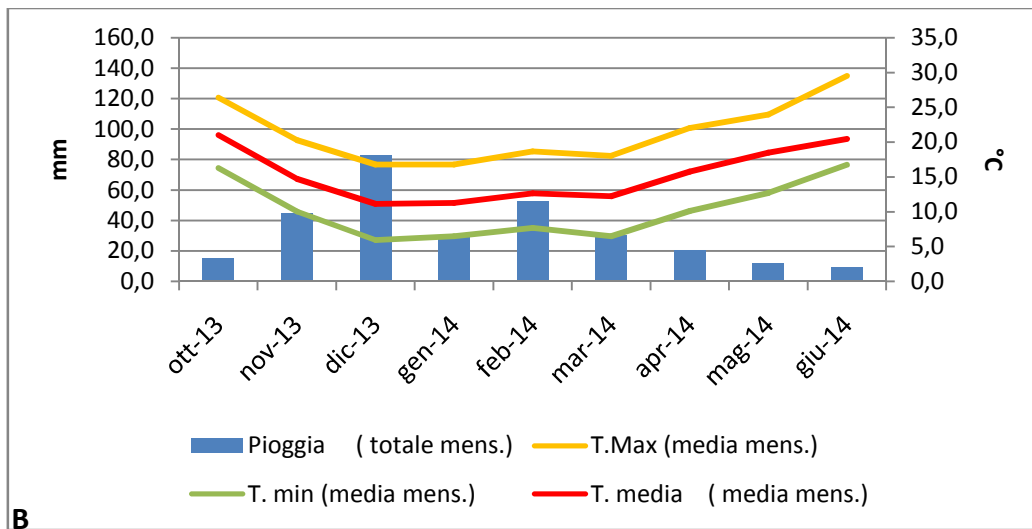


Figura 6.1. Temperature e precipitazioni nella località Primosole A) 2012-13e B) 2013-14.

Fonte: Weather Underground

Come mostra la fig. 6.3 a-b, la località Raddusa è stata caratterizzata da un livello di precipitazioni che nel periodo in cui era in atto la coltura (novembre-luglio) sono state pari a 507,20 e 488,40 mm rispettivamente nel primo e nel secondo anno di prova. Durante il primo anno le precipitazioni sono state presenti anche in corrispondenza delle fasi di levata e botticella quando la coltura ha maggiori esigenze idriche.

Nel secondo anno l'andamento pluviometrico è stato caratterizzato da una maggiore regolarità e da temperature più elevate rispetto all'anno precedente.

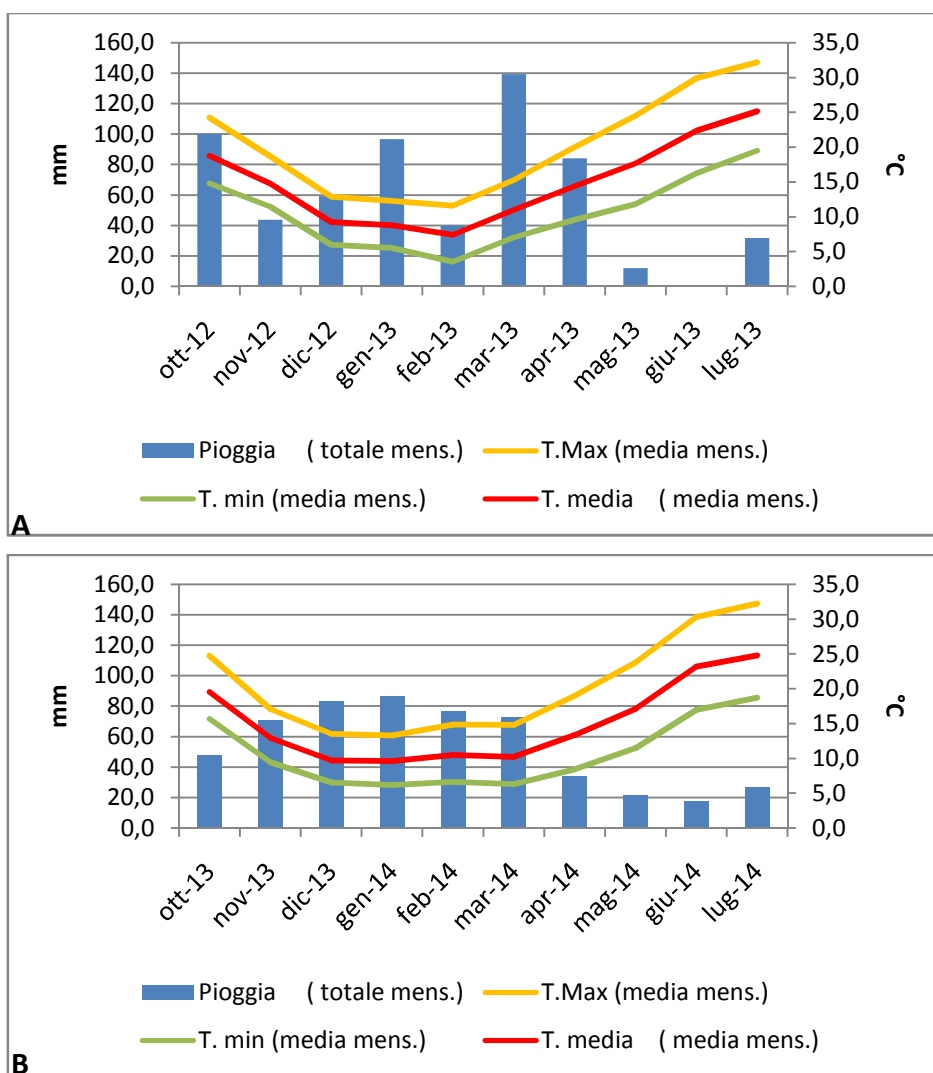


Figura 6.2. Temperature e precipitazioni nella località Raddusa A) 2012-13 e B) 2013-14.

Fonte:Sias

Nella località Villarosa le precipitazioni sono state pari a 352,4 a 453,6 mm rispettivamente nel primo e nel secondo anno. Durante il primo anno come nelle altre località, l'andamento delle precipitazioni non è stato regolare. Esse sono state più abbondanti nei mesi di gennaio e nel marzo 2013, sempre presenti in quantità significative tra ottobre e marzo nel 2014. In entrambe le annate sono state registrate piogge anche nel mese di luglio. Come si evince dall'esame della

fig. 6.2 a e b, anche per questa località, il primo anno è stato caratterizzato da temperature minime più basse che hanno sfiorato gli 0°C nel mese di febbraio.

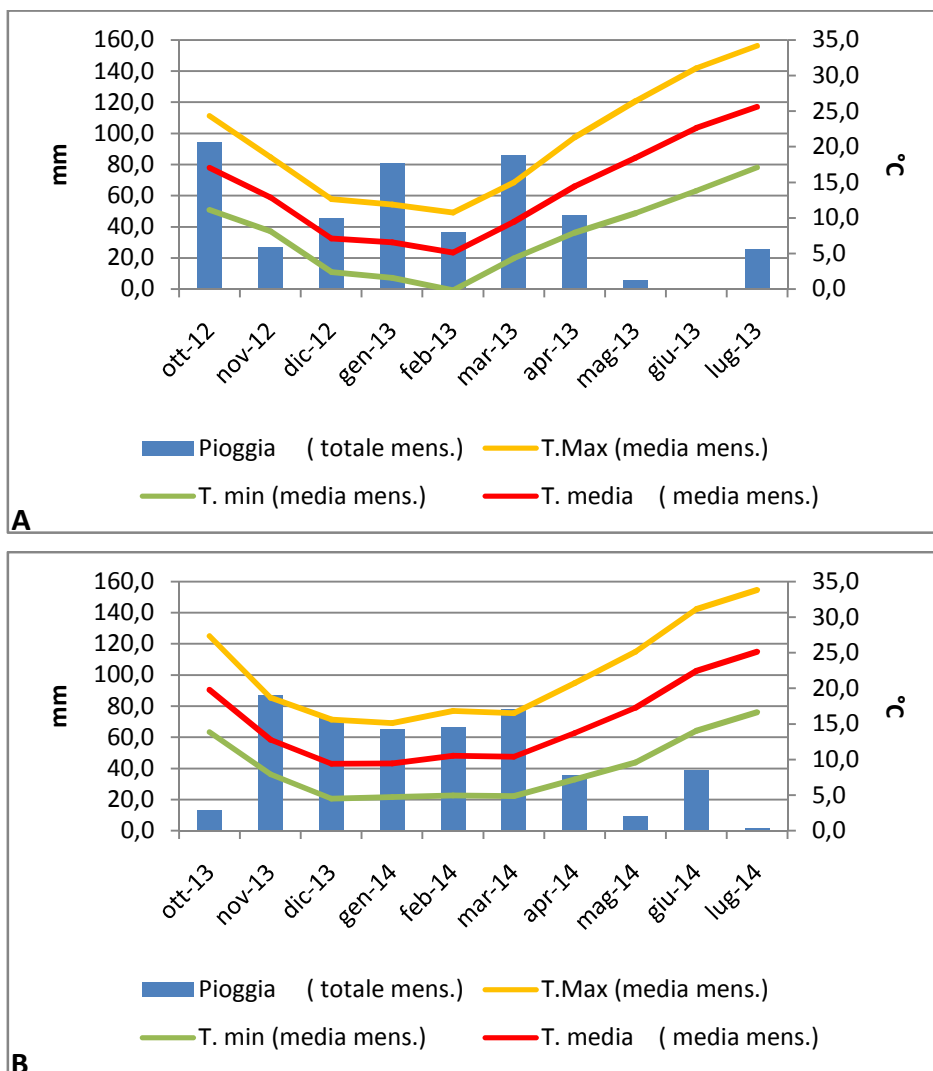


Figura 6.3. Temperature e precipitazioni nella località Villarosa A) 2012-13 e B) 2013-14.

Fonte:Sias

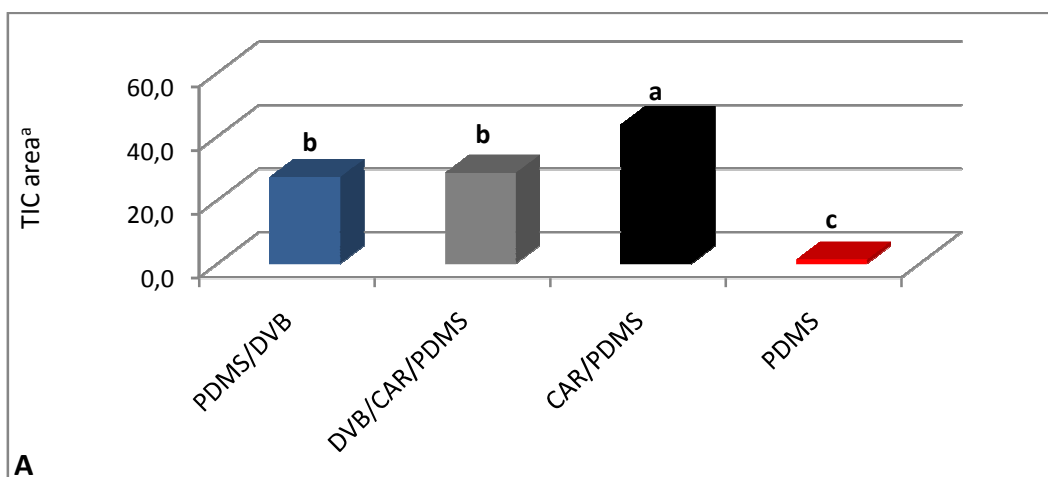
7. RISULTATI E DISCUSSIONI

7.1. La messa a punto del metodo di estrazione delle sostanze volatili

7.1.1. La scelta della fibra

Le fibre saggiate hanno mostrato “performance” estrattive significativamente diverse.

Come mostrato in fig. 7.1A la più alta resa cromatografica è stata registrata per la fibra CAR/PDMS. Le fibre PDMS/DVB e DVB/CAR/PDMS hanno estratto 37,8% e 34,8% in meno rispetto alla fibra CAR/PDMS mentre la fibra PDMS ha prodotto la più bassa area cromatografica pari al 3% della resa ottenuta con CAR/PDMS. Anche il numero medio dei picchi (fig. 7.1B) è stato il più basso con la PDMS mentre il più alto è stato registrato per la fibra CAR/PDMS (49,6).



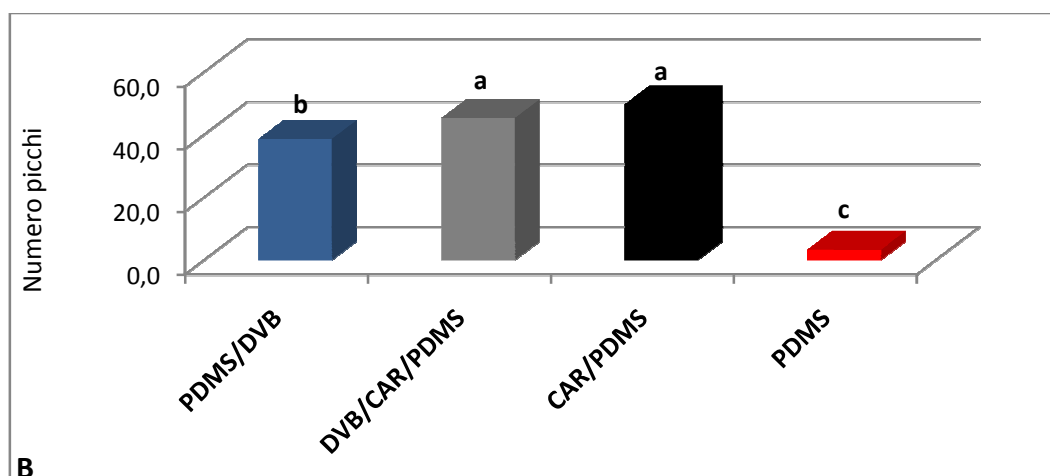


Figura 7.1. Performance estrattive delle fibre saggate: A) area cromatografica; B) numero di picchi.

^a TIC area /10E+07.

Il comportamento delle diverse fibre è da attribuire alle proprietà dei rivestimenti (struttura del polimero che compone il rivestimento) e della loro affinità con gli analiti di diverso peso molecolare (Shirey, 2000b, Pawliszyn, 1999, 2000). La scarsa resa estrattiva della fibra PDMS può essere spiegata con la capacità di estrarre soprattutto composti non polari, essendo costituita da una fase non polare. Le altre tipologie di fibre bi-polari, che sono rivestite di fasi eterogenee (PDMS/DVB, CAR/PDMS) (Pawliszyn, 1999), sono preferibilmente utilizzate per l'estrazione di composti semi volatili e/o di grandi dimensioni come le ammine (PDMS/DVB) (Pawliszyn, 2012, Supelco SPME Application Guide) o di differente polarità (DVB/CAR/PDMS) (Mariani, 2013).

La fibra CAR/PDMS, che ha dimostrato una più marcata sensibilità estrattiva di molecole di ridotte dimensioni e di basso peso molecolare, è stata utilizzata per

la messa a punto del protocollo di estrazione delle sostanze volatili dal frumento duro.

I composti così estratti sono stati classificati in 11 classi chimiche: aldeidi, alcoli, chetoni, alcani, alcheni, idrocarburi aromatici, terpeni, acidi, idrocarburi eterociclici (tab 7.1). Aldeidi ed alcoli sono stati i composti più rappresentati a differenza di alcheni, acidi e idrocarburi eterociclici ed aromatici il cui tasso di estrazione è stato significativamente diverso in rapporto alle fibre allo studio.

Tabella 7.1. Composizione della frazione volatile estratta dalle fibre saggiate

Classi chimiche	TIC area ^a		
	CAR/PDMS	DVBCAR/PDMS	PDMS/DVB
Aldeidi	10.0	7.1	7.4
Alcoli	20.2 a	10.8 b	9.5 b
Chetoni	0.9	0.8	3.3
Alcani	1.5	1.1	1.9
Alcheni	0 b	0.5 b	1.2 a
Idrocarburi aromatici	2.1 a	1.0 b	0.6 b
Terpeni	0.4	0.8	1.0
Acidi	4.5 a	2.1 b	1.5 b
Idrocarburi aliciclici	0.3	0.7	0.1
Idrocarburi eterociclici	2.2 a	1.0 b	0.7 b
Esteri	0.7	0.4	0.5

^a TIC area /10E+07. Lettere diverse nelle righe indicano differenze significative ($P \leq 0.05$).

A seguito dei risultati scadenti ottenuti con la fibra PDMS si è ritenuto opportuno non prenderla in considerazione per la fase di selezione di tempi e temperature idonee per l'estrazione.

7.1.2. La scelta di tempo e temperatura di estrazione

Sulla base dei risultati riportati nella fig. 7.2, la condizione scelta per l'estrazione dei composti volatili in cariossidi di grano duro è stata 60 °C per 90 minuti sebbene la resa di estrazione fosse maggiore a 80°C.

È noto che temperature più elevate favoriscono il rilascio degli analiti più pesanti nello spazio di testa. D'altra parte le alte temperature promuovono la formazione di composti artificiali, che quindi alterano la composizione della naturale frazione volatile della matrice. In accordo con Lord *et al.* (2000), i risultati ottenuti dimostrano che il tempo di esposizione della fibra nello spazio di testa per 90 min a 60°C è sufficiente a raggiungere le condizioni di equilibrio e che l'aumento del tempo di estrazione fino a 120 min non riporta un incremento significativo nella resa estrattiva.

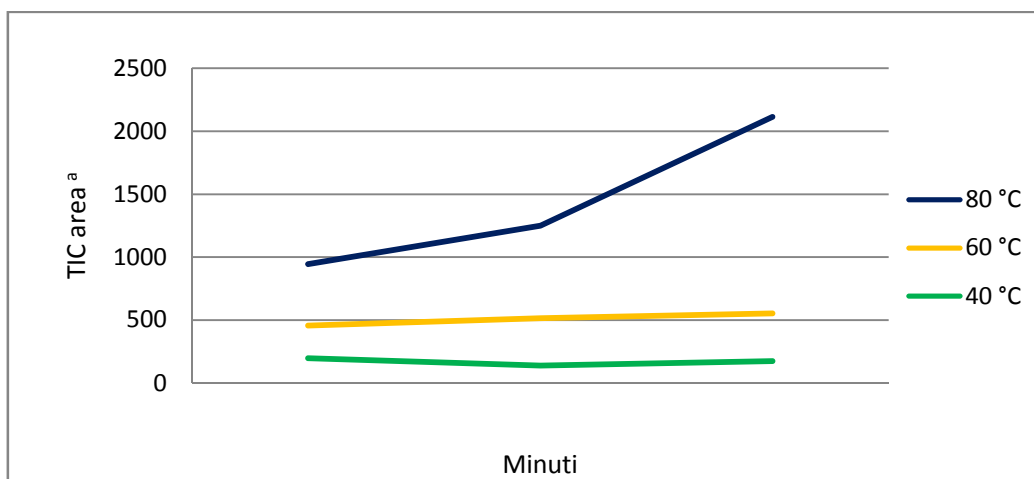


Figura 7.2. Tempi e temperature di estrazione.

^a TIC area /10E+07.

7.1.3. Confronto varietale per l'ottimizzazione del metodo

Il confronto tra i profili aromatici delle quattro cultivar oggetto di studio ha messo in luce differenze significative (tab. 7.2).

Tabella 7.2. Area cromatografica totale e numero dei picchi dei genotipi allo studio

	TIC area ^a	Numero picchi
Anco Marzio	203,5 ab	72 b
Duilio	118,7 b	72,5 b
Sculptur	286,0 a	101 a
Orizzonte	175,4 b	88,5 ab

^a TIC area /10E+07. Lettere differenti in colonna indicano differenze significative.

In particolare, Sculptur è caratterizzata dalla più alta resa cromatografica ed elevato numero di picchi, Duilio e Orizzonte mostrano un'area cromatografica più bassa del 58,5 e 38,6% rispettivamente, mentre una minima riduzione non significativa all'analisi statistica dell'area cromatografica totale rispetto a Sculptur, è stata osservata per Anco Marzio.

Le classi chimiche più rappresentate sono aldeidi, alcoli ed alcani che assieme formano dal 73 a 83% dei composti volatili totali.

Nonanale e esanale, seguito da 3-metile butanale, eptanale e altri composti omologhi alla serie C4-C12 sono le principali aldeidi rilevate, esanolo e 3-metile butanolo sono i principali composti tra gli alcoli; tridecano ha l'area cromatografica più alta tra gli alcani. Chetoni, alcheni, idrocarburi aromatici ed eterociclici contribuiscono per il 14-24% all'area cromatografica totale. La classe

chimica degli acidi, soprattutto acido esanoico, varia da 0,8 a 4,6% mentre terpeni ed esteri sono stati trovati in tracce in tutte le varietà. Queste ultime classi di volatili, comunemente inclusi tra i più importanti composti dell'odore in parecchie matrici vegetali, non sono caratterizzanti l'aroma del frumento a differenza dei composti sopra menzionati. I dati sono in accordo con i risultati di Beleggia *et al.*,(2009) la quale ha trovato minime quantità di α -pinene tra i terpeni, in quattro campioni di semolina di grano duro, e ha riscontrato esteri in un solo campione sui quattro saggiati. Tra le classi più rappresentative aldeidi e alcani sono stati rilevati in quantità significativamente differenti nelle cultivar esaminate. Chetoni ed alcheni hanno anche mostrato differenze significative tra le varietà allo studio. Anco Marzio è stato caratterizzato da più alti livelli di aldeidi ed alcheni, Sculptur, invece, ha mostrato le maggiori concentrazioni di alcani e chetoni.

Tra i composti estratti con la fibra CAR/PDMS figurano anche idrocarburi eterociclici ed esteri. I primi non sono stati presi in considerazione in quanto si ipotizza siano prodotti derivati dalla fibra di estrazione, i secondi perché presenti in tracce.

Tab 7.3. Composizione della frazione volatile nelle cultivar saggiate.

	TIC area ^a										
	Aldeidi	Alcoli	Chetoni	Alcani	Alcheni	Terpeni	Acidi	l. aromatici	l. alicyclici	l. eterociclici	Esteri
ANCO MARZIO	77,2 a	54,2	6,9 bc	29,1 b	11,2 a	0,3	2,5	6,5	1,9	5,2	0,0
DUILIO	47,9 bc	23,2	6,1 c	7,2 b	1,1 c	1,0	0,9	4,6	0,1	14,3	1,3
SCULPTUR	56,8 b	79,0	12,8 a	77,0 a	7,1 b	0,7	12,2	8,4	0,5	9,1	1,5
ORIZZONTE	43,4 c	45,3	1,1 ab	31,2 b	3,5 c	0,7	4,0	7,8	0,9	7,1	1,8
	**	ns	*	*	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns

^a TIC area /10E+07. Lettere differenti in colonna indicano differenze significative. *** $P \leq 0.001$; ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$.

7.2. Le vecchie varietà siciliane

7.2.1. Caratterizzazione agronomica e qualitativa

Il ciclo colturale dei genotipi studiati è stato più breve in Russello, Sicilia e Trinakria rispetto a quello delle Timilia e del Margherito (173 contro 179 giorni, in media). Questa differenza di precocità pari, in media, a sei giorni a vantaggio dei primi tre genotipi si è sostanzialmente estrinsecata come anticipo della spigatura. La fase spigatura-maturazione, invece, è stata più corta per le Timilia e il Russello e più lunga per le altre varietà raggiungendo la massima durata in Margherito.

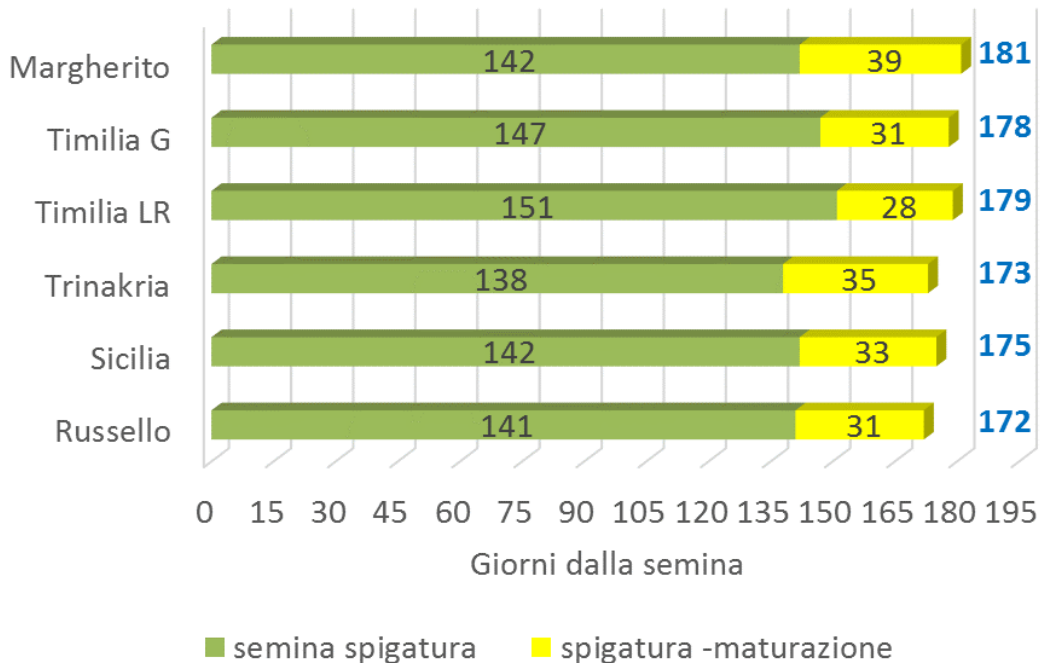


Figura 7.3. Intervallo semina-spigatura e spigatura-maturazione

L'altezza della pianta è risultata significativamente più elevata per Timilia LR e Sicilia. L'altezza di Russello non si è statisticamente distinta, sia da quella di Sicilia che da quella di Timilia G. Apprezzabilmente più basse sono risultate le piante di Margherito e ancor più quelle di Trinakria (fig. 7.4).

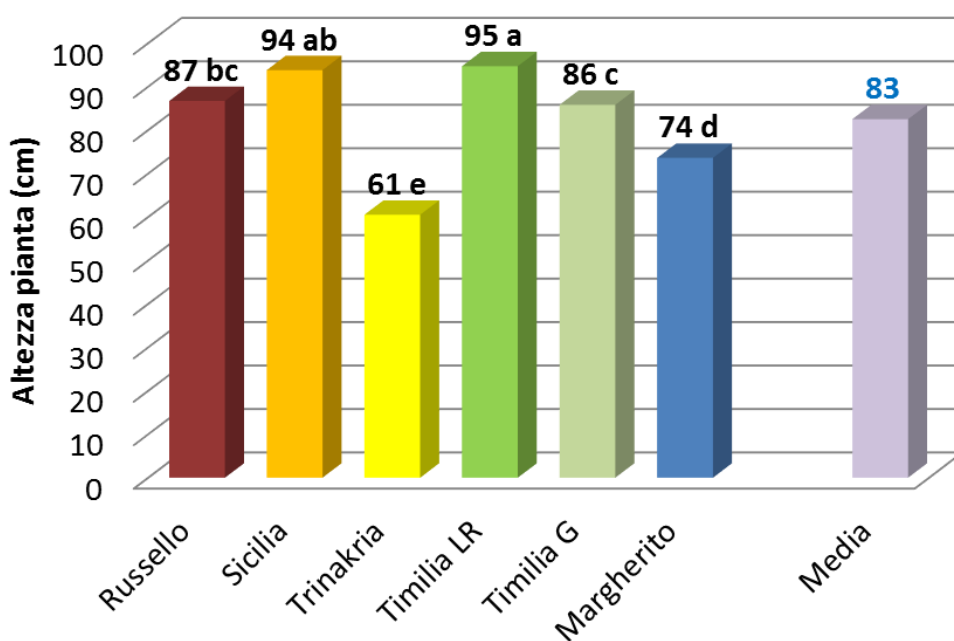


Figura 7.4. Altezza della piante delle cultivar allo studio

Tra le componenti della resa, il numero di spighette per spiga è risultato significativamente in basso per Timilia LR rispetto a quello indifferenziato delle altre cultivar (fig.7.5).

Il numero di spighette fertili per spiga è risultato significativamente maggiore in Russello, ma anche Trinakria, Timilia G e Margherito hanno prodotto un numero di spighette, oltre che simile tra loro, statisticamente non diverso sia rispetto a

quello della precedente cultivar che da quello di Sicilia. Timilia LR ha prodotto il numero più basso di spighe fertili (fig. 7.6).

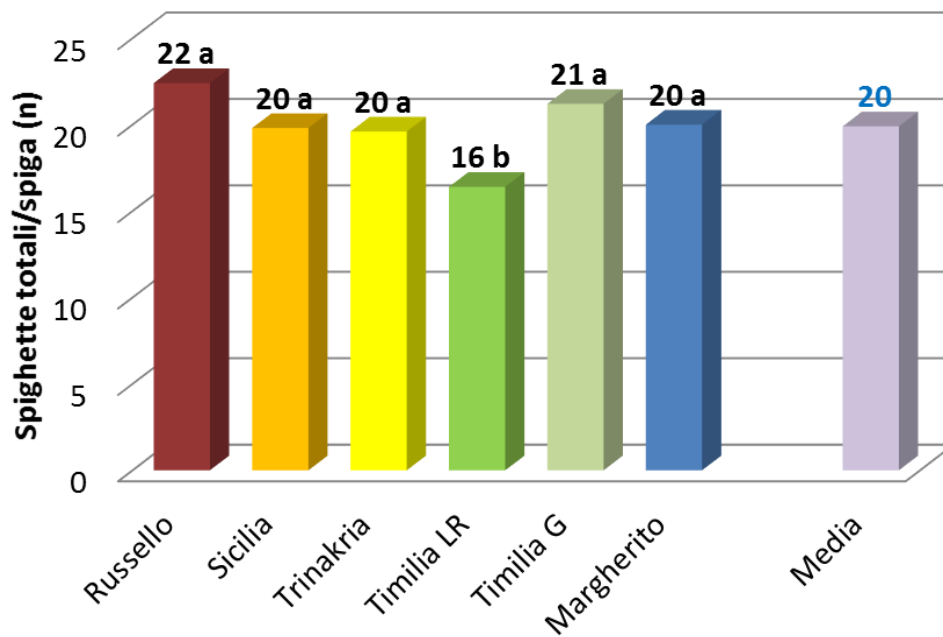


Figura 7.5. Numero di spighe totali per spiga

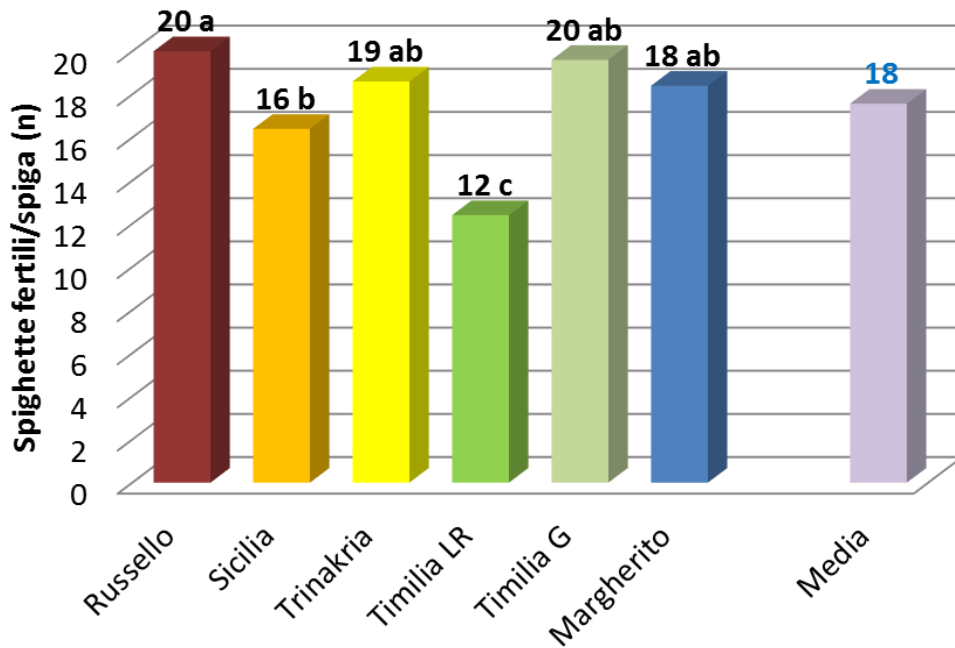


Figura 7.6. Numero di spighette fertili per spiga

Il numero di cariossidi per spiga è risultato significativamente maggiore in Russello, seguito da Trinakria e Timilia G, i quali a loro volta non si sono differenziati né da Sicilia e Margherito, né da Timilia LR, che ha presentato il valore più ridotto (fig. 7.7).

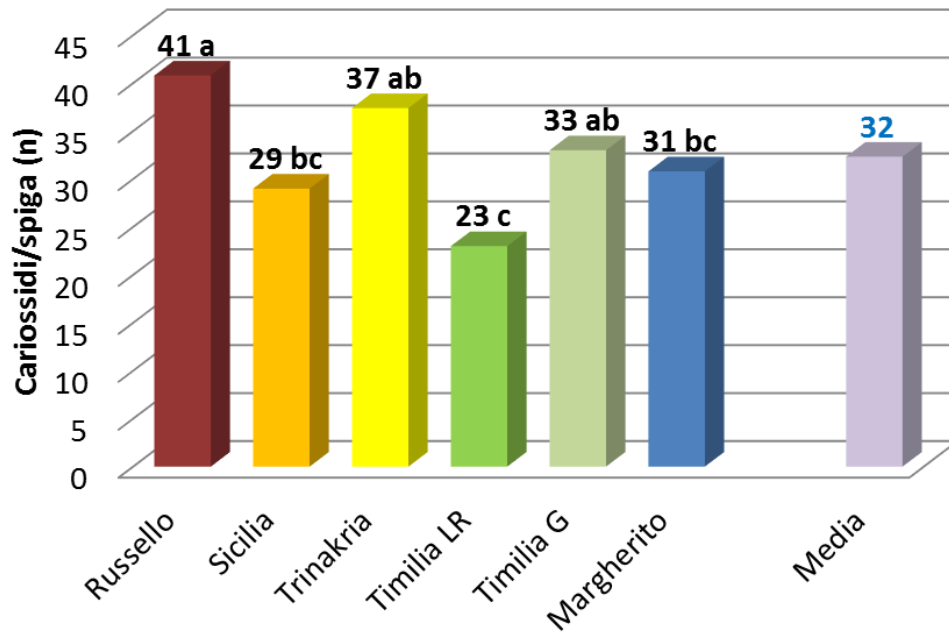


Figura 7.7. Numero di cariossidi per spiga

Il peso 1000 cariossidi è stato significativamente più elevato nella cultivar Margherito, più ridotto per Russello e Sicilia con valori simili tra loro, e ancora più basso per le due Timilia con valori anch'essi simili. Il peso assoluto minimo delle cariossidi è stato osservato per Trinakria (fig. 7.8).

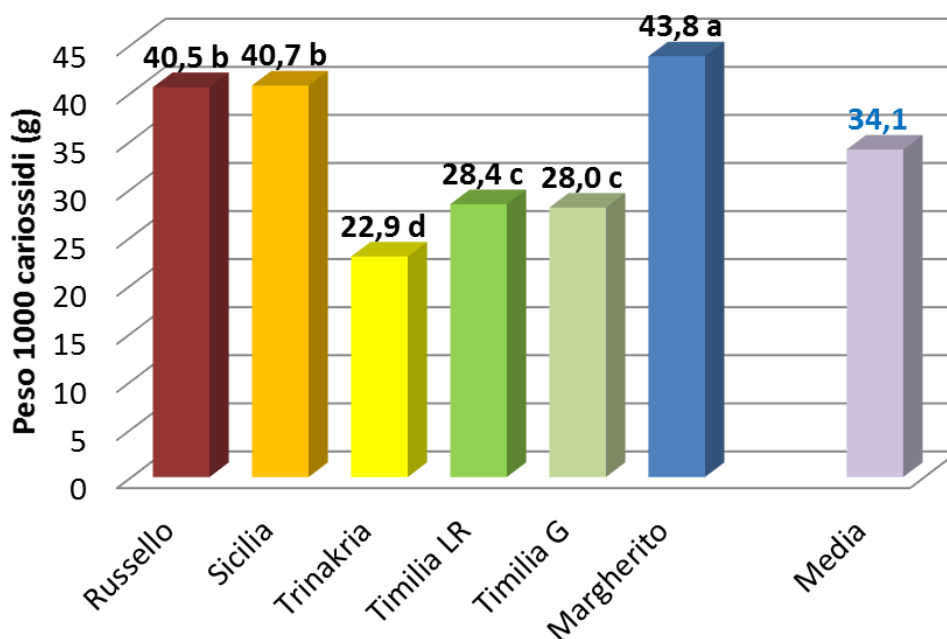


Figura 7.8. Peso 1000 semi

Per il contenuto proteico della granella sono emerse differenze significative, con valori più elevati per Timilia LR, lievemente, ma statisticamente più ridotto per Timilia G e, nell'ordine, ancora più bassi per Margherito, Russello, Sicilia e Trinakria (fig. 7.9).

Il contenuto di amilosio significativamente più alto e indifferenziato è stato riscontrato in Russello e Timilia LR, seguite in ordine decrescente da Margherito, con valore non diverso dal precedente, e da Sicilia, Trinakria e Timilia G, con valori statisticamente simili tra loro (fig. 7.10).

Di contro, per il contenuto di amilopectina Timilia G si è distinta dalle altre varietà per il valore più alto. Il livello di questo costituente è risultato più ridotto in Sicilia e Trinakria, con valori non dissimili tra loro, ed è stato trovato ancora più

basso nelle cultivar Margherito e Timilia LR, riducendosi ulteriormente in Russello (fig. 7.11).

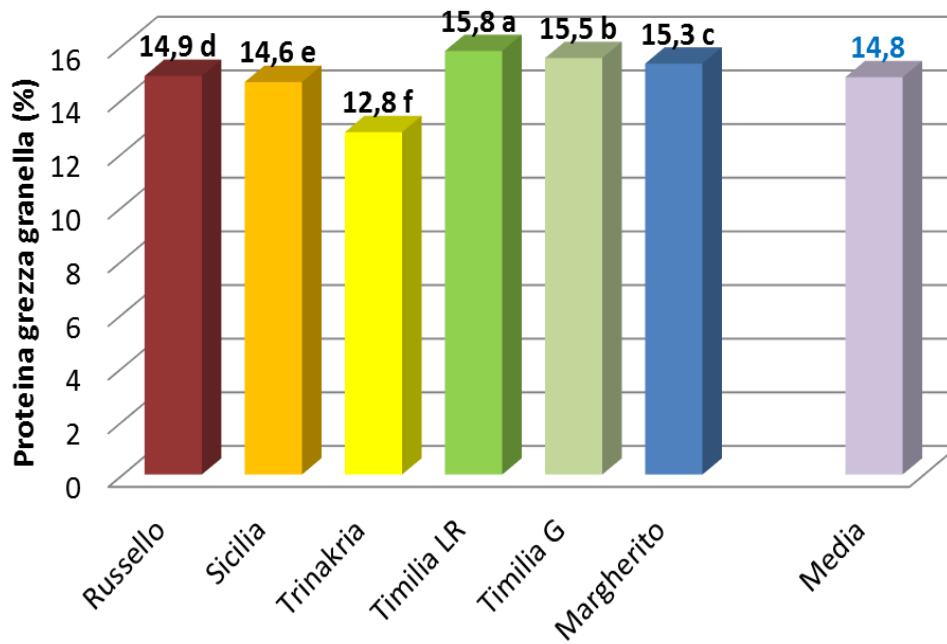


Figura 7.9. Contenuto in proteina grezza

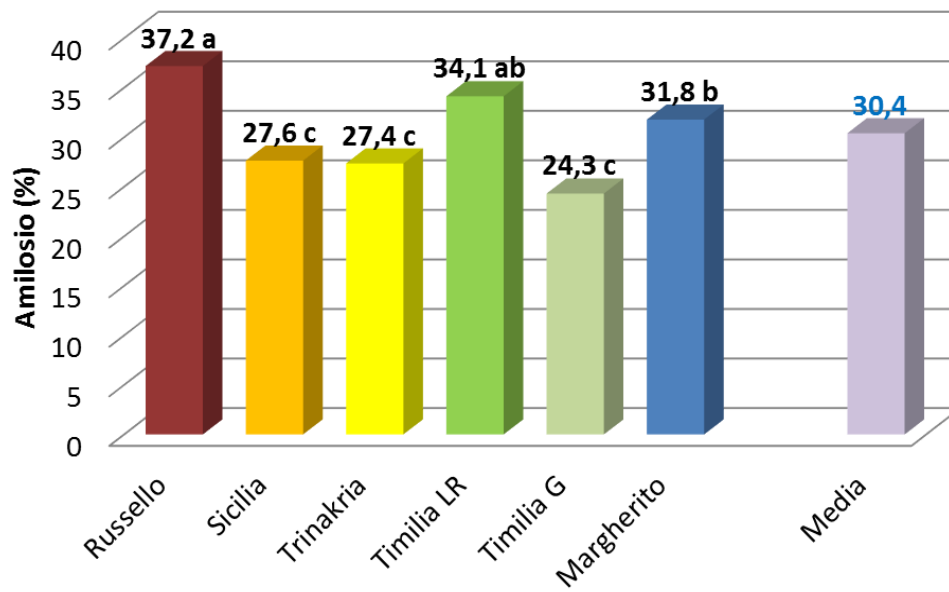


Figura 7.10. Contenuto in amilosio

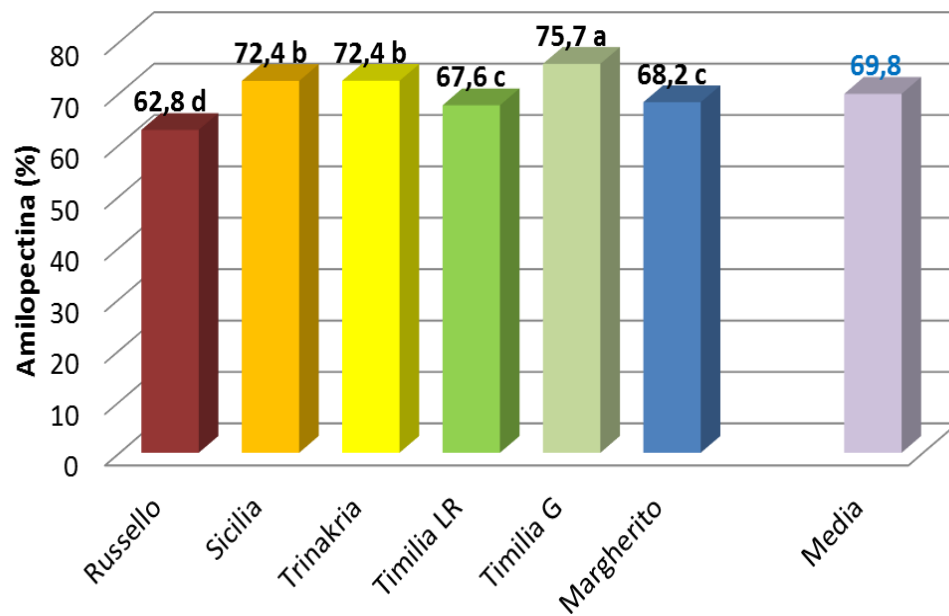


Figura 7.11. Contenuto in amilopectina

La concentrazione di β -glucani, in media, in linea con quella tipicamente osservata per il frumento duro, è risultata più alta nello sfarinato di entrambe le Timilia. Anche il contenuto di tali composti riscontrato per Sicilia e Trinakria, benché lievemente più basso rispetto a quello della precedenti varietà, si è attestato su valori statisticamente simili. Questi ultimi, tuttavia, non sono risultati diversi da quello di Margherito, a sua volta indifferenziato dal valore più ridotto accertato per Russello (fig. 7.12).

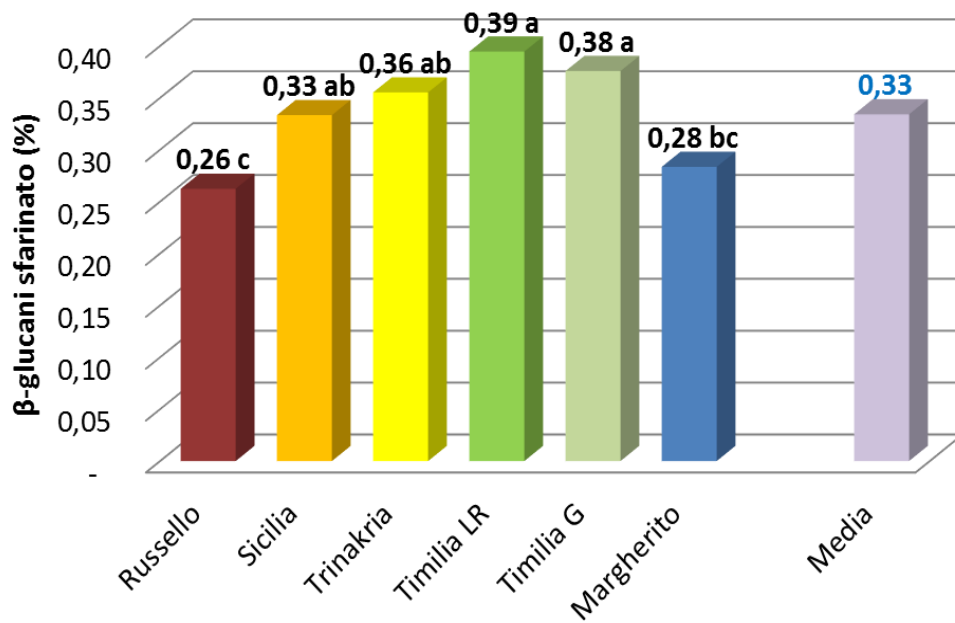


Figura 7.12. Contenuto in β -glucani

7.2.2. Caratterizzazione morfologica

L'esame delle caratteristiche morfologiche delle varietà tradizionalmente coltivate in Sicilia, per alcuni aspetti ha messo in luce discrepanze di entità diversa rispetto alla descrizione operata da De Cillis, Prestianni, Ballatore e Baldoni e Toderi (o.c.).

Per tutte le varietà analizzate, nelle antiche descrizioni, veniva riportata la forma della spiga come "fusiforme". I risultati della descrizione delle stesse provenienti dalla coltivazione nell'annata agraria 2012-13, fanno propendere per una forma a "bordi paralleli". Questa differenza è con ogni probabilità dovuta alla più elevata fertilità della spiga in assenza di spigette apicali sterili.

Il colore delle reste nel Russello e nel Margherito non coincide con la descrizione degli autori sopra riportati. Nelle spighe da noi analizzate il Russello presenta reste brune con apice chiaro e il Margherito di colore bianco.

Il colore bruno rilevato per le ariste di altri genotipi è comunque coincidente con il nero riportato nella caratterizzazione dello scorso secolo perché nell'ambiente in cui sono state allevate le popolazioni analizzate, l'innalzamento repentino delle temperature nella tarda primavera non permette alle ariste nere di esprimere a pieno tale colore.

L'espressione del carattere lunghezza delle reste nelle vecchie descrizioni è di tipo qualitativo (lunghe o medie); nella descrizione attuale è invece riportato il valore in cm. Poiché per tutti i genotipi non sono stati accertati valori inferiori ai

15 cm e fino a 25 cm (Russello) le reste possono essere classificate come “lunghe”.

Maggiore difficoltà sono state accertate nel definire lunghezza e forma della spalla e caratteristiche del mucrone che solo in alcuni casi coincidono con la descrizione del De Cillis e di altri autori.

Tabella 7.4. Caratterizzazione morfologica: caratteri del culmo

Caratteri del culmo		
	LUNGHEZZA INTERNODO (cm)	STADIO PIENEZZA CULMO
Russello	41,5	pieno
Margherito	13,88	pieno
Sicilia	35,7	pieno
Trinakria	36,8	pieno
Timilia LR	30,4	pieno
Timilia G	40,4	pieno

Tabella 7.5. Caratterizzazione morfologica: caratteri della spiga

Caratteri della spiga					
	COMPATTEZZA lunghezza 10 articoli (cm)	FORMA	COLORE	COLORE ARISTE	LUNGHEZZA ARISTA (cm)
Russello	4,34	bordi paralleli	rosso pallido	bruno alla base, bianca nella porzione terminale	22,875
Margherito	3,36	piramidale	bianco	bianco	15
Sicilia	3,86	bordi paralleli	bianco	bianco	19,5
Trinakria	3,52	bordi paralleli	bianco	bianco	16,1
Timilia LR	4,44	bordi paralleli	bianco	bianco	18,74
Timilia G	4,625	bordi paralleli	bianco	bruno	19,125

Tabella 7.6. Caratterizzazione morfologica: caratteri della spighetta

	Caratteri della spighetta			
	SPALLA		MUCRONE	
	FORMA	LARGHEZZA (mm)	FORMA	LUNGHEZZA mm
Russello	inclinata	stretta	dritta	3,12
Margherito	arrotondata	stretta	leggermente arcuato	2,26
Sicilia	inclinata	stretta	semiarcuato	3,06
Trinakria	inclinata	stretta	leggermente arcuato	2,46
Timilia LR	dritta	media	dritto	1,98
Timilia G	elevata	media	leggermente arcuato	2,34

7.2.3. Dimensione forma e dei granuli di amido

Dall'osservazione al microscopio a scansione elettronica (SEM) dei granuli di amido di tipo A, non sono emerse differenze tali da discriminare le cultivar allo studio (fig. 7.13). Tuttavia Russello e Sicilia hanno mostrato un diametro longitudinale significativamente più elevato di Timilia LR. Il diametro trasversale non è apparso variare in rapporto ai tipi saggiati.

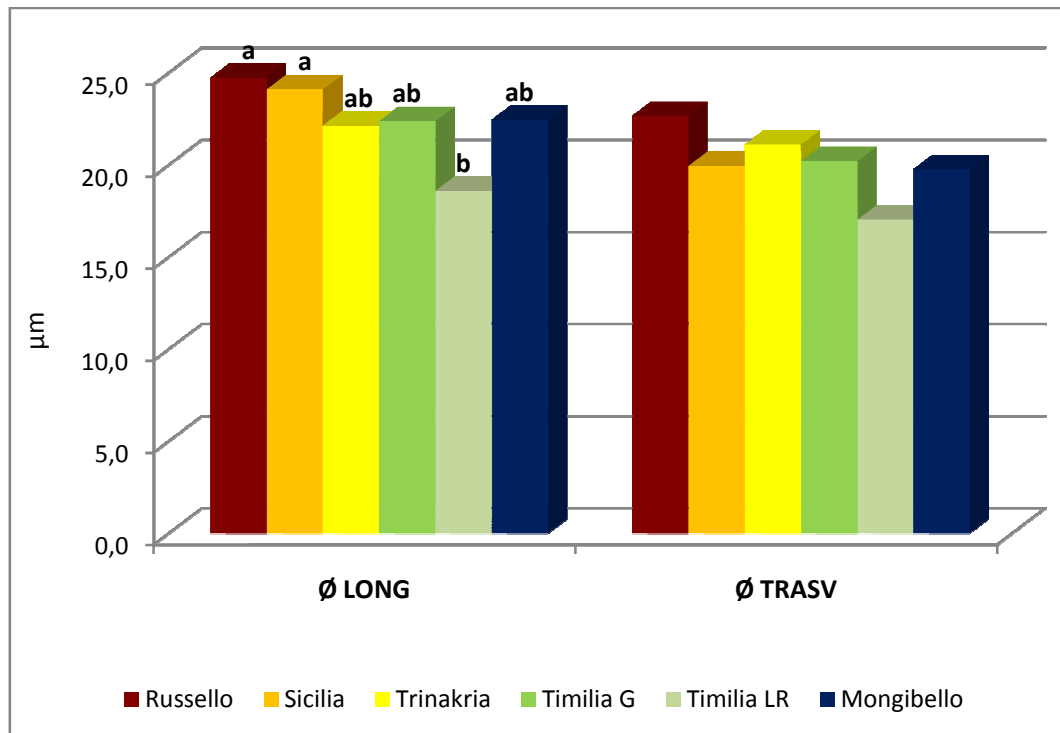


Figura 7.13. Dimensione dei granuli di amido

Il rapporto tra i due diametri ha messo in evidenza che in Sicilia e Mongibello i granuli si presentano più allungati rispetto a Trinakria, varietà in corrispondenza

della quale i due diametri si equivalgono determinando una forma del granulo più tondeggiante (tab. 7.7).

Tabella 7.7. Misura del rapporto tra diametro longitudinale e trasversale

Varietà	Rapporto
Russello	1,11
Trinakria	1,09
Timilia G	1,13
Sicilia	1,25
Timilia LR	1,11
Mongibello	1,20

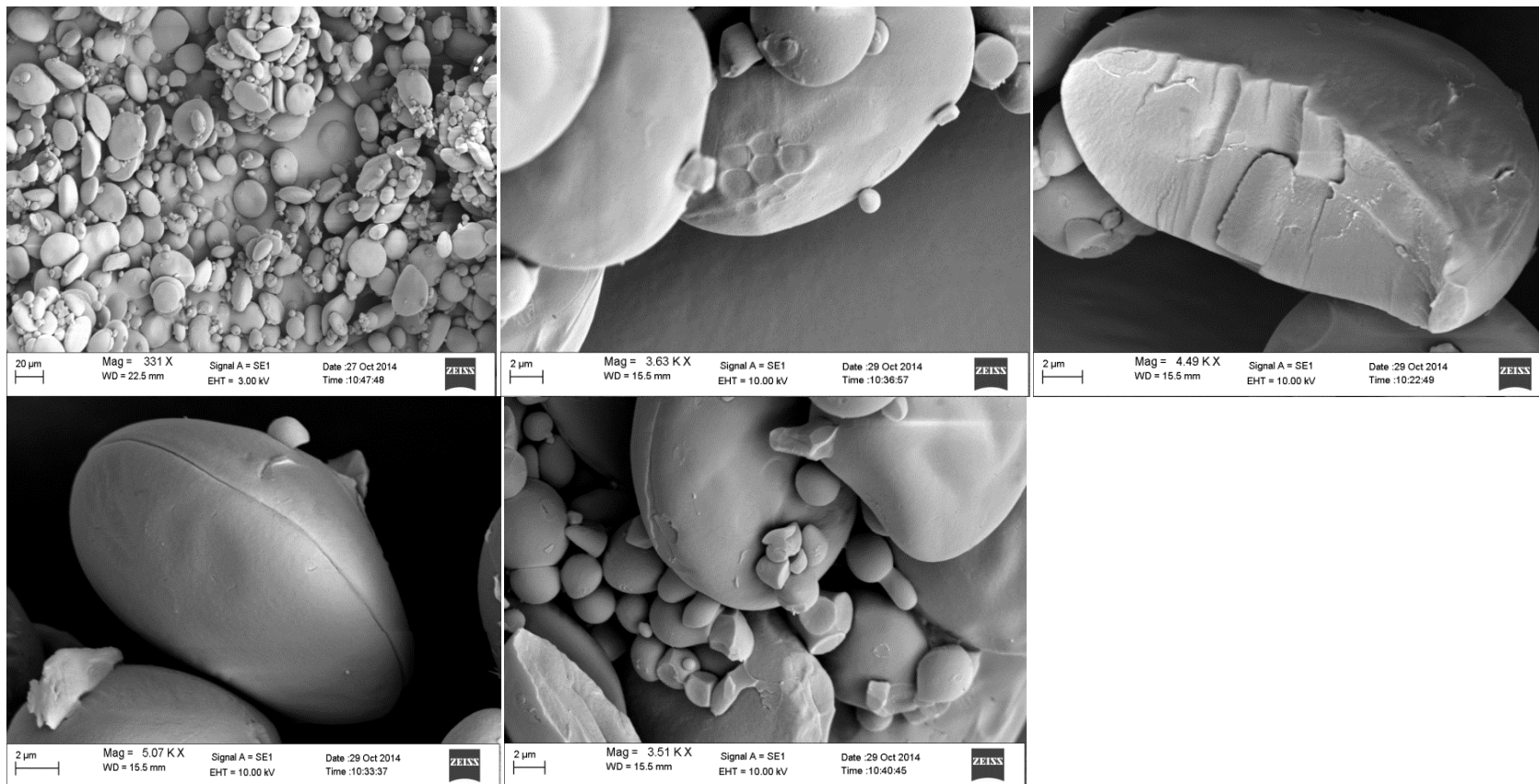
La correlazione determinata tra il rapporto dei diametri dei granuli e il contenuto proteico degli stessi genotipi è risultata negativa e significativa ($r=-0,73^*$). Pertanto è possibile ipotizzare che l'accumulo di proteine interferisca con le dimensioni dei granuli di amido.

Dall'osservazione delle immagini è stato possibile mettere in evidenza il differente rapporto tra le categorie dei granuli amidacei di ciascun genotipo allo studio. La maggior parte dei granuli in Russello e Timilia LR è di tipo A; contrariamente a Sicilia e Trinakria e Timilia G che mostrano una quantità maggiore di granuli, che per le loro dimensioni possono essere classificati come di tipo B o C (fig. 7.14). Presumibilmente ruolo fondamentale nella produzione di granuli delle diverse dimensioni è da attribuire alla durata degli intervalli semina-spigatura e spigatura-maturazione che risulta differente in rapporto alle varietà studiate.

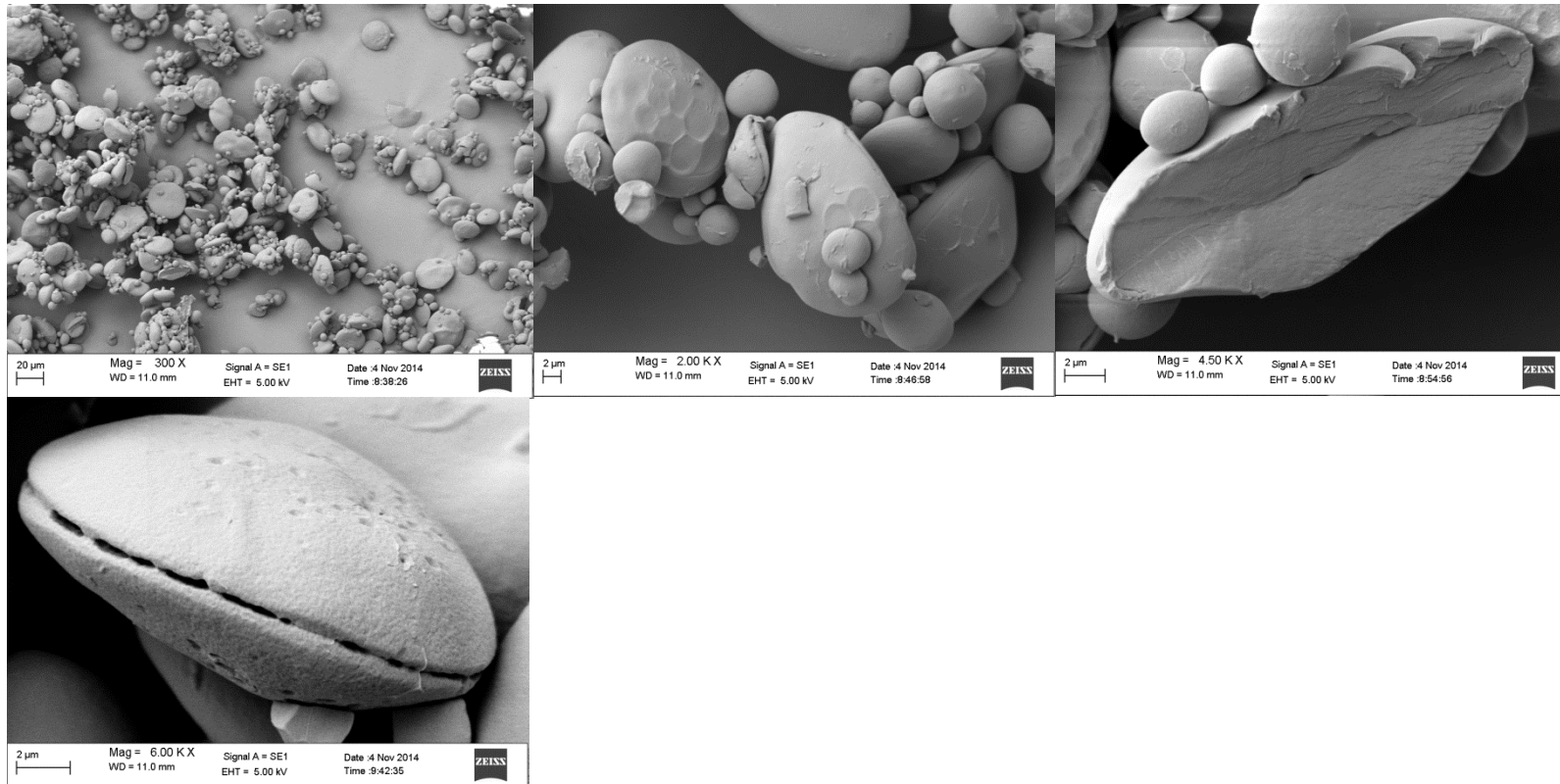
Le immagini hanno, inoltre, messo in luce l'incisione equatoriale che circonda i granuli di tipo A quando questi hanno raggiunto una dimensione specifica oltre la quale la deposizione delle molecole di glucosio continua fino a conferire loro la specifica forma lenticolare (Bechtel e Wilson, 2003) che si nota particolarmente in Trinakria (fig. 7.14).

Dai granuli spezzati è stato possibile osservare gli strati concentrici detti anelli di accrescimento il cui diametro aumenta dall'ilo, considerato il centro di accrescimento, verso la superficie del granulo. Tali strati concentrici contengono alternativamente regioni cristalline di densità maggiore (amilopectina) e regioni amorfe di densità minore (amilosio).

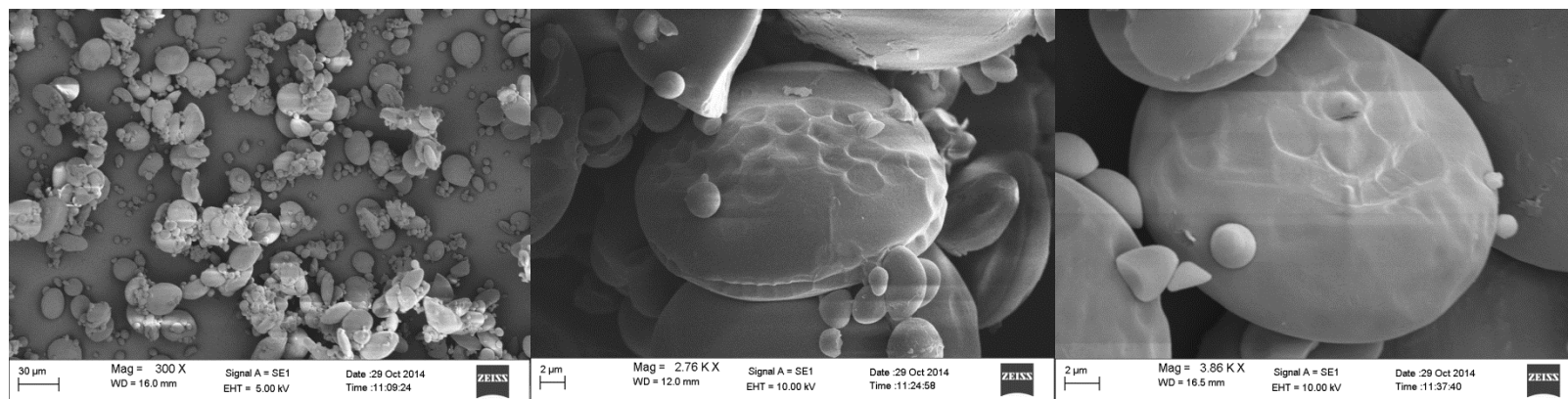
In accordo con quanto rilevato da Brites *et al.*, (2008) è possibile osservare depressioni a forma di esagono regolare che si dispongono in maniera ordinata. È presumibile che tali concavità siano il frutto della pressione esercitata dai granuli di tipo C la cui sintesi, come già detto, è ritardata rispetto ai granuli di tipo A. Ciò è evidente in Russello (fig. 7.14) dove piccoli granuli sono ancora attaccati alla superficie di un granulo di dimensioni notevolmente più elevate. È da sottolineare che in Sicilia e Trinakria le depressioni sono più numerose sulla superficie del granulo a testimonianza della più elevata "hardness" come ipotizzato da Brites *et al* (o.c).



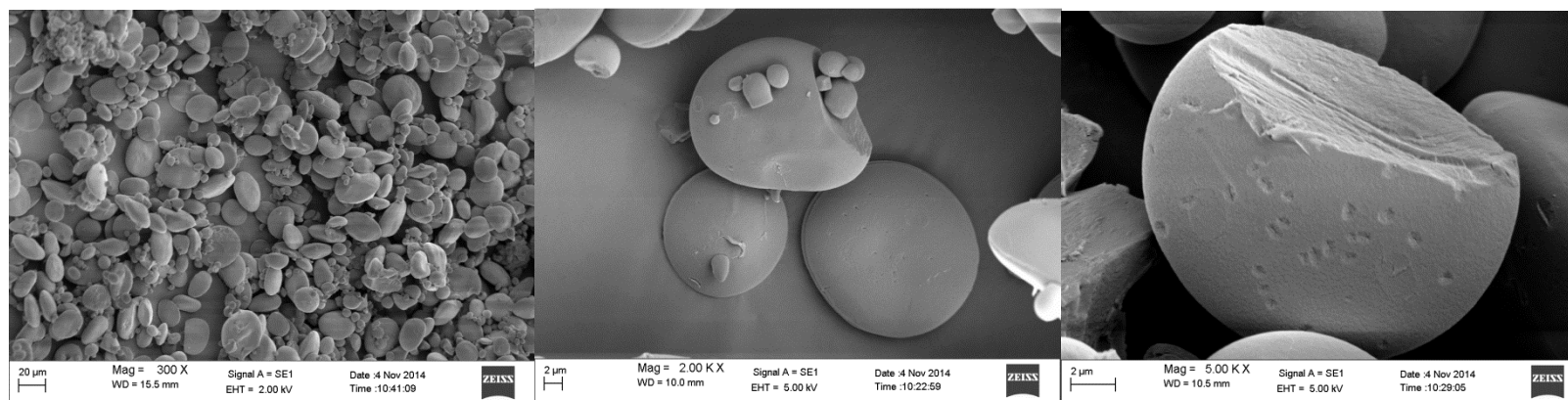
Russello



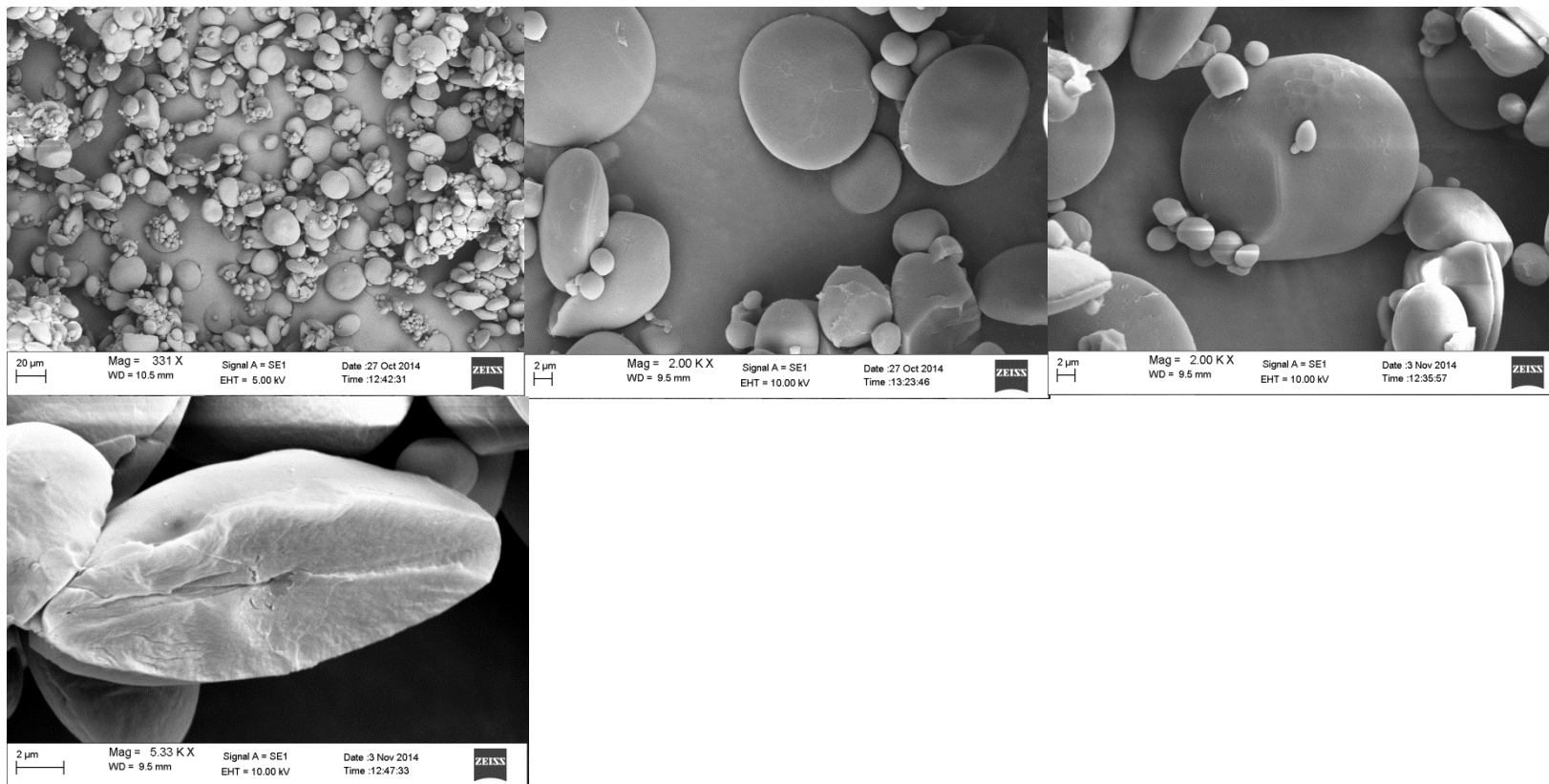
Sicilia



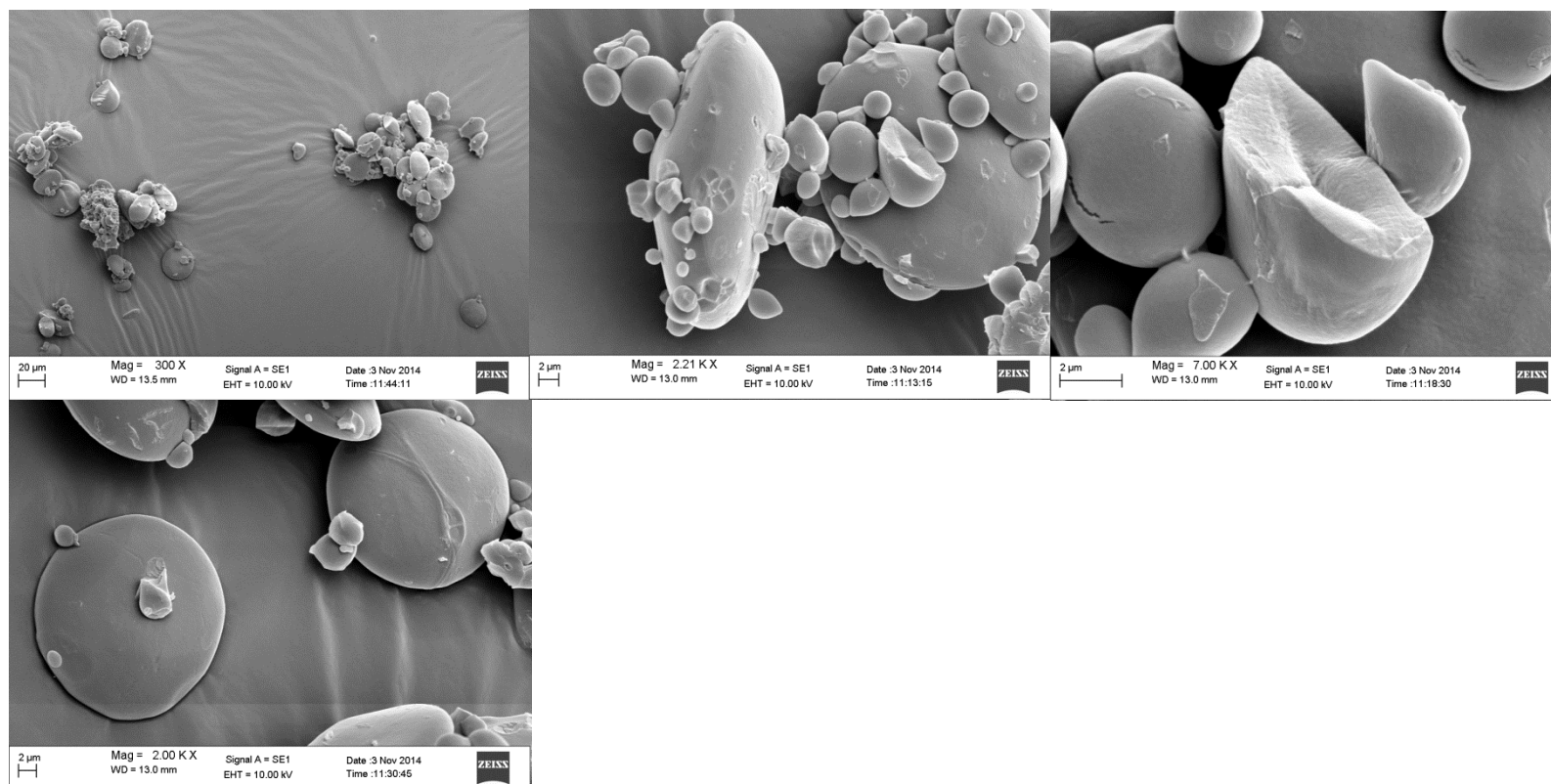
Trinakria



Timilia LR



Timilia G



Mongibello

Figura 7.14. granuli di amido delle varietà allo studio

7.2.4. Le sostanze volatili

L'esame dei valori relativi all'area totale dei composti volatili non ha messo in luce alcuna differenza statisticamente significativa tra i tipi allo studio (tab.7.8). Per quanto concerne il numero di picchi solo Mongibello ha mostrato un numero di composti sensibilmente maggiore rispetto agli altri genotipi.

Tabella 7.8 Area cromatografica totale e numero dei picchi dei genotipi allo studio

	TIC Area ^a	Numero picchi
Margherito R	274,1	53,5 b
Timilia G	245,0	47,5 b
Timilia LR	330,7	48,0 b
Trinakria	388,2	55,5 b
Sicilia	267,2	47,0 b
Russello	356,0	66,0 b
Mongibello	375,5	97,5 a
	<i>ns</i>	*

^a TIC area /10E+07. Lettere differenti in colonna indicano differenze significative

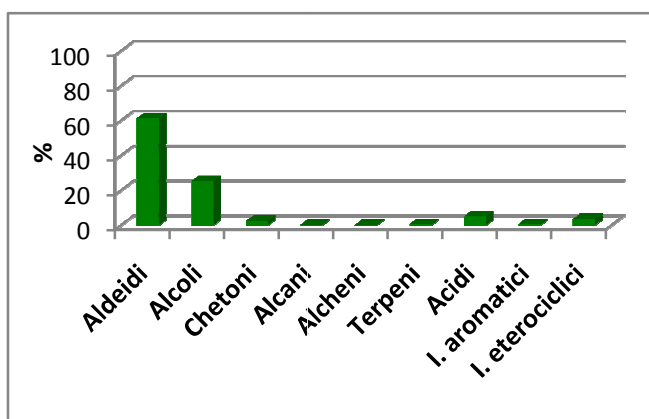


Figura 7.15 Incidenza percentuale delle classi di composto sull'area cromatografica totale.

Gli analiti isolati sono stati raggruppati in 9 diverse classi chimiche: aldeidi, alcoli, chetoni, alcani, alcheni, acidi, terpeni, idrocarburi aromatici ed eterociclici. Aldeidi ed alcoli sono le classi più rappresentate costituendo più

dell'80% dell'area cromatografica totale (fig. 7.15).

Tabella 7.9. Area cromatografica delle singole classi in rapporto alle varietà

	TIC area ^a								
	Aldeidi	Alcoli	Chetoni	Alcani	Alcheni	Terpeni	Acidi	Idrocarburi aromatici	Idrocarburi eterociclici
Russello	148,99	97,82	0,44	0,00	0,00	2,54	21,64	0,00 b	15,05
Sicilia	174,63	49,26	6,34	0,93	0,00	1,62	4,31	0,00 b	11,56
Trinakria	218,63	87,38	11,05	0,00	1,83	0,00	18,29	0,00 b	12,12
Timilia LR	193,72	37,28	12,70	0,00	0,00	0,00	41,63	0,00 b	8,79
Timilia G	136,00	47,16	2,36	0,00	1,32	1,41	25,88	0,00 b	9,19
Margherito R	170,46	50,87	5,59	0,73	0,00	1,98	5,28	0,00 b	11,10
Mongibello	112,89	110,01	9,68	3,46	0,30	3,83	5,87	12,2 a	12,02
	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	***	ns

^a TIC area /10E+07. Lettere differenti in colonna indicano differenze significative. *** $P \leq 0.001$; ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$.

Per l'area cromatografica relativa alle classi sopra menzionate non sono emerse in generale differenze significative tra i genotipi a confronto. Fa eccezione il Mongibello, che fra tutte le varietà, ha rivelato la presenza di idrocarburi aromatici (tab. 7.9).

Malgrado l'assenza di significatività, nell'ambito di alcune classi di composti, sono state evidenziate variazioni che risultano discriminanti per i tipi in prova.

Tra le **aldeidi**, benzaldeide, eptanale, 2-metile-butanale, 3-metile-butanale, esanale, nonanale e octanale sono comuni a tutte le varietà allo studio (fig. 7.17). Questi analiti conferiscono nel complesso odore di mandorla (benzaldeide, 2-metile-butanale, 3-metile-butanale), agrumi (nonanale e octanale) e di "verde" (esanale).

Per l'esanale la più elevata area cromatografica è stata registrata in Trinakria che non è risultata differente da Russello e Sicilia. Il valore più basso è stato registrato in Mongibello. Quest'ultimo genotipo si è, invece, distinto per l'elevato contenuto di octanale. Da Mongibello non si è statisticamente differenziato Trinakria peraltro suo parentale femminile. Russello e le due Timilia hanno mostrato valori di esanale molto contenuti.

Tra le aldeidi non comuni a tutti i genotipi, 2-furancarbossaldeide è stato presente in tutte le cultivar ad eccezione di Trinakria mentre 2-dodecenale (E)- è rilevato esclusivamente in Trinakria alla quale conferisce un odore di erba e grasso tipico del coriandolo (Rowe, 1998). 2-esanale è presente in tutte le varietà saggiate ad eccezione di Mongibello (fig. 7.16).

2-octenale è presente solo in Timilia LR, Margherito R e Sicilia mentre 2-octenale (E)-è presente in Trinakria (valore massimo) e Timilia G (fig. 7.16).

Nell'ambito della classe degli **alcoli**, i composti comuni ai genotipi oggetto di indagine sono stati quattro: alcol isoamilico, eptanolo, nonanolo ed octanolo (fig. 7.16). Gli ultimi tre composti sono presenti in quantità elevata in Trinakria. Per eptanolo, la cui nota aromatica è di "verde", e nonanolo valori minimi sono stati accertati in Russello. Mongibello è l'unico genotipo a contraddistinguersi in maniera significativa per il contenuto di alcol isoamilico dalla tipica fragranza di balsamico ed alcolico.

Ancora Russello è l'unica varietà a non presentare 2-etile-esanolo. In questo e in Trinakria, l'analisi cromatografica ha messo in luce la presenza di 1-metossi-propanolo assente invece nelle altre cultivar. Elevata è risultata la quantità di 2-metile-propanolo in Russello, Mongibello e Trinakria, composto assente nelle Timilia ed in Sicilia. Timilia LR è l'unico genotipo a non presentare pentanolo che invece raggiunge valori massimi in Trinakria e Russello. Il propanolo è presente esclusivamente in Russello (fig. 7.16) caratterizzandolo per l'odore di fruttato.

Tra i **chetoni**, 4-chetoisoforone è presente in tutti i genotipi anche se in quantità non statisticamente differente (fig.7.17).

Tra i restanti chetoni, 2-undecanone è stato presente unicamente in Trinakria e Mongibello, mentre l'acetofenone solo in Mongibello. L'area del picco identificato come 6-metile-3,5-eptadiene-2-one è stata elevata in Mongibello, presente in quantità più bassa negli altri tipi e assente in Russello e Timilia G.

Anche il 6-metile-5-eptene-2-one ha raggiunto i valori massimi in Mongibello e non è stato rilevato in Russello (fig. 7.16).

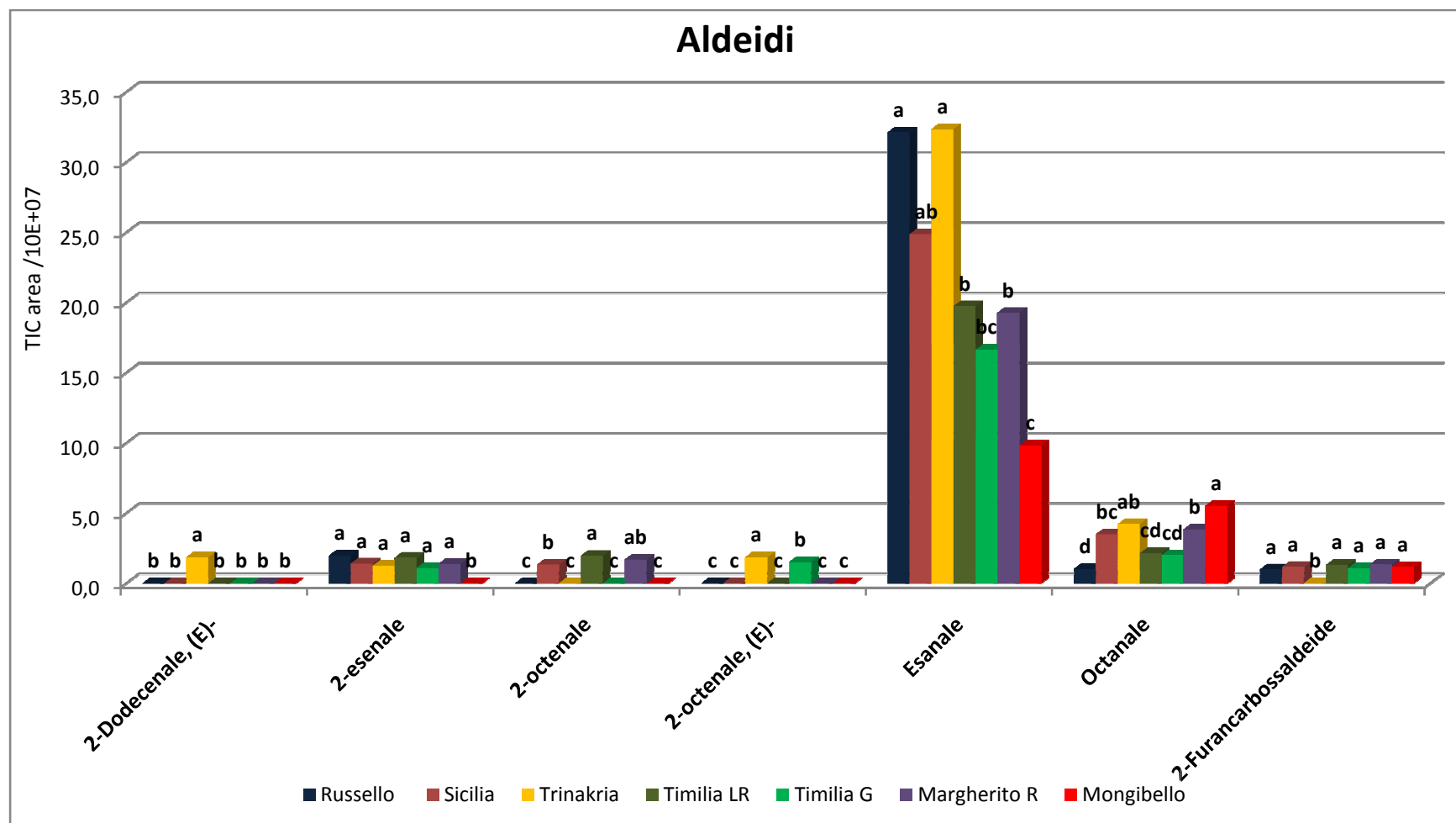
Nessun **alcano** è risultato comune alle varietà saggiate né presente in quantità tali da determinare diversità significative tra i genotipi allo studio.

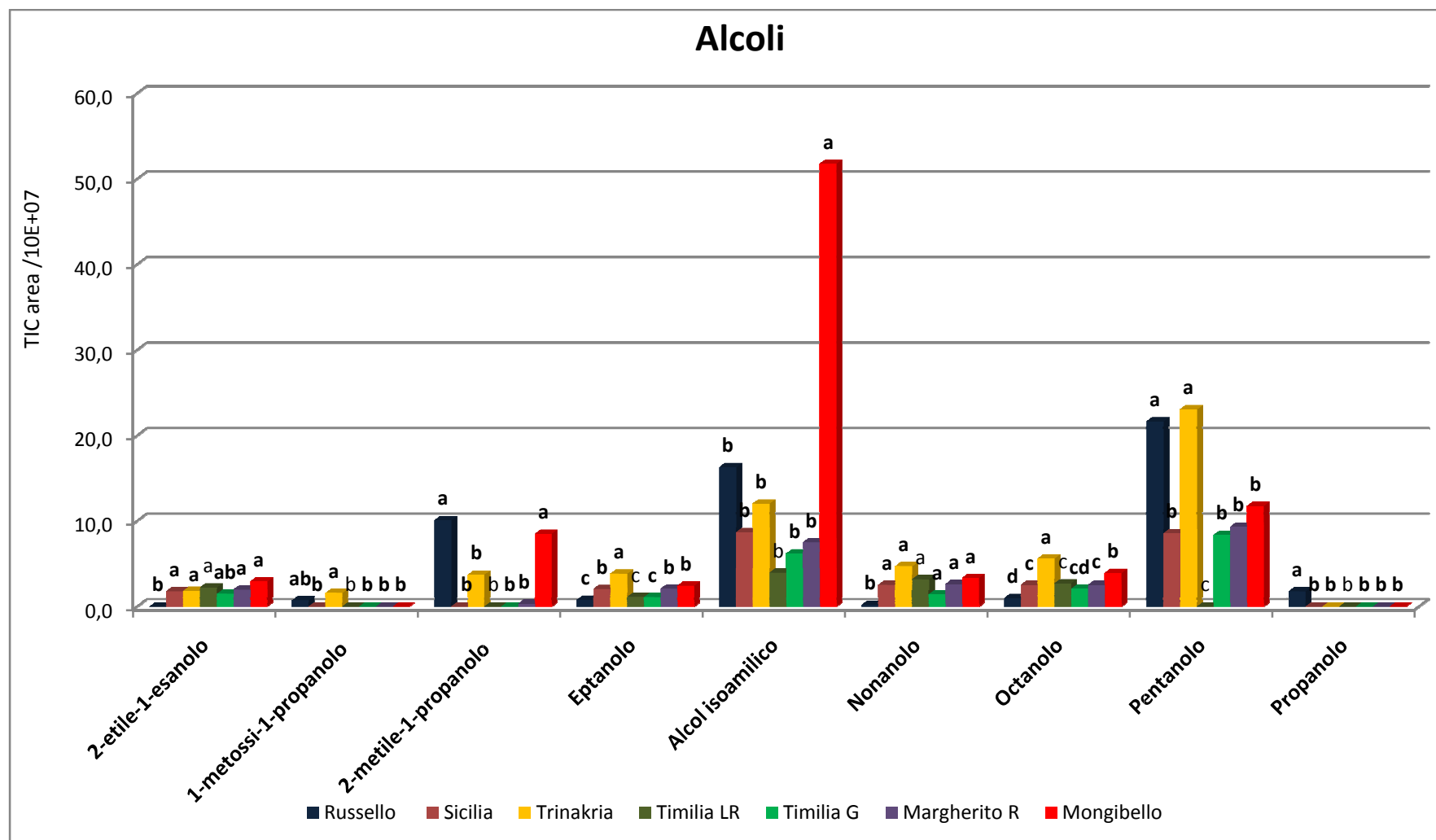
Come per la classe di composti precedente, nessun **alchene** è stato comune a tutti i genotipi. 1-tetradecene è stato rilevato unicamente in Trinakria (fig. 7.16).

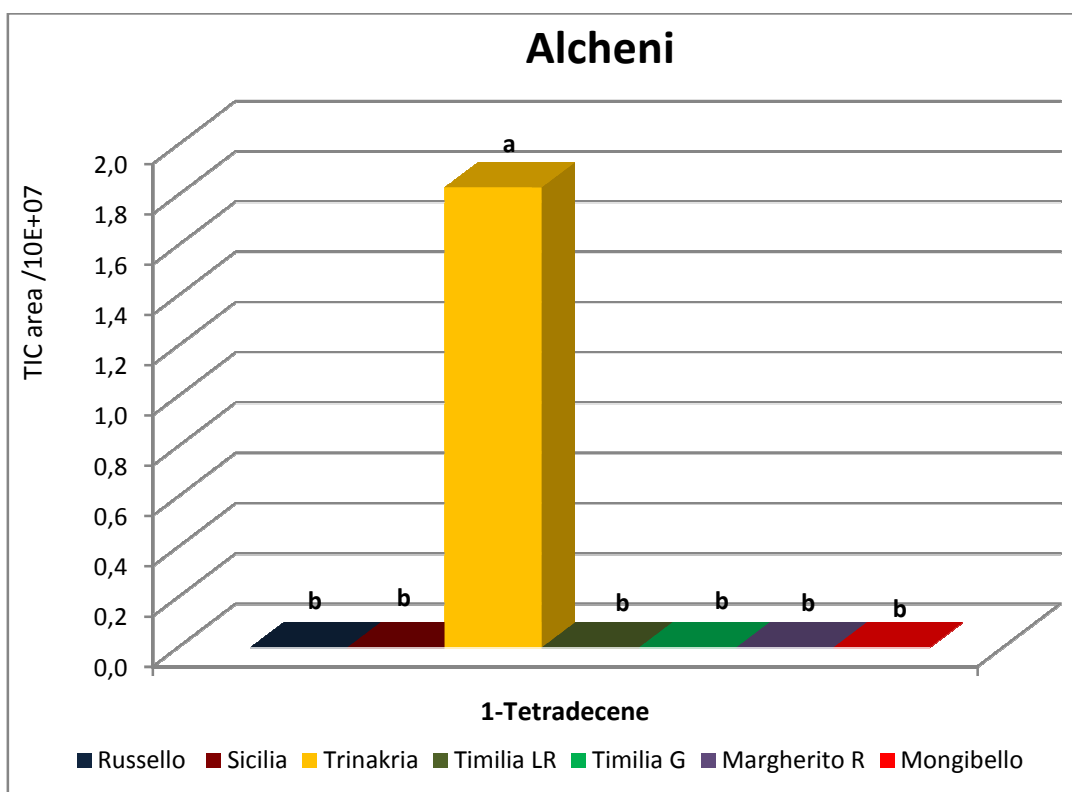
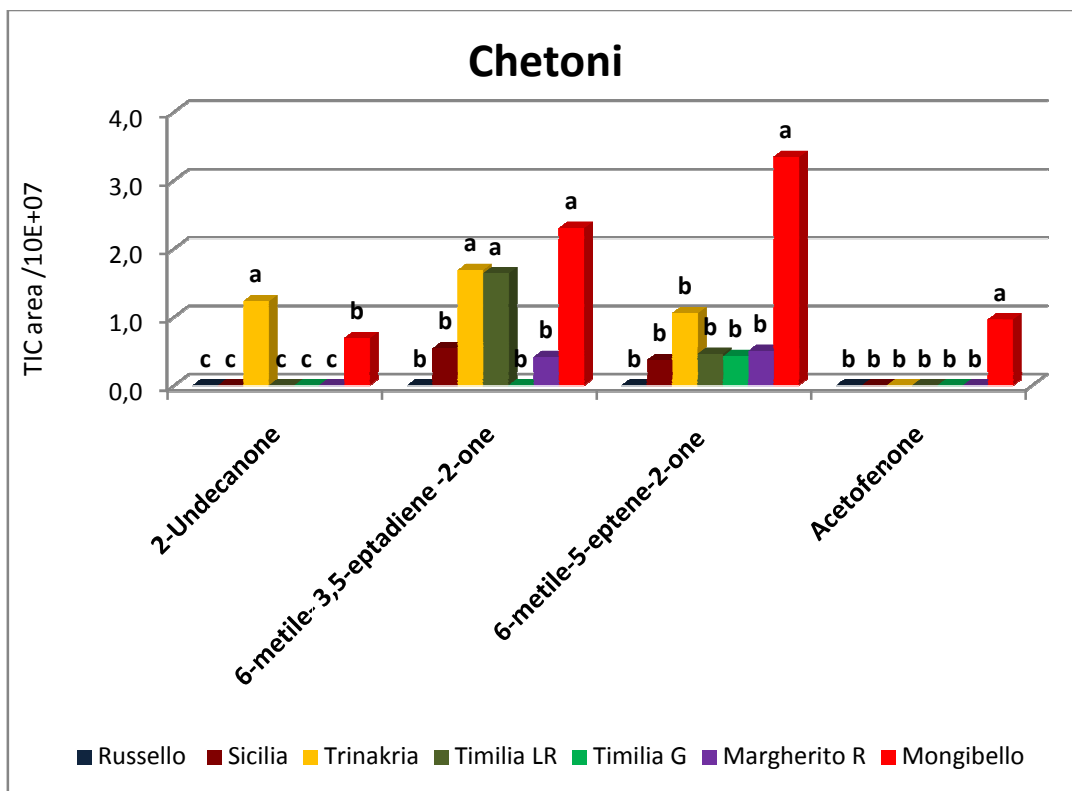
Tra i **terpeni** α -fellandrene e limonene sono stati rilevati soltanto in Mongibello.

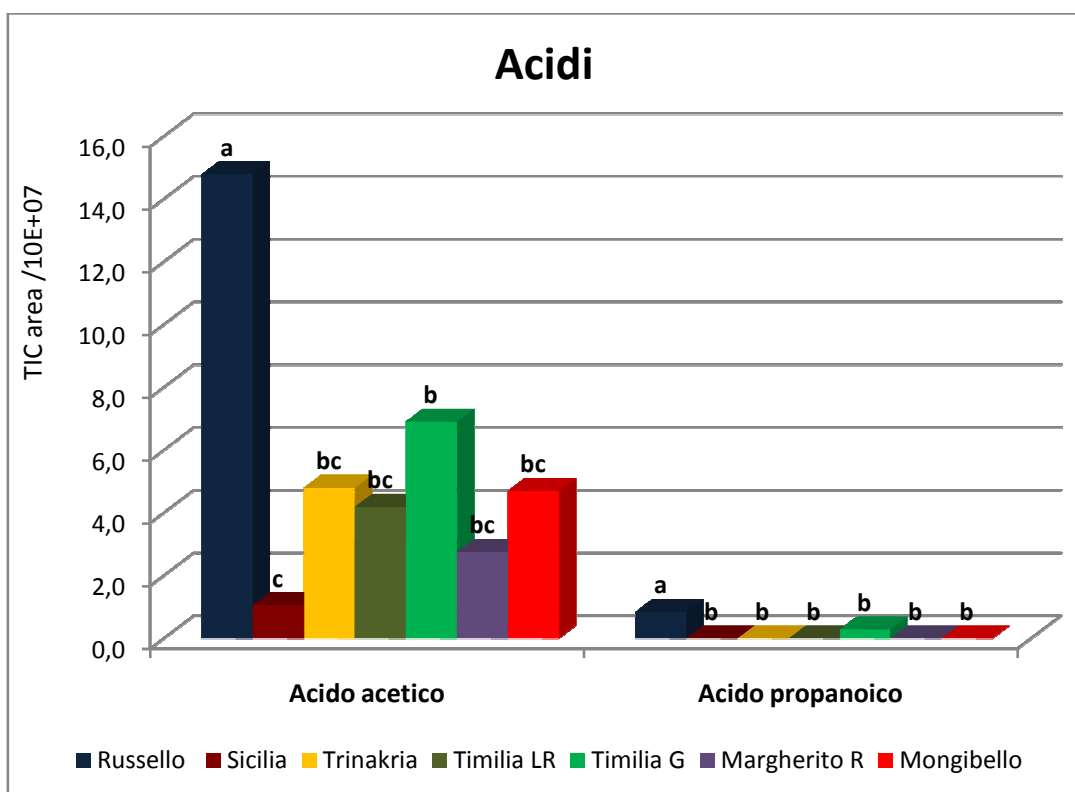
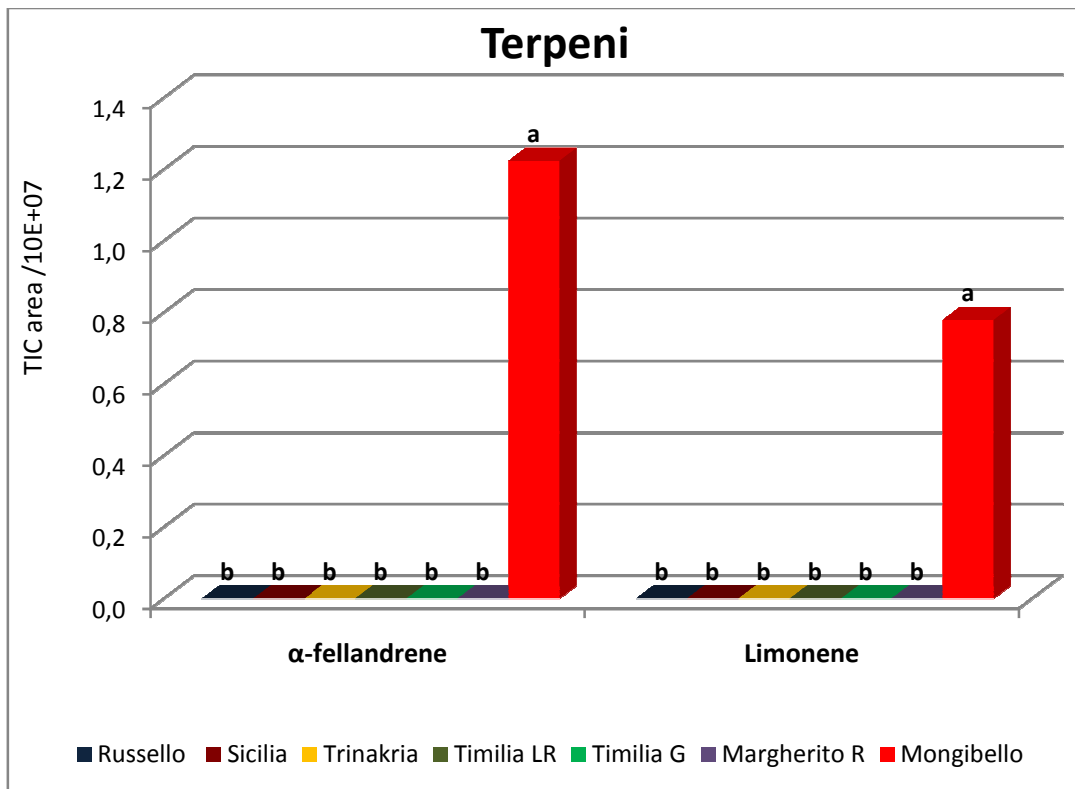
Nell'ambito degli **acidi**, acido acetico e propanoico hanno differenziato in modo statisticamente significativo Russello dal resto dei genotipi (fig. 7.16). In particolare oltre al Russello solo Timilia G ha presentato quest'ultimo analita.

Tra gli **idrocarburi eterociclici** in tutte le cultivar in prova sono presenti il γ -butirolactone, γ -esalactone, 2-etile-furano, 2-pentile-furano (fig. 7.17); in particolare Russello si è distinto per il contenuto più elevato di γ -butirolactone, mentre Margherito e Mongibello per il più basso (fig. 7.16). Per contro, questi ultimi due genotipi hanno mostrato un contenuto elevato butirolactone.









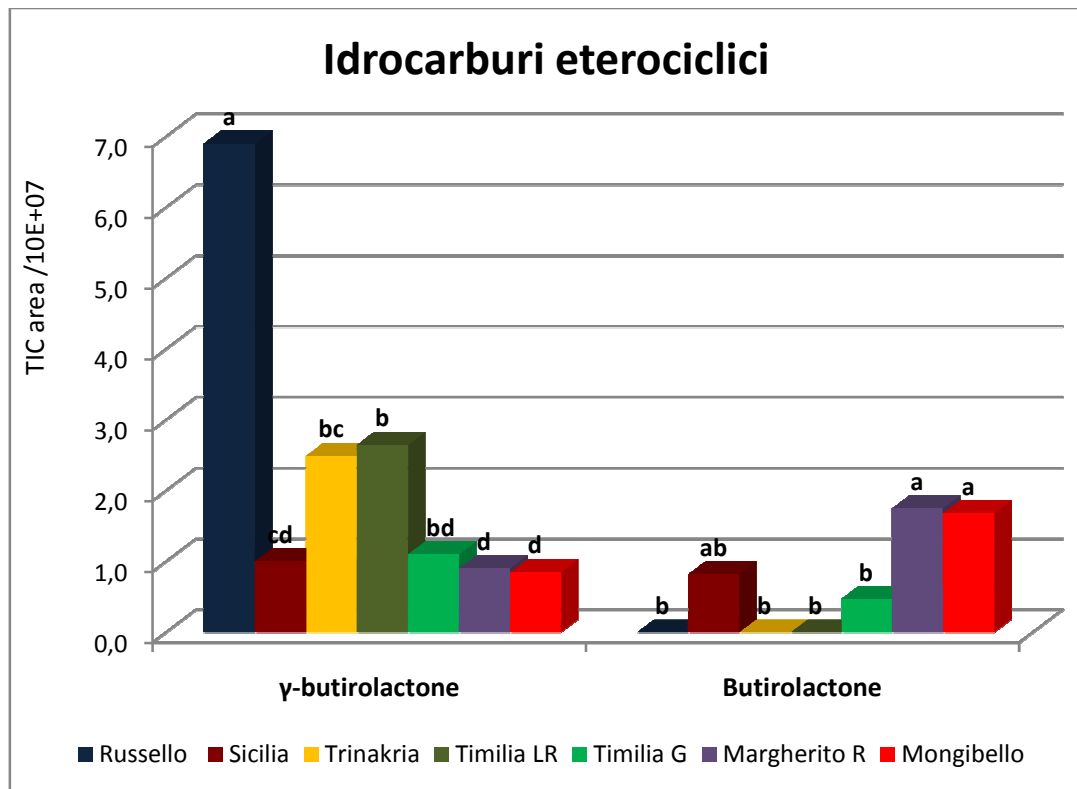
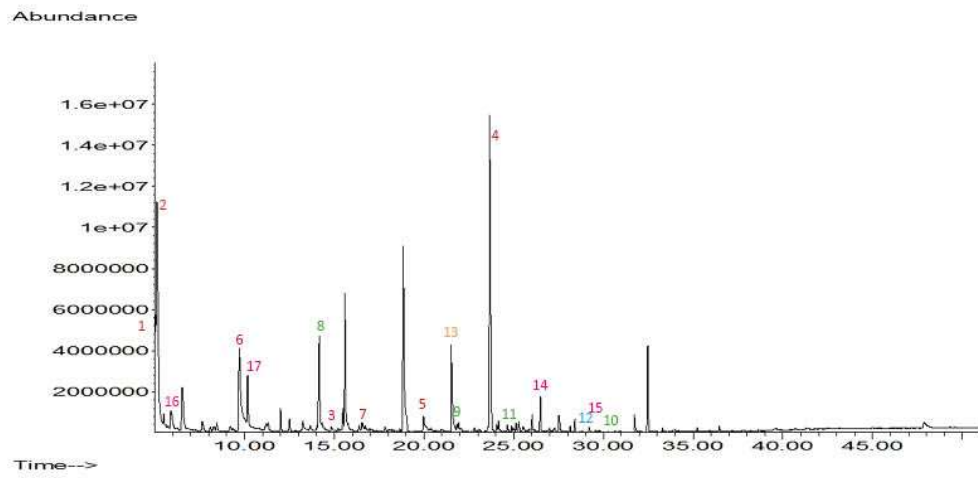


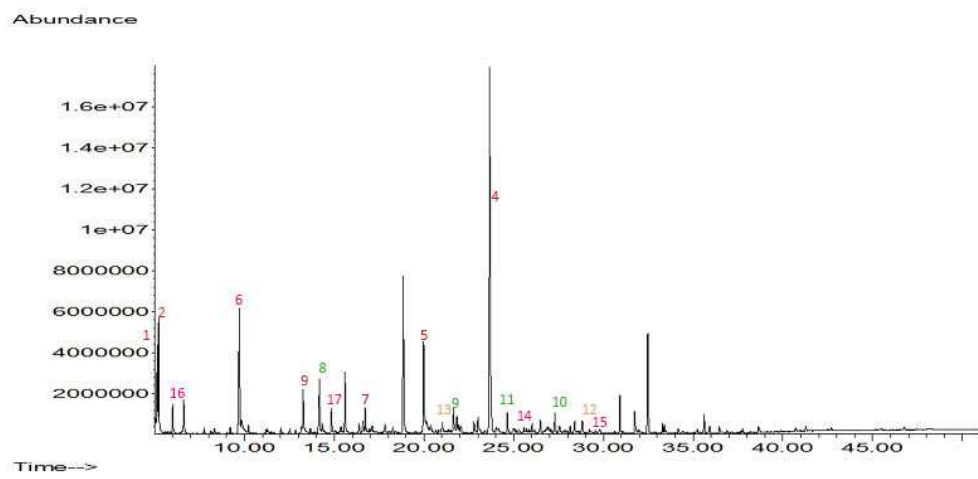
Figura 7.16. Composti caratterizzanti nei genotipi in prova.

^a TIC area /10E+07.

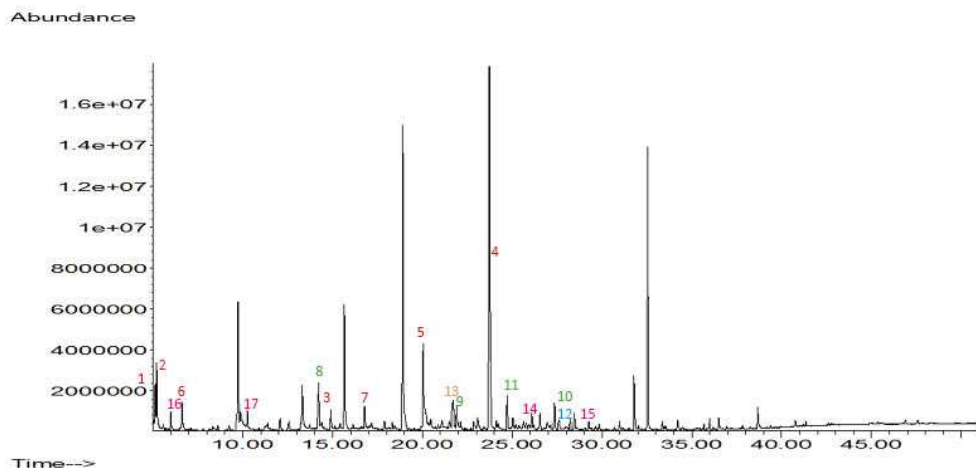
Russello



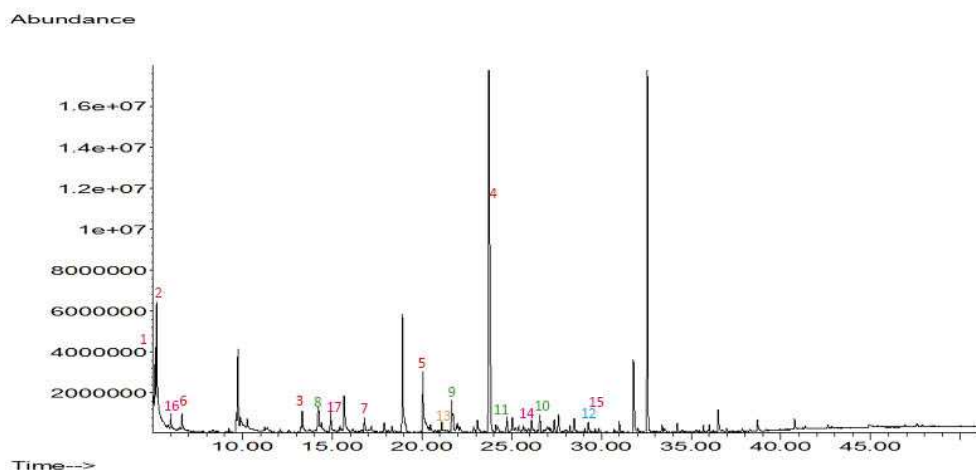
Sicilia



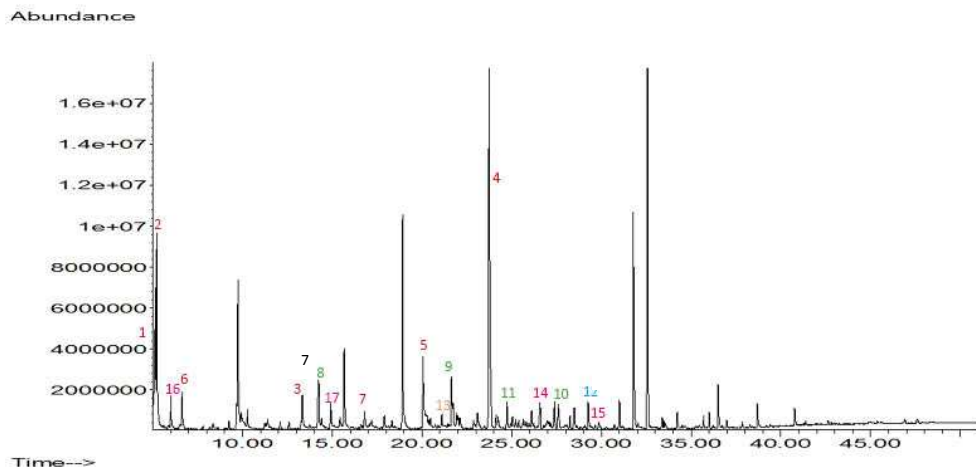
Trinakria



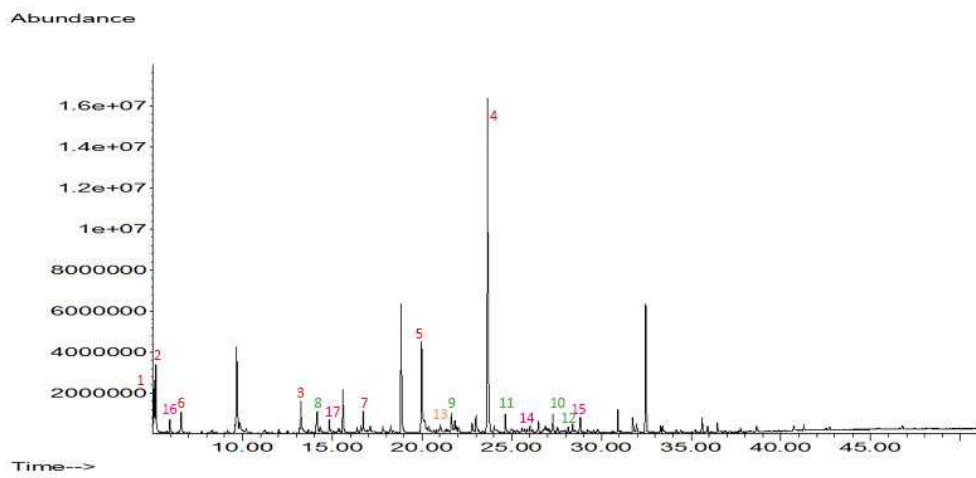
Timilia LR



Timilia G



Margherito



Mongibello

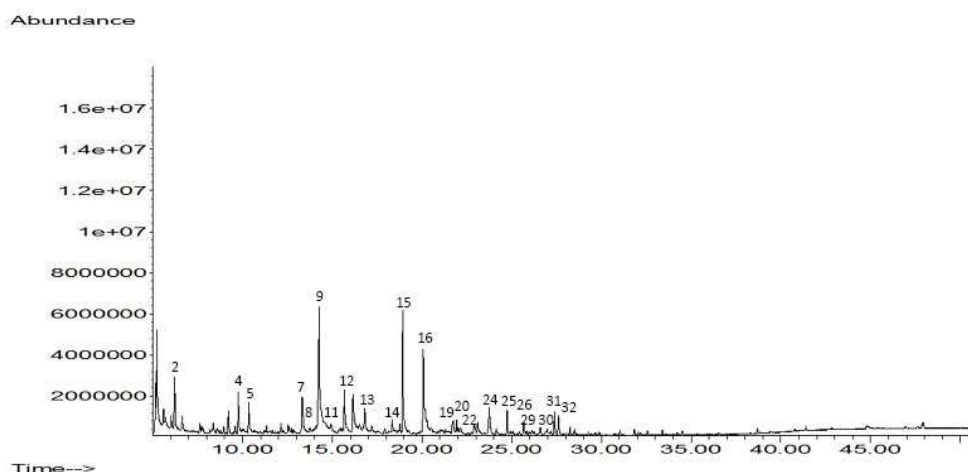
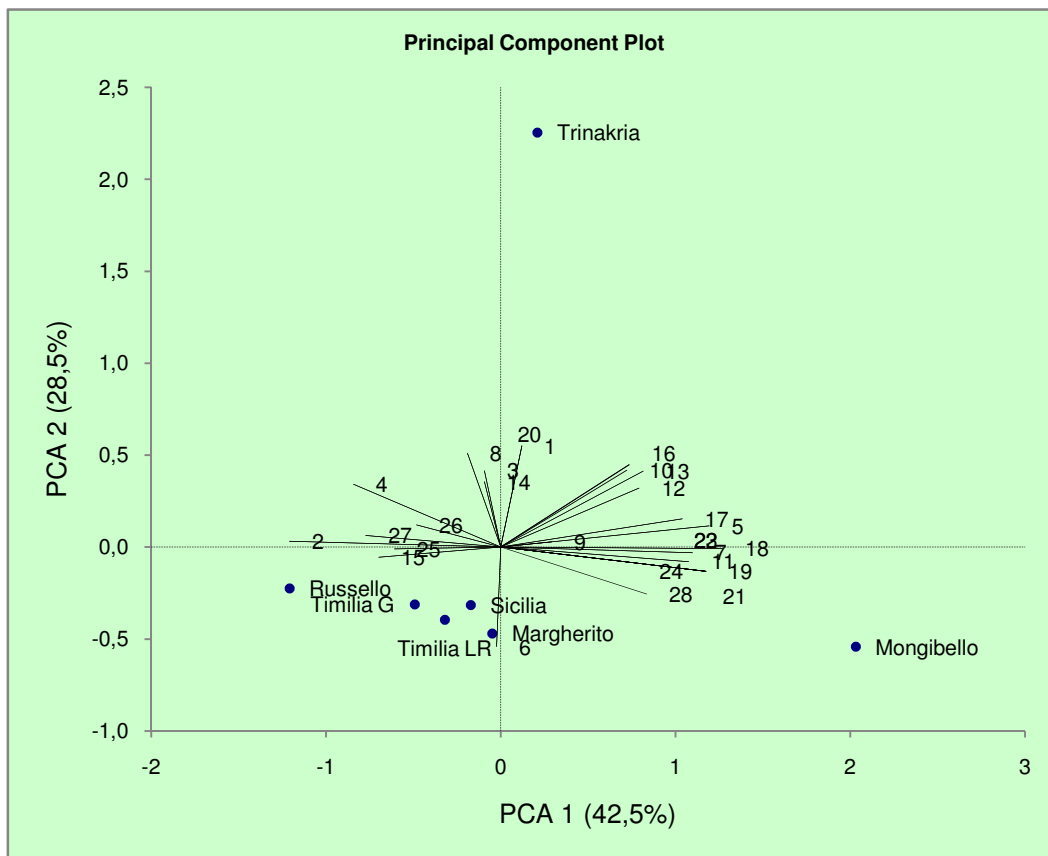


Figura 7.17. Cromatogrammi dei genotipi in prova.

Composti comuni a tutti i genotipi allo studio: 1) 2-metile-butanale; 2) 3-metile-butanale; 3) eptanale; 4) benzaldeide; 5) nonanale; 6) esanale; 7) octanale; 8) alcol isoamilico; 9) eptanolo; 10) nonanolo; 11) octanolo; 12) 4-chetoisooforone; 13) acido acetico; 14) γ -butirolactone; 15) γ -esalactone; 17) 2-pentile-furan; 18) 2-etile-furano. Colori diversi indicano classi di composto differenti.

L'analisi multivariata PCA ha spiegato il 71% della variabilità, distinguendo chiaramente i genotipi in prova in quattro gruppi a conferma dei risultati appena discussi (fig. 7.18). Il primo è rappresentato dalla cultivar Trinakria, il secondo da Mongibello che si discosta da Trinakria nonostante sia il suo parentale femminile, il terzo da Russello e il quarto che comprende due accessioni di Timilia, Sicilia e Margherito. Come si evince dalla fig. 7.18. Trinakria è stata caratterizzata tra gli altri da 2-dodecenale e 1-tetradecene che presenta in esclusiva; Mongibello da alcol isoamilico, 1-tridecene e sabinene (gli ultimi due presenti in esclusiva); Russello da 2-esenale.

Figura 7.18. Score plot delle componenti principali (PCA) applicata ai dati quantitativi delle varietà di grano duro allo studio



1) 2-dodecenale, (E)-; 2) 2-esenale; 3) 2-octenale, (E)-; 4) esanale; 5) octanale; 6) 2-furancarbossaldeide; 7) 2-etile-1-esanolo; 8) 1-metossi-1-propanolo; 9) 2-metile-1-propanolo; 10) eptanolo; 11) alcol isoamilico; 12) nonanolo; 13) octanolo; 14) pentanolo; 15) propanolo; 16) 2-undecanone; 17) 6-metile-3,5-eptadiene-2-one; 18) 6-metile- 5-eptene-2-one; 19) acetofenone; 20) 1-tetradecene; 21) 1-tridecene; 22) α -fellandrene; 23) limonene; 24) sabinene; 25) acido acetico; 26) acido pentanoico; 27) γ butirolactone; 28) butirolactone.

7.3. Effetto di differenti regimi idrici sulla produzione di sostanze volatili di diverse cultivar

L'analisi della varianza eseguita sulle sei varietà di frumento duro che hanno usufruito di due regimi idrici differenti, ha messo in luce significative variazioni per effetto dei fattori allo studio. Tanto l'area cromatografica totale quanto il numero di picchi, infatti, sono risultati significativamente differenti nell'ambito dei genotipi e dei regimi idrici (tab. 7.7).

Tabella 7.7. Effetti medi di genotipo e ambiente su area totale cromatografica e numero di picchi

		<i>TIC Area^a</i>	<i>Numero picchi</i>
<i>Genotipo (G)</i>	Mongibello	105,2 d	32 c
	Simeto	173,9 bc	40 b
	Timilia	199,3 b	43,3 b
	Cappelli	266,9 a	53,5 a
	Margherito	156,5 c	40,5 b
	Russello	172,5bc	42 b
<i>Regime Idrico (RI)</i>	Naturale	206,7 a	45,6 a
	Limitato	151,4 b	38,2 b
	<i>G</i>	***	***
	<i>RI</i>	***	***
	<i>G X RI</i>	***	**

^a TIC area /10E+07. Lettere differenti in colonna indicano differenze significative. *** $P \leq 0.001$; ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$.

In particolare il Cappelli ha mostrato per entrambi i parametri i valori più elevati rispetto agli altri genotipi in prova, Mongibello, al contrario, i valori minimi. Quest'ultimo genotipo non ha mostrato differenze significative tra i due regimi

idrici saggiati probabilmente a causa del fatto che la cultivar Mongibello non trova la sua zona di elezione nell'areale di pianura dove non riesce ad esprimere appieno le proprie potenzialità (fig. 7.19).

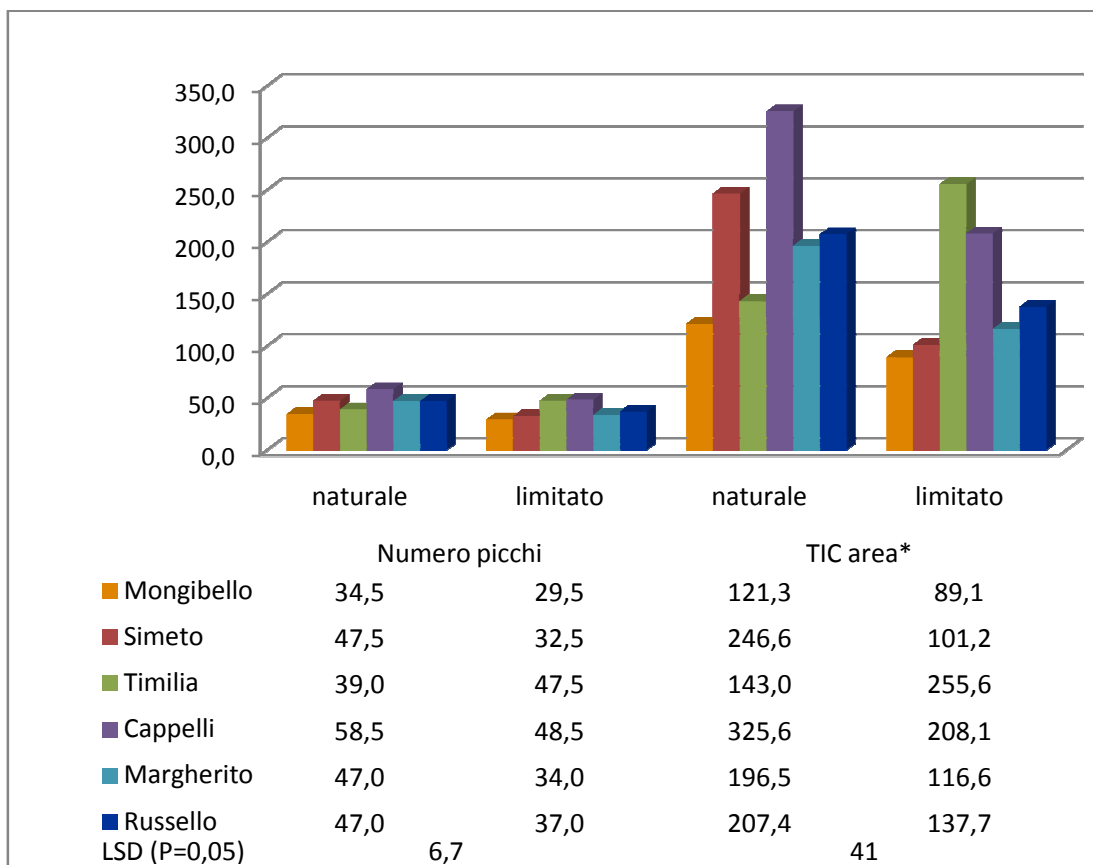


Figura 7.19. Variazione dell'area cromatografica totale e del numero di picchi in rapporto alle tesi allo studio

* TIC area /10E+07.

Simeto ha mostrato le maggiori differenze tra i due regimi idrici: i valori riscontrati per il regime idrico naturale sono stati considerevolmente superiori rispetto al regime idrico limitato rispetto alle altre cultivar con ogni probabilità per la diversa adattabilità alle condizioni climatiche spesso limitanti dell'Isola (fig.

7.19). È d'obbligo sottolineare il comportamento di Timilia che, per i due parametri in esame, ha mostrato valori più elevati nel regime idrico limitato rispetto a quello naturale (fig. 7.19). Ciò può essere spiegato dalla predisposizione genetica ad una maggiore resistenza alle carenze idriche di questa varietà che è da sempre considerato "grano marzuolo".

Per quanto concerne l'area cromatografica, sono stati isolati 47 analiti raggruppati nelle 9 diverse classi chimiche già elencate nella messa a punto del metodo: aldeidi, alcoli, chetoni, alcani, alcheni, acidi, terpeni, idrocarburi aromatici ed eterociclici. Come si evince dall'analisi del grafico (fig. 7.20), aldeidi e alcani rappresentano in complesso circa l'80% delle aree totali degli analiti rilevati.

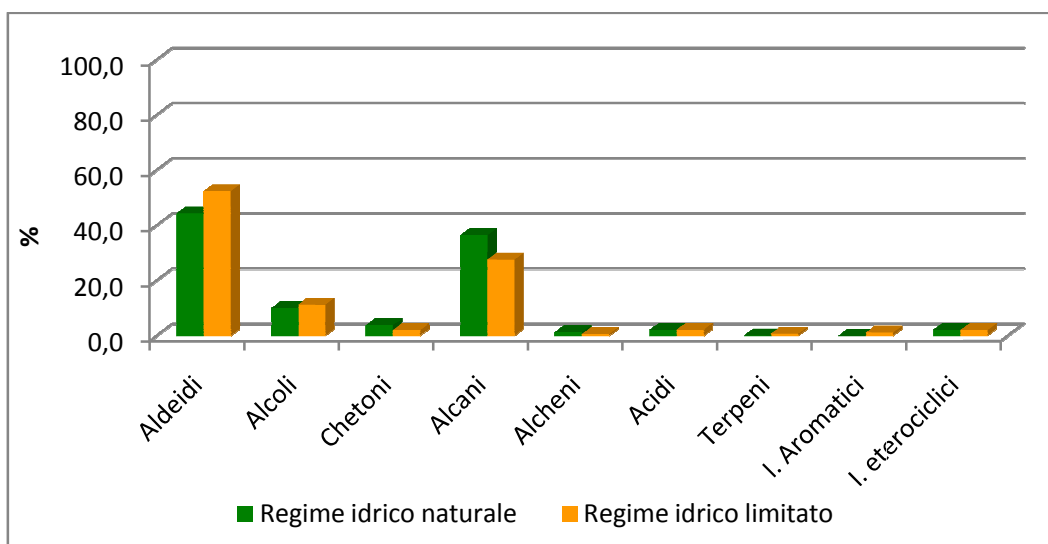


Figura 7.20. Incidenza percentuale delle singole classi di composto sull'area cromatografica totale

Tabella 7.8. Effetti medi di genotipo e ambiente sulle aree delle singole classi di composti.

		TIC area ^a								
		Aldeidi	Alcoli	Chetoni	Alcani	Alcheni	Acidi	I. Aromatici	I. eterociclici	Terpeni
<i>Genotipo (G)</i>	Mongibello	44,7 c	14,2	2,2	30,4 c	0,6 b	1,9 b	0,0	1,5 c	0,0
	Simeto	60,1 bc	15,2	3,6	57,1 a	2,7 a	4,0 a	1,1	1,7 c	0,6
	Timilia	70,5 b	14,0	3,7	53,4 a	1,6 ab	3,7 a	0,0	3,7 ab	0,0
	Cappelli	115,6 a	19,0	6,8	50,2 a	0,7 b	4,8 a	1,1	4,4 a	1,4
	Margherito	45,4 c	12,6	4,6	49,2 ab	1,0 b	1,8 b	0,5	2,7 bc	0,0
	Russello	68,6 b	14,0	4,6	35,0 bc	2,0 ab	2,0 b	1,6	3,6 ab	1,2
<i>Regime Idrico (RI)</i>	Naturale	70,0	15,7 a	5,9 a	57,5 a	2,05 a	3,4	0,0	3,3 a	0,1
	Limitato	65,0	14,0 b	2,6 b	34,2 b	0,8 b	2,7	1,4	2,5 b	0,9
	<i>G</i>	***	ns	ns	**	ns	**	ns	**	ns
	<i>RI</i>	ns	ns	**	***	*	ns	ns	*	ns
	<i>G X RI</i>	ns	ns	ns	***	ns	ns	ns	*	ns

^aTIC area /10E+07. Lettere differenti in colonna indicano differenze significative *** $P \leq 0.001$; ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$.

Tabella 7.9. Variazione dell'area cromatografica in rapporto ai regimi idrici saggiati

	TIC area ^a									
	Aldeidi		Chetoni		Alcani		Alcheni		I. eterociclici	
	N	L	N	L	N	L	N	L	N	L
Mongibello	48,7	40,7	2,1	2,2	39,0	21,7	1,2	0,00	1,0	1,8
Simeto	79,6	40,6	5,9	1,4	84,9	29,2	4,25	1,15	3,4	0,0
Timilia	54,8	86,3	3,5	3,8	32,6	74,2	1,8	1,37	3,2	4,3
Cappelli	119,0	112,1	9,5	4,1	72,8	27,7	1,5	0,00	5,1	3,6
Margherito	43,7	47,1	6,7	2,6	69,5	28,8	1,2	0,83	2,9	2,5
Russello	74,1	63,0	7,8	1,3	46,3	23,6	2,4	1,56	4,5	2,7
LSD 0,05	13,1		4,3		20		2,3		1,9	

^aTIC area /10E+07. Lettere differenti in colonna indicano differenze significative *** $P \leq 0.001$; ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$.

La presenza delle **aldeidi** ha manifestato notevole variabilità in rapporto ai genotipi allo studio: Cappelli ha mostrato in assoluto il valore più elevato. Mongibello che invece ha presentato il più basso contenuto di aldeidi, non si è differenziato da Simeto e Margherito (tab. 7.8).

Nessuna differenza significativa è stata registrata per effetto del regime idrico (tab. 7.8).

Nell'ambito delle aldeidi, benzaldeide, eptanale, esanale, nonanale e octanale sono risultati comuni a tutti i genotipi con modificazioni non significative dal punto di vista statistico (fig. 7.21). 3-metile-butanale è risultato l'unico analita tra le aldeidi ad essere influenzato dal regime idrico: è assente (o presente al di sotto del limite di rilevazione del sistema) nei genotipi allevati in regime idrico naturale e non è presente in Timilia in entrambi i regimi (tab. 7.10). Tale analita conferisce un tipico odore di malto.

I tipi allo studio non si sono statisticamente differenziati per il contenuto in **chetoni** che è apparso essere, invece, influenzato dal regime idrico. Infatti la resa cromatografica rilevata in granella di piante allevate in regime idrico naturale è stata più elevata rispetto all'altro regime. Nell'ambito dei chetoni solo il 2-tridecanone è comune a tutte le tesi allo studio benché senza alcuna differenza significativa (fig. 7.21).

Il contenuto di **alcani** è apparso differenziato per effetto del genotipo, del regime idrico e dell'interazione tra i due fattori. La classe chimica in oggetto ha subito una riduzione del 60% per effetto dello stress. Simeto ha fatto rilevare il più alto

contenuto di alcani dal quale non si sono differenziati Timilia, Cappelli e Margherito, mentre Mongibello e Russello hanno mostrato una resa in alcani sensibilmente inferiore rispetto agli altri genotipi. Similmente a quanto osservato per le aldeidi, Mongibello non ha mostrato differenze significative nel contenuto in alcani per effetto del regime idrico (tab. 7.9). Ciò conferma l'ipotesi della sua difficoltà di adattamento alle condizioni pedoclimatiche delle zone che ha ospitato la prova. Contrariamente a quanto rilevato nelle rimanenti varietà, Timilia presenta un contenuto di alcani doppio nella tesi allevata in regime idrico limitato rispetto al non stressato (tab. 7.9).

Tra i 16 composti riconosciuti come alcani, eptadecano, esadecano, octadecano, pentadecano, 2,6,10,14 tetrametile pentadecano, sono risultati presenti in tutte le tesi allo studio con valori non statisticamente differenti (fig. 7.21). La quantità di 2,6,10,14, tetrametile-esadecano, 2-metile-esadecano, 4-metile-esadecano, 4-metile-pentadecano, è risultata variabile in funzione del regime idrico: è maggiore nel regime idrico naturale rispetto a quello limitato. Il contenuto di 3-metile-pentadecano, invece, appare verosimilmente dipendente dal genotipo; è infatti maggiore in Timilia dal quale non si sono differenziati Cappelli, Simeto e Margherito; in Mongibello il valore è al minimo (tab. 7.9).

L'unico **alchene** individuato, 1-eptadecene, non ha mostrato variazioni significative per effetto dei fattori allo studio.

Il genotipo ha giocato un ruolo determinante nella presenza degli **acidi**. Cappelli, Simeto e Timilia si sono statisticamente differenziati dai restanti genotipi per il

maggior contenuto di acidi. La quantità di acido esanoico ed acetico, unici due analiti riferibili alla classe oggetto di discussione, non è risultata quantitativamente differenziata in rapporto ai genotipi e al regime idrico.

Come osservato per gli alcani, anche il contenuto di **idrocarburi eterociclici** varia in rapporto al genotipo e al regime idrico. Ancora una volta la cultivar Cappelli mostra il valore più elevato dal quale non si sono differenziati Russello e Timilia. In Margherito, Mongibello e Simeto è stato rilevato il più basso contenuto della detta categoria di analiti. Come per le altre classi di analiti, la granella delle piante allevate in regime idrico naturale ha presentato un'area cromatografica maggiore rispetto all'altra tesi allo studio.

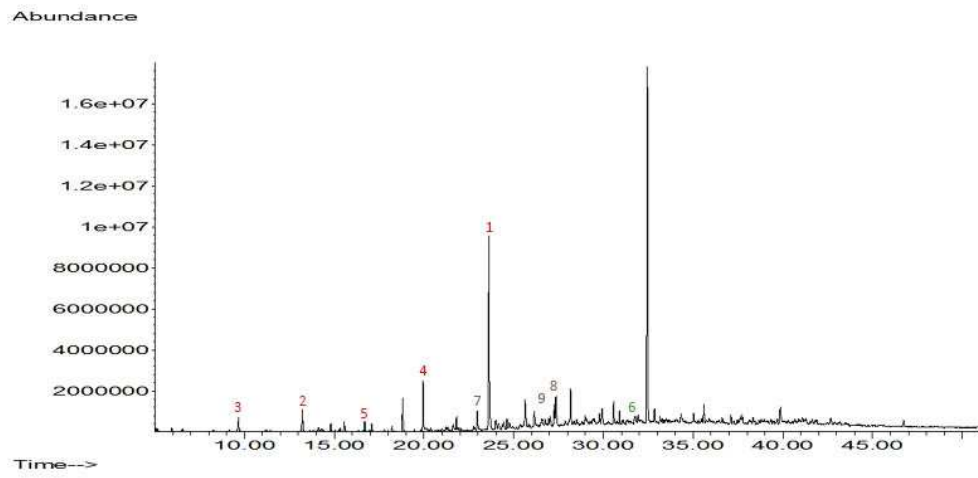
Per **alcoli**, **idrocarburi aromatici** e **terpeni** la resa cromatografica non ha mostrato fluttuazioni statisticamente significative in rapporto alle tesi studiate. Nell'ambito dei terpeni, per l'analita limonene si è distinto Cappelli quale unica varietà a presentare il composto in oggetto (tab. 7.10).

Tabella 7.10. Significatività dei composti isolati

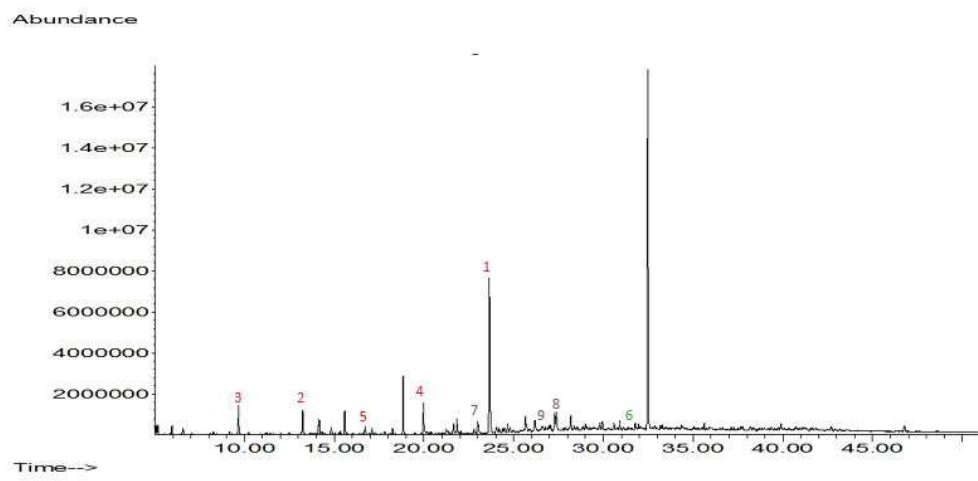
		TIC area ^a						
		3-metile- butanale	2,6,10,14- tetrametile- esadecano	2-metile- esadecano	4- metile- esadecano	3-metile- pentadecano	4-metile- pentadecano	Limonene
<i>Genotipo (G)</i>	Mongibello	0,42	3,03	0,63	0,87	0,50 c	0,49	0,00 b
	Simeto	0,66	4,98	1,87	1,84	1,74 ab	1,73	0,00 b
	Timilia	0,00	5,12	2,12	2,99	1,84 a	1,25	0,00 b
	Cappelli	0,50	4,88	2,02	2,56	1,56 a	1,64	1,03 a
	Margherito	0,48	3,89	1,49	1,93	1,54 ac	1,60	0,00 b
	Russello	0,77	2,22	2,09	1,39	0,67 bc	0,75	0,00 b
<i>Regime Idrico (RI)</i>	Naturale	0,00 b	5,15 a	2,29 a	3,21 a	1,62	1,51 a	0,22
	Limitato	0,94 a	2,90 b	1,12 b	0,65 b	1,00	0,98 b	0,13
<i>Interazioni</i>	<i>G</i>	ns	ns	ns	ns	*	ns	*
	<i>RI</i>	***	*	**	*	ns	**	ns
	<i>G X RI</i>	ns	ns	ns	ns	ns	**	ns

^a TIC area /10E+07. Lettere differenti in colonna indicano differenze significative *** $P \leq 0.001$; ** $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$.

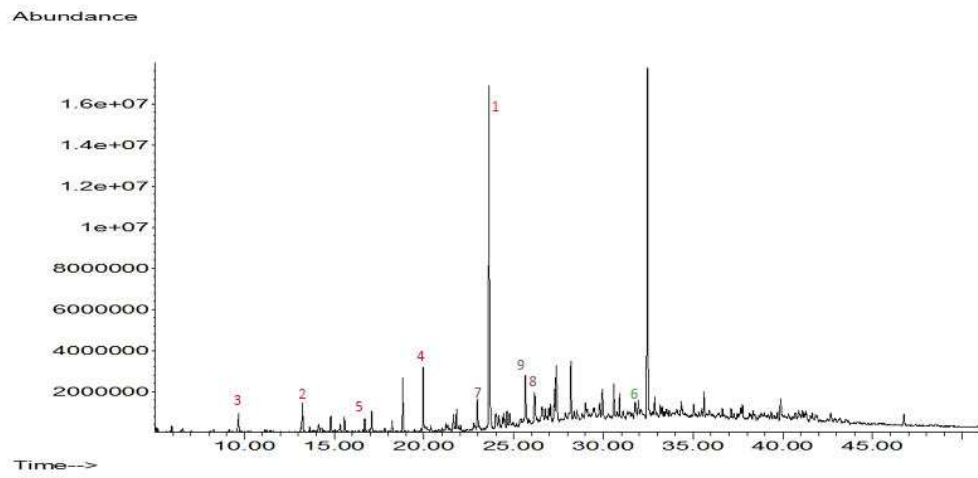
Mongibello in regime naturale



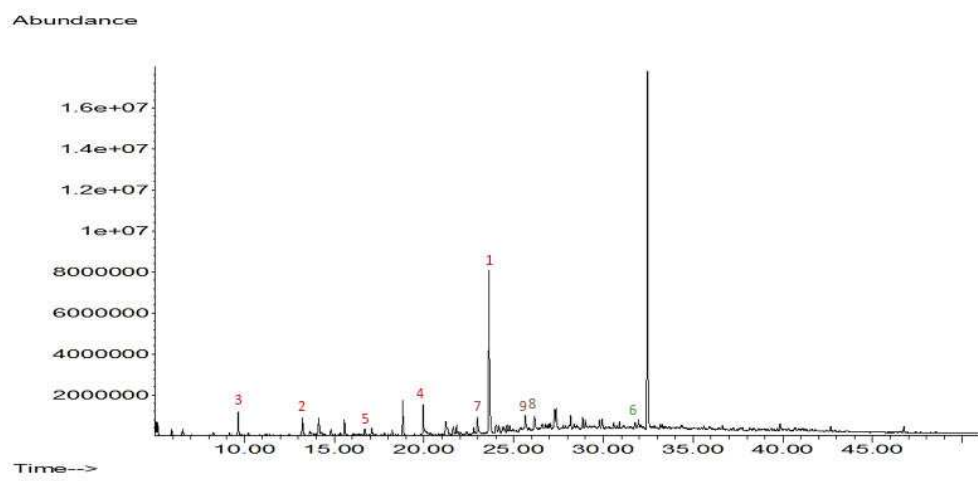
Mongibello in regime limitato



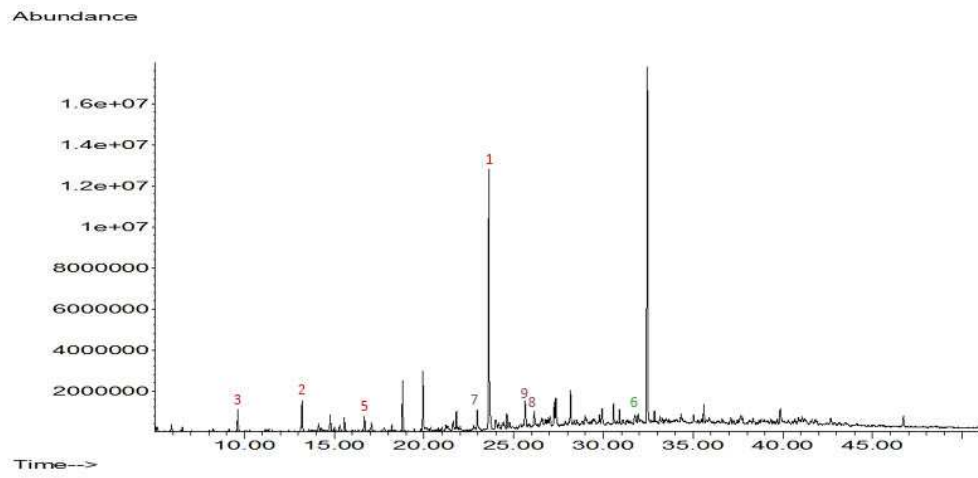
Simeto in regime naturale



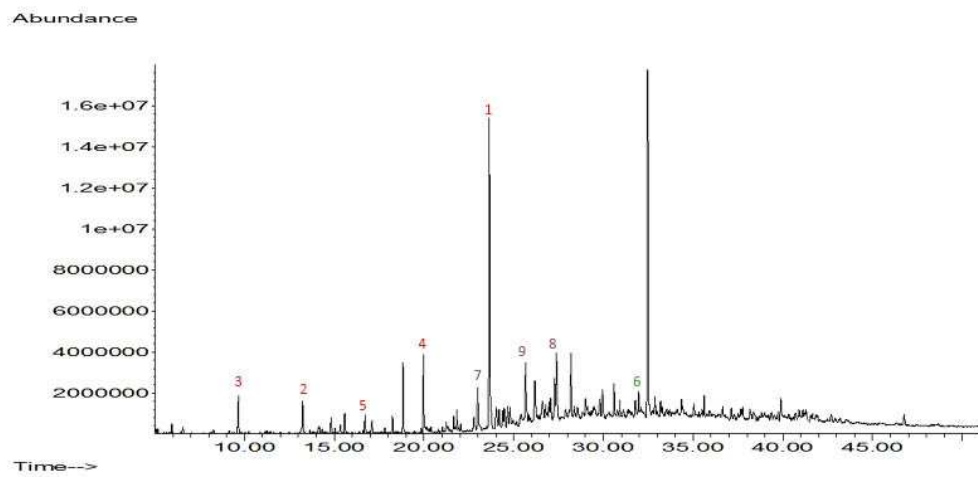
Simeto in regime limitato



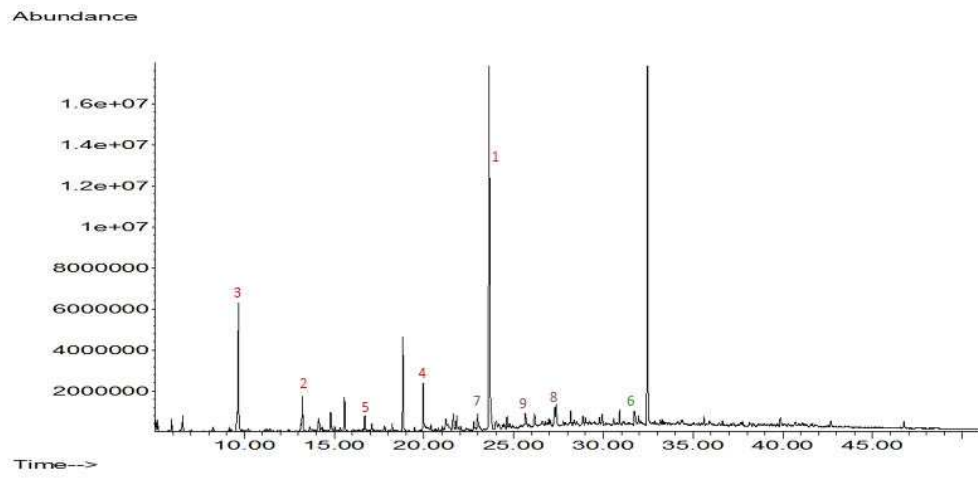
Timilia in regime naturale



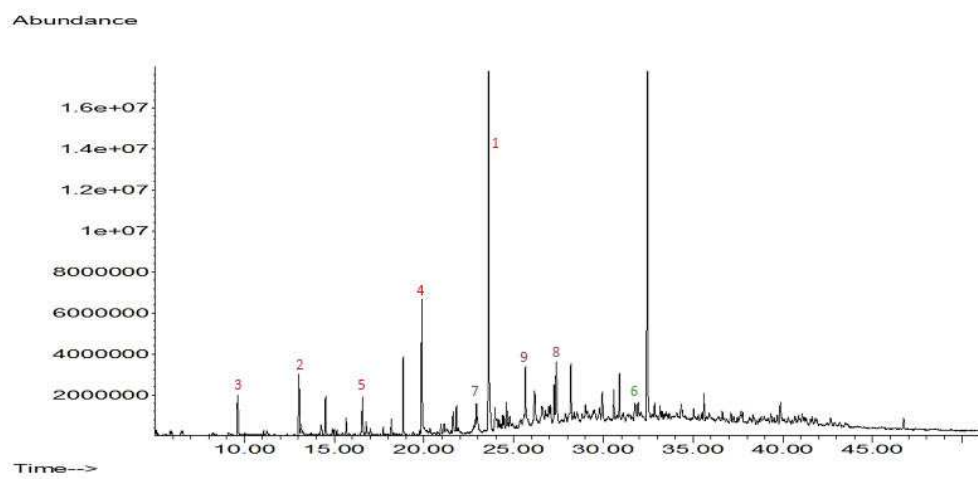
Timilia in regime limitato



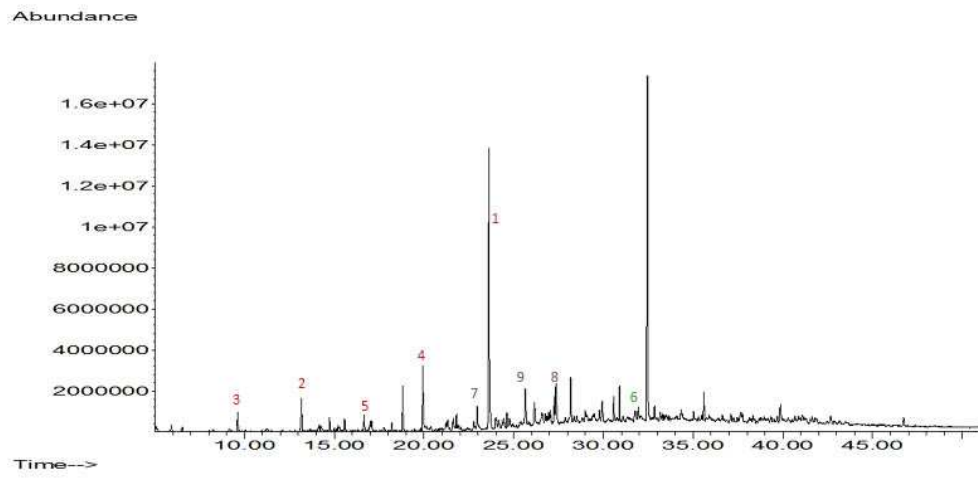
Cappelli in regime naturale



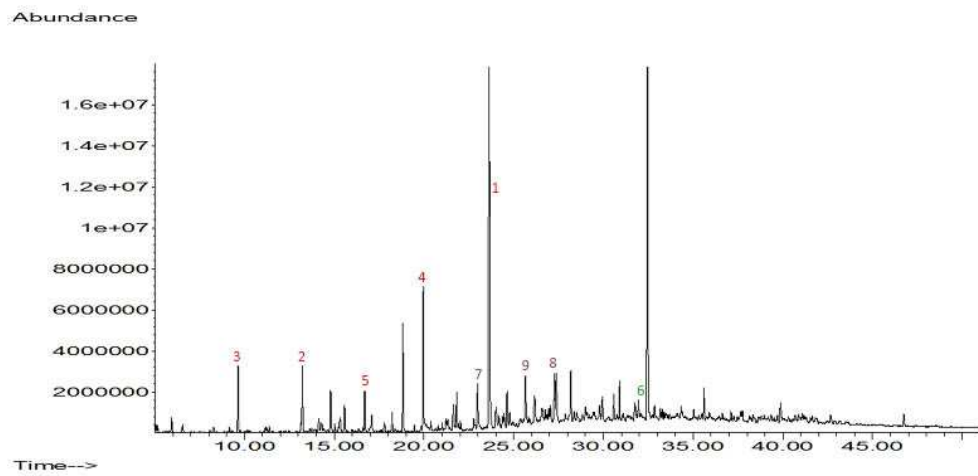
Cappelli in regime limitato



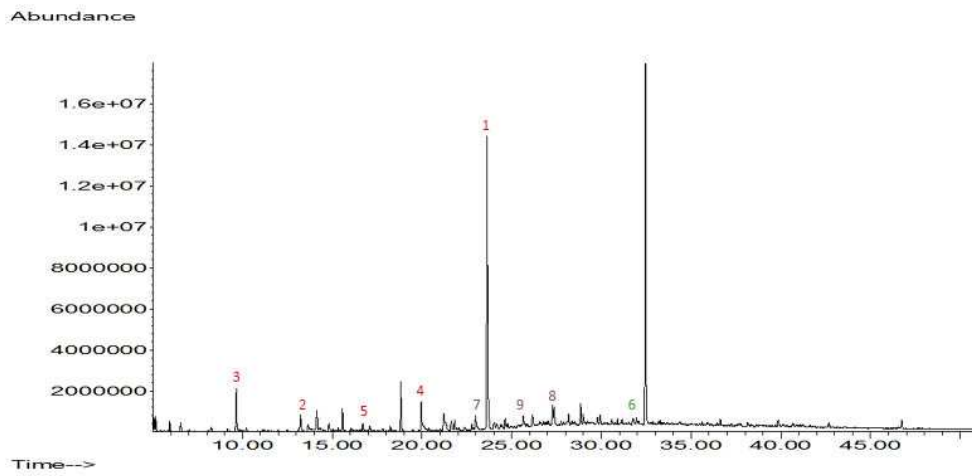
Margherito in regime naturale



Margherito in regime limitato



Russello in regime naturale



Russello in regime limitato

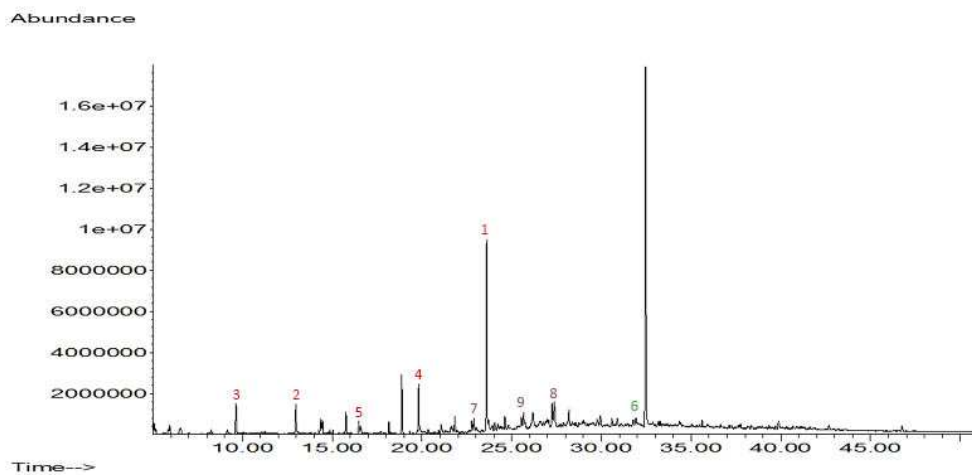


Figura 7.21. Cromatogrammi dei genotipi in prova in regime idrico naturale e limitato

Composti comuni: 1) benzaldeide; 2) eptanale; 3) esanale; 4) nonanale; 5) octanale; 6) 2-tridecanone; 7) pentadecano; 8) 2,6,10,14-tetrametile penta decano; 9) esadecano. Colori diversi indicano classi di composto differenti.

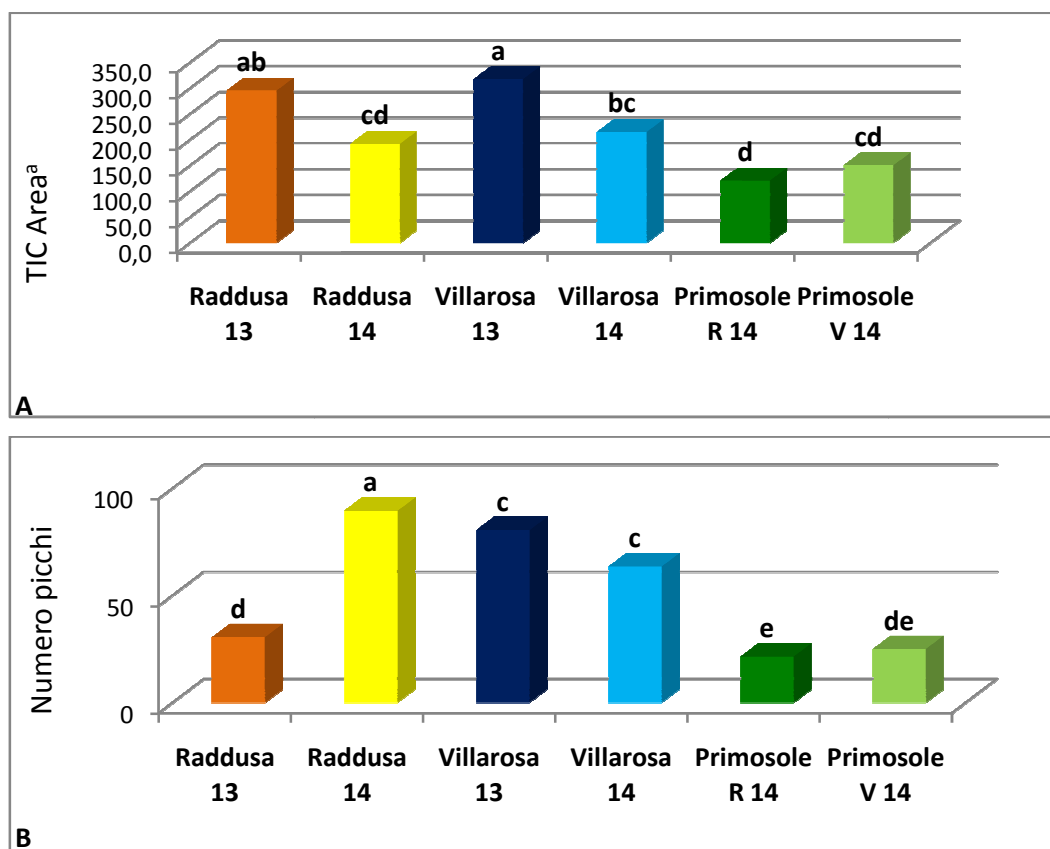
7.4. Effetto delle condizioni ambientali sulla produzione di sostanze volatili della cultivar Timilia

Dall'analisi dei dati rilevati su campioni di Timilia allevati in ambienti diversificati per altimetria e condizioni termopluviometriche, è possibile notare che le tesi allo studio si sono differenziate sia per l'area cromatografica totale che per il numero di picchi individuati. Nell'ambiente Villarosa 13 è stata riscontrata l'area cromatografica maggiore ma differente da Raddusa 13, mentre in Primosole la più bassa (fig. 7.22.).

Occorre tuttavia sottolineare che Raddusa 13 è un ambiente di media collina dove frequentemente si verificano situazioni di stress termico. Tra i composti rilevati si ritrova la benzaldeide che da sola rappresenta il 28% dell'area cromatografica totale. Questo analita è stato accertato in quantità considerevole anche a Primosole dove le condizioni sono tendenzialmente poco favorevoli al frumento.

Il maggior numero di composti isolati è stato rilevato in Raddusa 14 mentre il minore in Primosole.

Figura 7.22. A) area cromatografica totale; B) numero di picchi

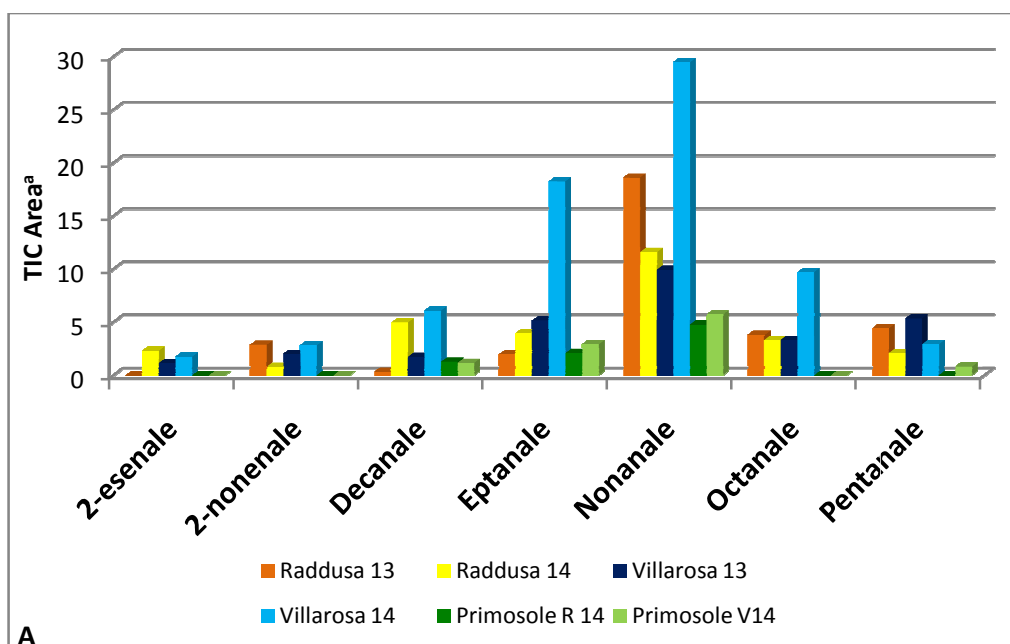


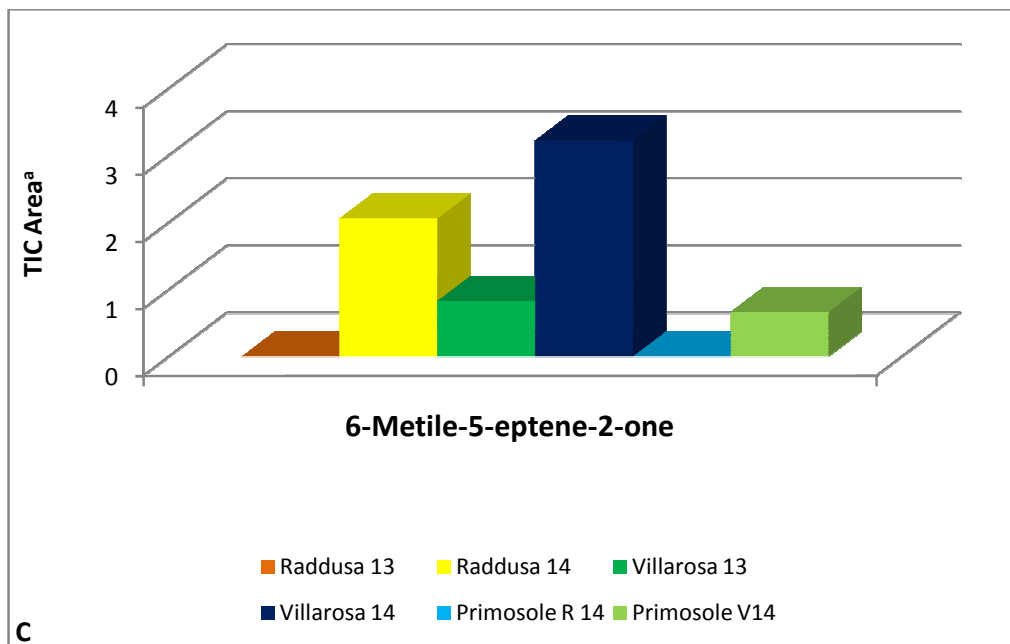
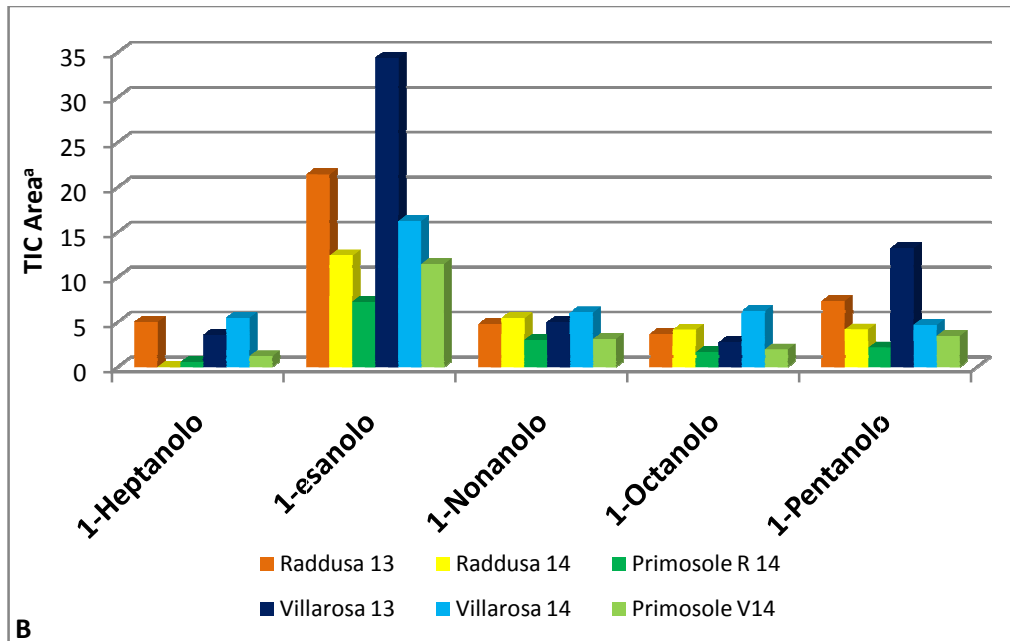
^a TIC area /10E+07. Lettere differenti indicano differenze significative. $P \leq 0.05$.

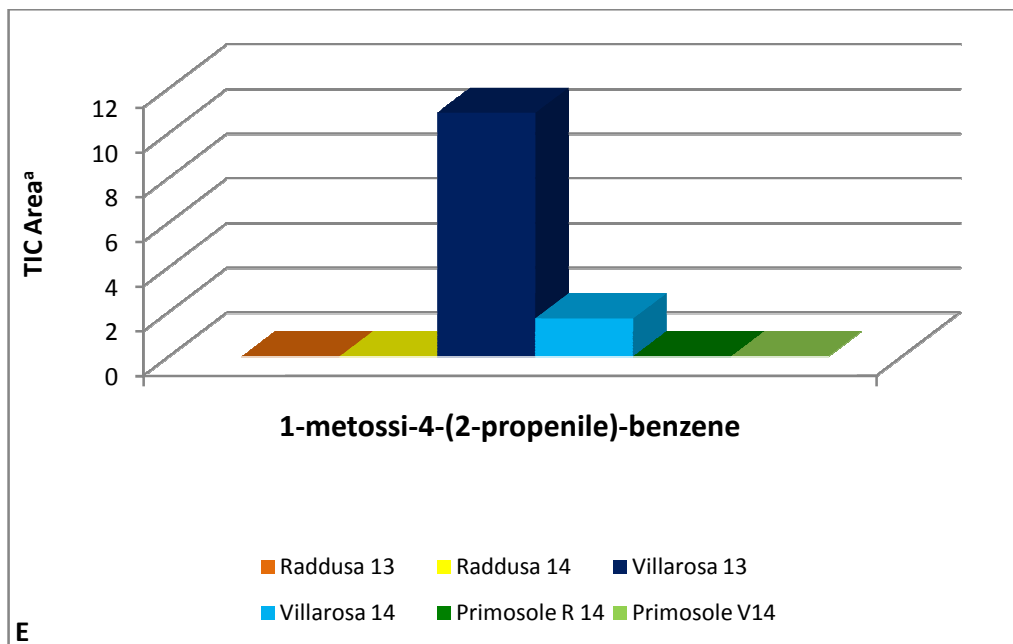
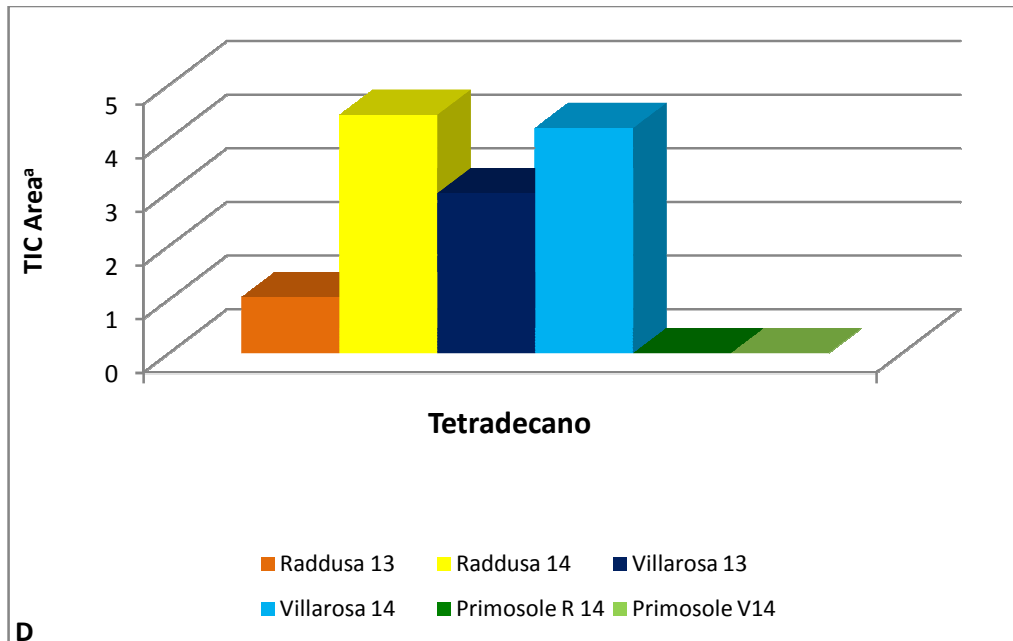
In generale Villarosa mostra complessivamente nei due anni un'area cromatografica più elevata a conferma delle condizioni ambientali più favorevoli all'accrescimento e allo sviluppo del frumento. Ciò è anche dimostrato dal quantitativo dei singoli analiti prodotti tra quelli risultati significativi all'analisi statistica. Particolare riferimento è fatto ad alcune **aldeidi** (2-esenale, 2-nonenale, decanale, eptanale, nonanale, octanale e pentanale), **alcoli** (1-eptanolo, 2-etile-esanolo, 1-nonanolo, 1-octanolo e 1-pentanolo), **idrocarburi aromatici** (1-metile-4-(1-metiletile)-benzene), **chetoni** (6-metile-5-eptene-2-one) e **alcani** (tetradecano) (fig.7.23 e 7.24).

Tra le aldeidi 2-nonenale conferisce un odore di sego, eptanale di rancido e decanale, nonanale e octanale di agrumi.

Gli alcoli sono caratterizzati da una fragranza fruttata e balsamica (1-pentanololo 1-octanololo) (Pereira *et al.*, 2014; Jensen *et al.*, 2011) e di “verde” (1-eptanololo, 1-nonanololo). Anche 6-metile-5-eptene-2-one, tra i chetoni, è caratterizzato da una nota aromatica di “verde”.







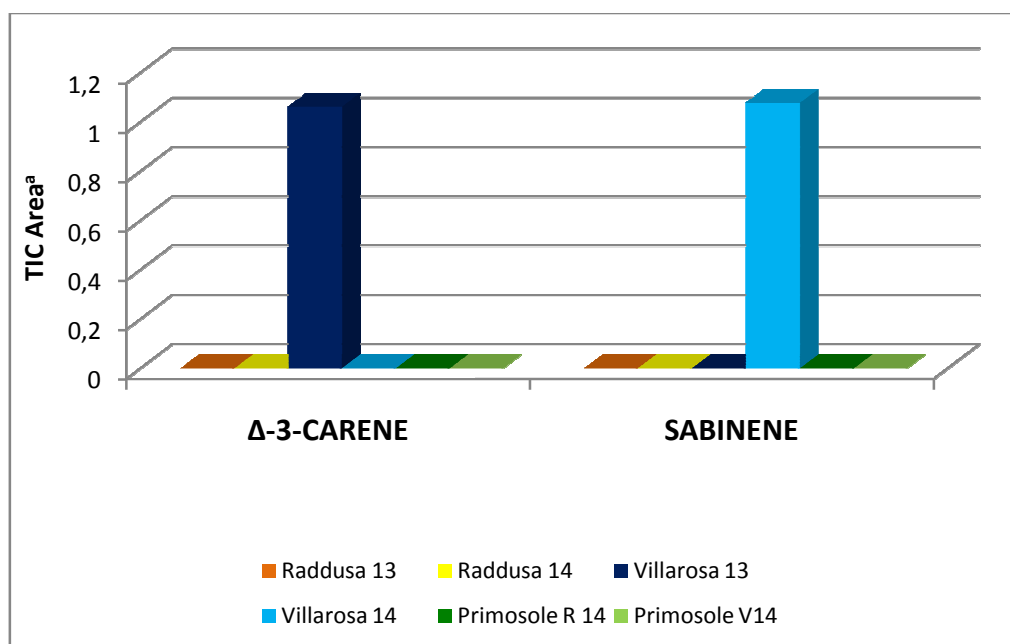


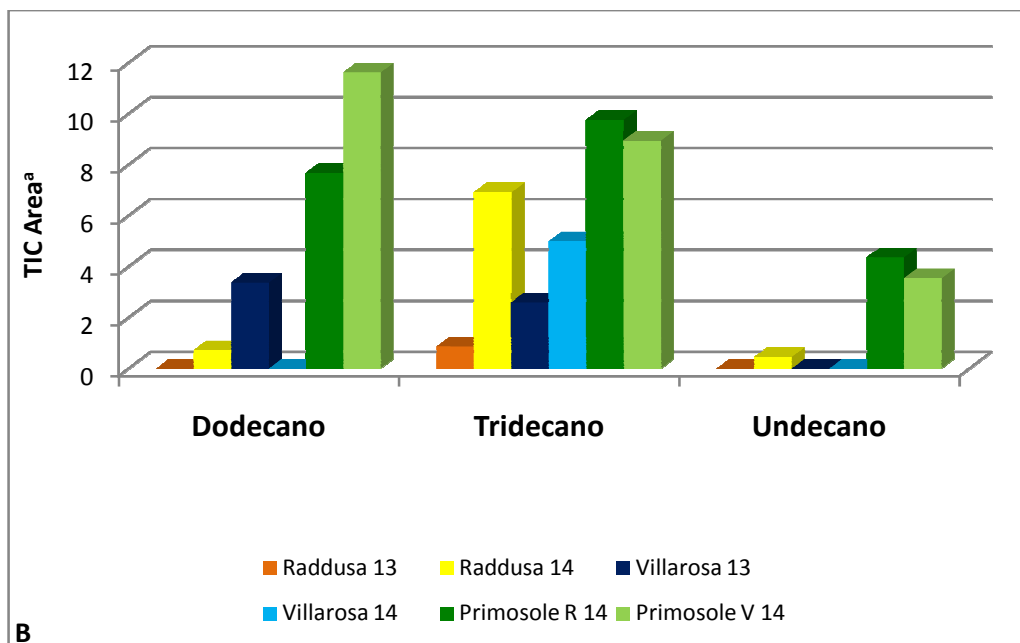
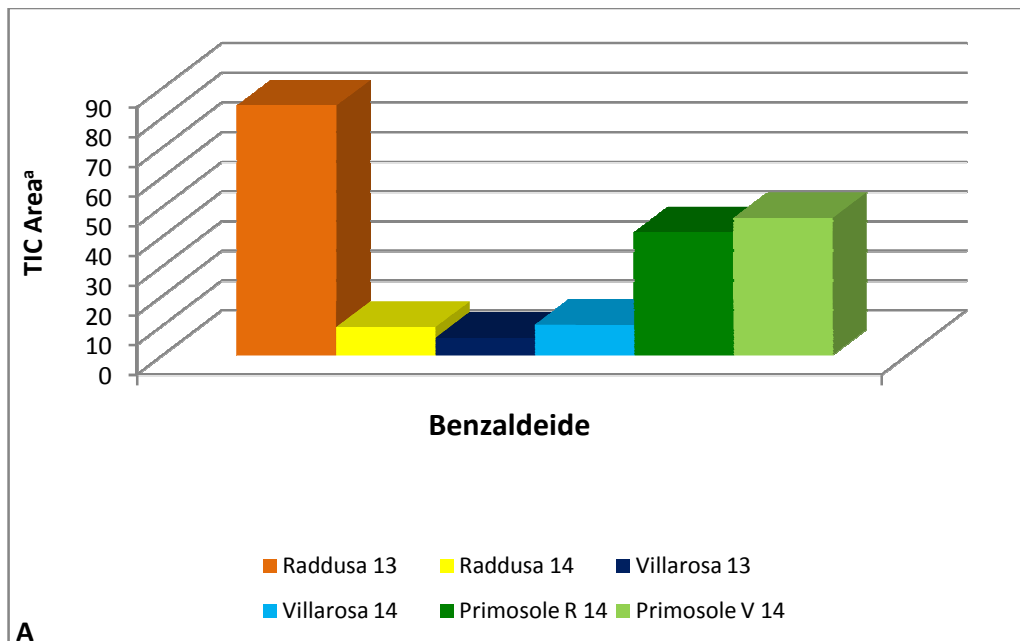
Fig.7.23. Composti rilevati in condizioni favorevoli allo sviluppo della coltura

^a TIC area /10E+07. A) aldeidi, B) alcoli, C) chetoni, D) alcani, E) idrocarburi aromatici, F) terpeni.

In ambienti caratterizzati da stress elevati proprio come Primosole si manifestano invece aldeidi (benzaldeide), alcani (dodecano, tetradecano, undecano) e acidi (acido acetico-estere benzilico) (fig.7.24 e 7.25).

La presenza di alcani, in particolare di benzaldeide, è in accordo con quanto accertato in sede di prove in cui era stato determinato artificialmente lo stress idrico utilizzando le canalette per l'allontanamento dell'acqua piovana.

Anche in quel caso Timilia presentava nelle tesi stressate in un elevato contenuto di alcani.



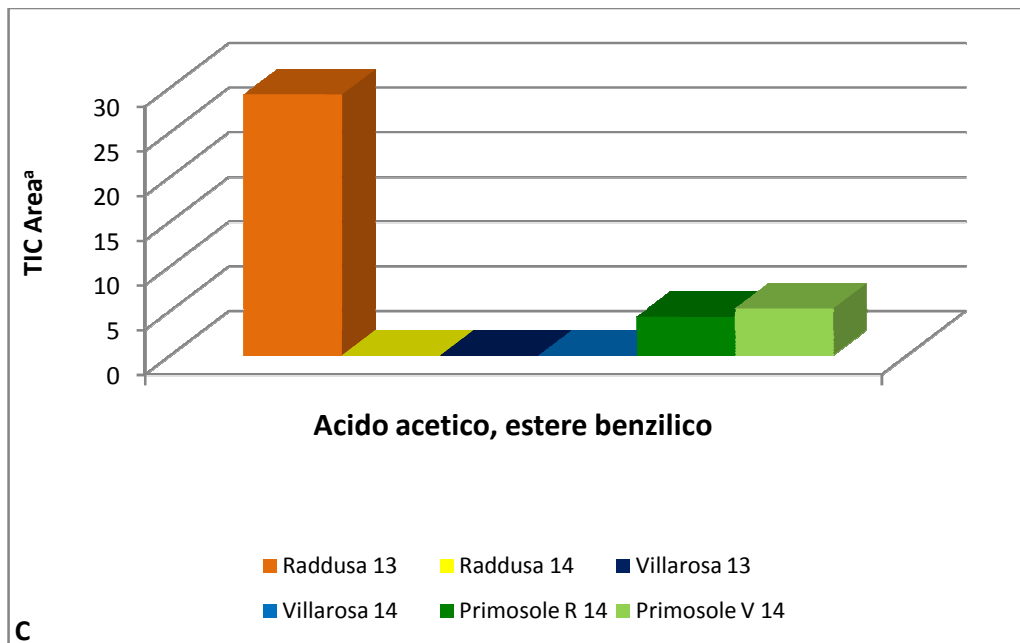
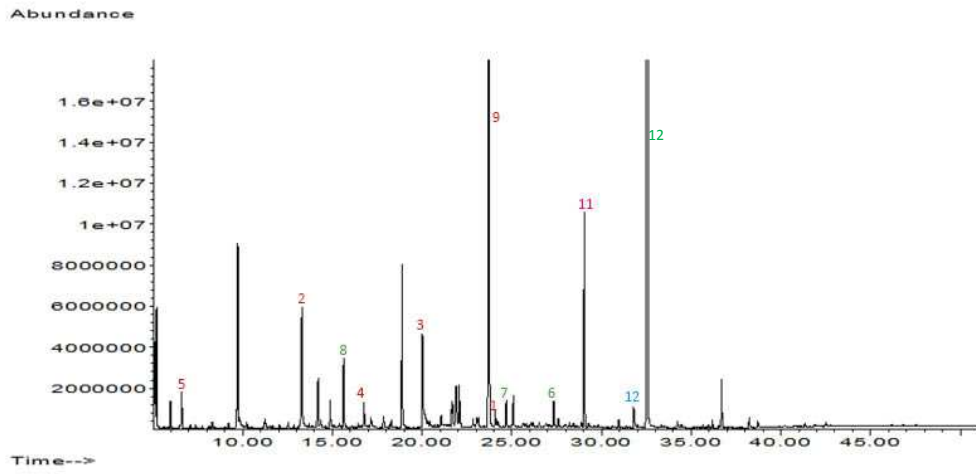


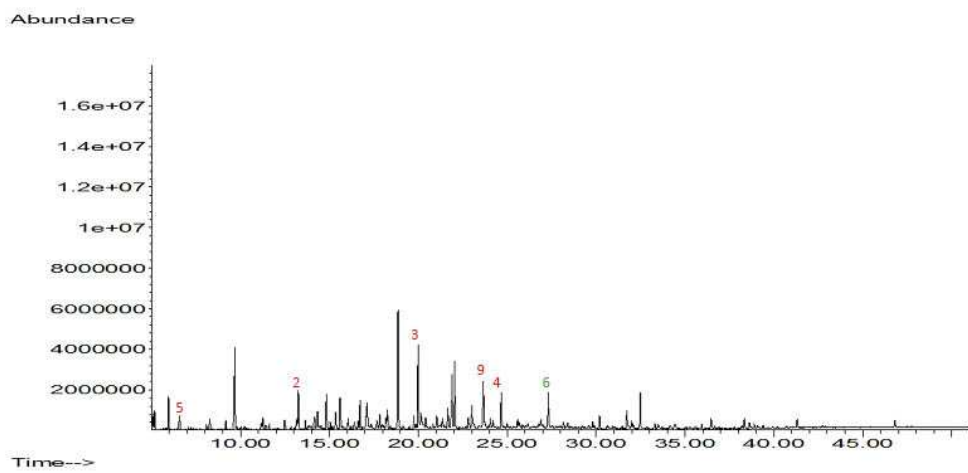
Figura 7.24. Composti rilevati in condizioni sfavorevoli allo sviluppo della coltura

^a TIC area /10E+07. A) aldeidi, B) alcani, C) acidi.

Raddusa 13

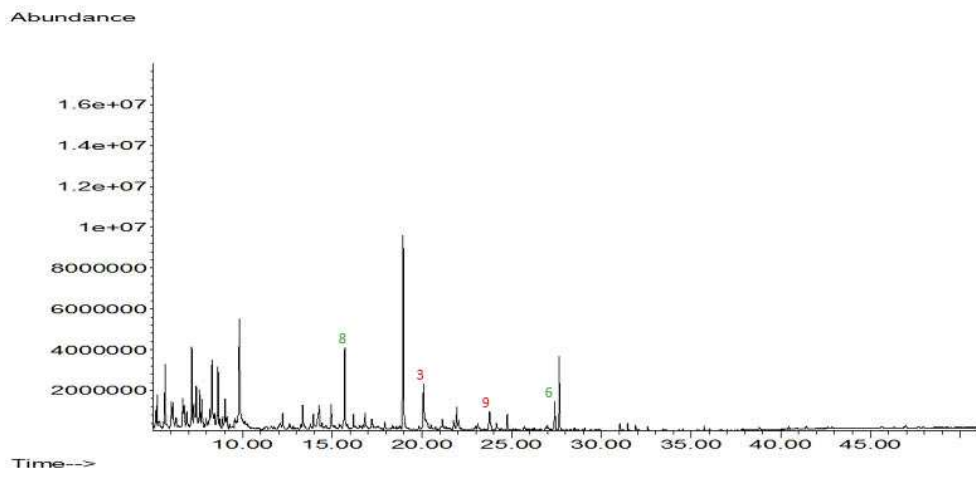


Raddusa 14

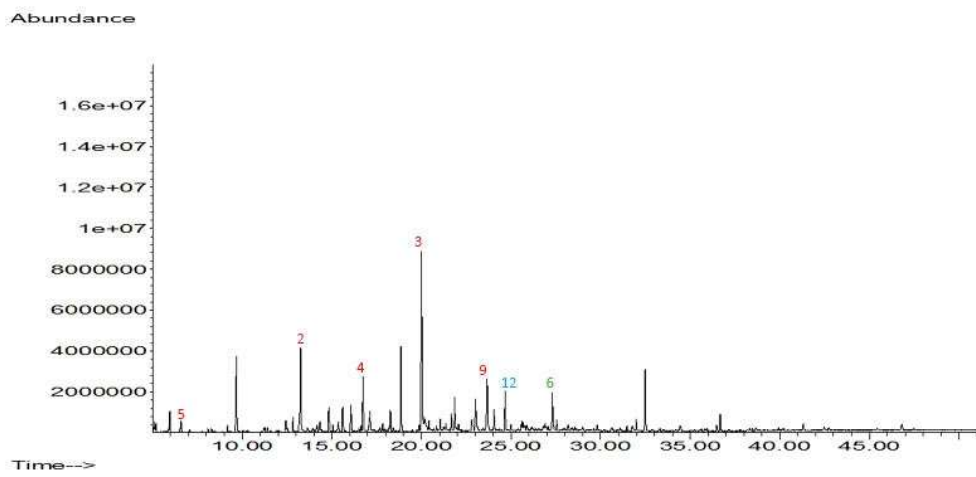


Caratteristiche bioagronomiche e composti volatili di varietà di frumento duro tradizionalmente coltivate in Sicilia

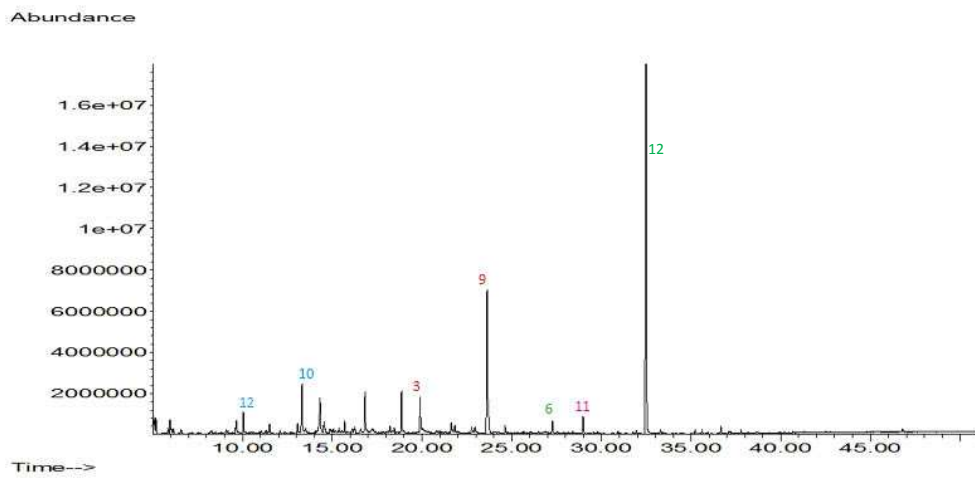
Villarosa 13



Villarosa 14



Primosole R14



Primosole V 14

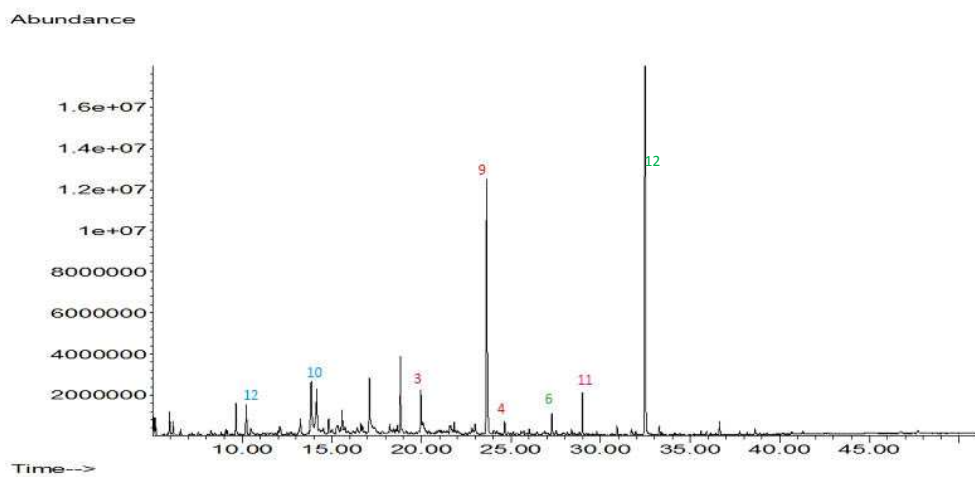


Figura 7.25. Cromatogrammi relativi alle diverse condizioni ambientali.

Composti caratterizzanti: 1) 2-nonenale; 2) eptanale; 3) nonanale; 4) octanale; 5) pentanale; 6) 1-nonanolo; 7) 1-octanolo; 8) 1-pentanolo; 9) benzaldeide; 10) dodecano; 11) acido acetico, estere benzilico; 12) alcol benzilico. Colori diversi indicano classi di composto differenti.

Da notare che malgrado si siano considerati i composti estratti fino al minuto 32, in ambienti in cui si è verificato uno stress idrico, appare l'alcol benzilico in quantità rilevante come già accennato per la benzaldeide.

8. CONCLUSIONI

La ricerca condotta nell'ambito del dottorato in "Produttività delle Piante coltivate in Ambiente Mediterraneo" della quale si riferiscono i risultati si basa su un reperimento di germoplasma di frumento con particolare riferimento alle vecchie varietà di duro tradizionalmente coltivate in Sicilia.

I caratteri biomorfologici rilevati hanno messo in luce differenze a volte marcate e a volte di scarsa entità tra le descrizioni di Autori diversi ed i risultati di questa ricerca. In particolare, le sfumature di colore nelle varietà a reste scure, che a volte si presentano nere solo alla base, o la forma della spiga, che è variata da "fusiforme" a "bordi paralleli". Queste differenze possono essere attribuite ad un numero maggiore di spighe fertili risultato di una tecnica colturale caratterizzata da maggiori input. Altri caratteri corrispondono, invece, alle descrizioni riportate in letteratura, come ad esempio la precocità per i genotipi Russello e Timilia. La descrizione di Trinakria, al contrario, essendo una varietà iscritta al R.N.V., e quindi stabile e distinguibile, corrisponde alla definizione del costituente.

Tra i caratteri scelti per la valutazione delle vecchie popolazioni locali siciliane, le componenti dell'amido appaiono discriminanti. I valori elevati di amilosio accertati in Russello, Timilia e Margherito giustificano l'uso tradizionale degli sfarinati sia per la produzione di pane e di pasta.

Inoltre le immagini al SEM hanno messo in rilievo un ulteriore elemento di differenziazione; nelle varietà più precoci è stata accertata una presenza preponderante di granuli di tipo A contrariamente alle cultivar più tardive.

Lo studio delle sostanze volatili ha permesso di mettere in luce che, prescindendo da fattori ambientali e colturali, alcuni analiti quali benzaldeide, esanale, eptanale, e nonanale sono comuni a tutti i tipi oggetto di indagine, facendo ipotizzare che essi possano costituire una base aromatica tipica del frumento duro. Le rispettive note aromatiche corrispondono a mandorla, erba, grasso, rancido e agrumi.

Inoltre, le varietà tradizionalmente coltivate in Sicilia si sono distinte per particolari composti che potrebbero essere i responsabili dell'odore tipico dei relativi prodotti trasformati. È il caso, ad esempio, di alcuni analiti rilevati in Timilia quali 2-octenale (E), 2-furancarbossaldeide (rilevato in quantità elevate), che sono caratterizzati rispettivamente da una nota di grasso-nocciola e mandorla, e di 6-metile-3,5-eptadiene-2-one e 3-metile-pentadecano le cui note aromatiche non sono ancora conosciute. In Russello, il 2-esenale dovrebbe conferire una nota aromatica di erbaceo. Trinakria si è distinta, invece, per il contenuto di 2-dodecenale la cui nota aromatica è anch'essa erbacea, grasso tipico del coriandolo e per 1-tetradecene, la cui nota aromatica non è conosciuta. Mongibello si contraddistingue per il maggiore contenuto di alcol isoamilico che conferisce un odore balsamico e alcolico, per 1-tridecene con odore di mandorla

e sabinene di agrumi. 2-esenale ed esanale caratterizzano Sicilia per la fragranza di erba.

La sintesi di sostanze aromatiche che si ipotizza essere caratteristica del genotipo, è sembrata variare in relazione anche a fattori ambientali quali ad esempio il regime idrico. Il numero di picchi è stato in generale più basso in regime idrico limitato, ad eccezione di Timilia che con ogni probabilità trova proprio in condizione di stress le migliori prestazioni in termini di accrescimento e sviluppo. Timilia è, infatti, da sempre conosciuto come “grano marzuolo”.

In tutti i genotipi coltivati in regime idrico limitato risulta assente il 3-metilebutanale.

L’osservazione che l’ambiente induce variazioni nella sintesi di sostanze volatili ha trovato conferma nella prova in cui Timilia è stata coltivata in ambienti pedoclimatici diversi.

È stato altresì osservato che in condizioni favorevoli si producono sostanze ascrivibili alla classe delle aldeidi, degli alcoli, dei chetoni, degli idrocarburi aromatici e dei terpeni. Acidi, e tra le aldeidi la benzaldeide, pur se presente nel profilo aromatico del frumento, sono sintetizzati in quantità elevate in ambienti sfavorevoli alla coltura per il regime termico e idrico.

In conclusione è possibile affermare che ai fini della valorizzazione delle varietà tradizionalmente coltivate in Sicilia, individuare, valutare, e caratterizzare nuovi parametri di qualità o caratteri che possano aggiungersi a quelli discriminanti classici può fornire informazioni utili per il miglioramento genetico e la

tracciabilità dei prodotti lungo la filiera. In tal senso, l'analisi delle frazioni aromatiche dei cereali e dei loro derivati può divenire un potenziale strumento di valutazione della qualità da utilizzare come marker varietale.

Il lavoro fin qui svolto deve considerarsi il punto di partenza verso l'innovazione al servizio della filiera cerealicola anche per i prodotti di nicchia.

9. BIBLIOGRAFIA

- Abbate, V., Boggini, C., Coppolino, F., Lombardo, G. M., 1997. Analisi della variabilità tra ed entro popolazione di frumento duro raccolte nell'area iblea. Atti del 3° convegno nazionale Biodiversità – Tecnologie – Qualità. Reggio Calabria – Gallina 16-17 Giugno 1997.
- Ahuja, G., Jaiswal, S., Hucl P., Chibbar, R., (2014). Wheat genome specific granule-bound starch synthase I differentially influence grain starch synthesis. *Carbohydrate Polymers* 114, 87–94
- Ajithkumar, A., Andersson, R., Åman, P., 2005. Content and molecular weight of extractable β -glucan in American and Swedish oat samples. *J. Agric. Food Chem.* 53, 1205-1209.
- Alminger, M., Eklund-Jonsson, C., 2008. Whole-grain cereal products based on high-fibre barley or oat genotype lower post-prandial glucose and insulin responses in healthy humans. *Eur J Nutr.* 47, 294-300.
- Ames, N.P., Rhymer, C.R., 2008. Issues surrounding health claims for barley. *J Nutr.* 138, 1237S-43S.
- Andersson, M., Ellegard, L., Andersson, H., 2002, Oat bran stimulates bile acid synthesis within 8 h as measured by 7α -hydroxy-4-cholesten-3-one. *Am J Clin Nutr.* 76, 1111-1116.
- Andersson, A. A. M., Börjesdotter, D., 2011. Effects of environment and variety on content and molecular weight of β -glucan in oats. *J. Cereal Sci.* 54, 122-128.

- Anker-Nilssen, K., Sahlstrøm, S., Knutsen, S. H., Holtekjølen, A. K., Uhlen, A. K.,
2008. Influence of growth temperature on content, viscosity and relative
molecular weight of water-soluble b-glucans in barley (*Hordeum vulgare* L.).
J. Cereal Sci. 48, 670–677.
- Appelqvist, I.A.M., Debet, M.R.M., 1997. Starch–biopolymer interactions: a review.
Food Reviews International 13, 163–224.
- Baur, S.K., Geisler, G., 1996. b-
Glucan content in caryopses of oat varieties with regard to cultivation year
and nitrogen level. J. Agronomy and Crop Science 176, 5-14.
- Azzi G., 1922. Il clima del frumento in Italia.
- Baldoni R., Giardini L., 2000. Coltivazioni erbacee. Pàtron editore.
- Baldoni R. e Toderi G. - Quaderno n° 8 dell'ENSE, 1959
- Baldwin, P.M., 2001. Starch granule-associated proteins and polypeptides: a
review. Starch/Stärke 53, 475–503.
- Bechtel, D. B., Zayas, I., Kaleikau, L., & Pomeranz, Y. (1990). Size-distribution of
wheat-starch granules during endosperm development. Cereal Chem 67, 59–
63.
- Bechtel, D. B., & Wilson, J. D., 2003. Amyloplast formation and starch granule
development in hard red winter wheat. Cereal Chem 80, 175–183.
- Behall, K.M., Scholfield, D.J., Hallfrisch, J., 2006, Whole-grain diets reduce blood
pressure in mildly hypercholesterolemic men and women, J Am Diet Assoc.
106, 1445-1449.

- Belderok, B., 2000. Developments in bread-making processes. In: Donner, D.A. (Ed.), *Bread-making Quality of Wheat: A Century of Breeding in Europe*, first ed. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 3e86.
- Beleggia, R., Platani, C., Spano, G., Monteleone, M., Cattivelli, L., 2009. Metabolic profiling and analysis of volatile composition of durum wheat semolina and pasta. *J. Cereal Sci.* 49, 301–309.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. 2009. *Food chemistry*. 4th revised and extended edition Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009.
- Bianchi, F., Careri, M., Chiavaro, E., Musci, M., Vittadini, E., 2008. Gas Chromatography-mass spectrometric characterization of the Italian protected designation of origin “Altamura” bread volatile profile. *Food Chem.* 110, 787-793.
- Biliaderis, C.G., 1998. Structures and phase transitions of starch polymers. In: Walter, R.H., (Ed.), *Polysaccharide Association Structures in Foods*, Marcel Dekker, New York, pp. 57–168.
- Birch, A. N., Petersen, M. A., Amerog, N., Hansen, A. S., 2013a. Influence of commercial baker’s yeast on bread aroma profiles. *Food Res. Int.* 52, 160-166.
- Birch, A. N., Petersen, M. A., Hansen, A. S., 2013b. The aroma profile of wheat bread crumb influenced by yeast concentration and fermentation temperature. *LWT-Food Sci. Technol* 50, 480-488. *Food Res. Int.* 52, 160-166.

- Blangiforti, A., Caratterizzazione genetica e bio-agronomica di popolazioni di "Timilia" reperite in Sicilia. Tesi sperimentale di laurea. Anno accademico 1997-98. Catania.
- Blennow, A., Bay-Smidt, A.M., Wischmann, B., Olsen, C.E., Moller, B.L., 1998. The degree of starch phosphorylation is related to the chain length distribution of the neutral and phosphorylated chains of amylopectin. *Carbohydrate Research* 307, 45–54.
- Blennow, A., Bay-Smidt, A.M., Olsen, C.E., Moller, B.L., 2000a. The distribution of covalently bound phosphate in the starch granule in relation to starch crystallinity. *International Journal of Biological Macromolecules* 27, 211–218.
- Blennow, A., Engelsen, S.B., Munck, L., Moller, B.L., 2000b. Starch molecular structure and phosphorylation investigated by a combined chromatographic and chemometric approach. *Carbohydrate Polymers* 41, 163–174.
- Blennow, A., Hansen, M., Schukz, A., Jørgensen, Donald, A. M., Sanderson, J., 2003. *J. Struct Bio.* 143, 229-241.
- Borjesson, T., Stollman, U., Schnürer, J., 1992. Volatile metabolites produced by six fungal species compared with other indicator of fungal growth on cereal grains. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 2599-2605.
- Bourdon, I., Yokoyama, W., Davis, P., Hudson, C., Backus, R., Richter, D., Knuckles, B., Schneeman, B.O., 1999. Postprandial lipid, glucose, insulin, and cholecystokinin responses in men fed barley pasta enriched with beta-glucan. *Am J Clin Nutr.* 69, 55-63.

- Brites C., Lourençodos, S., SoWaBagulho, S., Beirão-da-Costa, M. L., 2008. Effect of wheat puroindoline alleles on functional properties of starch. *Eur Food Res Technol.* 226, 1205–1212.
- Brunner, B.R., Freed, R.D., 1994. Oat grain b-glucan content as affected by nitrogen level, location and year. *Crop Science* 34, 473-476.
- Bufalino, G., 1930. *Fruenti siciliani*. Enna.
- Buléon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S., 1998a. Starch granules: structure and biosynthesis. *International Journal of Biological Macromolecules* 23, 85–112.
- Buśko, M., Jelen, H., Goral, T., Chmielewski, J., Stuper, K., Szwajkowska-Michalek, L., Tyrakowska, B., Perkowski, J., 2010. Volatile metabolites in various cereal grains. *Food Additives and contaminants* 27, 1574-1581.
- Buttery, R., Ling, L. C. Volatile flavor components of corn tortillas and related products. *J. Agric. Food Chem.* 43, 1878-1882.
- Calò, D. G., Scotto, F., Ravaglia, S., 2002. Contenuto proteico del grano e variabili agronomiche: un'analisi statistica. *Statistica*, anno xii, n. 3.
- Cappelli P., Vannucchi V. – *Chimica degli alimenti, conservazione e trasformazione* –Zanichelli, 2009
- Chang, C. Y., Seitz, L. M., Chambers E., 1995. Volatile Flavor Components of Breads Made from Hard Red Winter Wheat and Hard White Winter Wheat. *Cereal Chem.* 72, 237-242.

- Cheetham, N.W.H., Tao, L., 1998b. Solid state NMR studies on the structural and conformational properties of natural maize starches. *Carbohydrate Polymers* 36, 285–292.
- Chiavaro, E., Vittadini, E., Musci, M., Bianchi, F., Curti, E., 2008. Shelf-life stability of artisanally and industrially produced durum wheat sourdough bread (“Altamura bread”). *LWT-Food Sci. Technol.* 41, 58-70.
- Chojecki, A. J. S., Bayliss, M. W., & Gale, M. D. (1986). Cell production and DNA accumulation in the wheat endosperm, and their association with grain weight. *Annals of Botany* 58, 809–817.
- Copeland L., Jaroslav, B., Hayfa, S., Chiming Tang, M., 2008. Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloids* 23, 1527–1534.
- Crescini., F., 1939. Progressi conseguiti in Italia durante gli anni XV e XVI nella cerealicoltura fascista. Roma 1939.
- Cserhati T., 2010. *Chromatography of aroma compounds and fragrances*. Springer Verlag Berlin Heidelberg.
- Damidaux, R., Autran, J. C., Grignac, P., Feillet, P., 1980. Déterminisme génétique des constituants gliadines de *Triticum durum* Desf. Associés à la qualité culinaire intrinsèque des variétés. *C.R. Hebd. Avances Acad. Sci. Sér. D* 291, 595-588.
- Dang, J. M. C., Copeland, L., 2004. Genotype and environmental influences on pasting properties of rice flour. *Cereal Chem.* 81, 486–489.

- Debet, M. R., & Gidley, M. J., 2007. Why do gelatinized starch granules not dissolve completely?. Roles for amylose, protein, and lipid in granule "ghost" integrity. *J. Agr Food Chem.* 55, 4752–4760.
- De Cillis, U., 1933. La granicoltura siciliana e la base del suo miglioramento genetico. Pubblicazione n. 1 della Stazione Sperimentale di Granicoltura Benito Mussolini per la Sicilia. Catania
- Demyttenaere, J. C. R., Moriña, R. M., De Kimpe, N., Sandra, P., 2004. Use of headspace solid-phase microextraction and headspace sorptive extraction for the detection of the volatile metabolites produced by toxigenic *Fusarium* species. *J. Chromatography A* 1027, 147–154.
- Dexter, J. E., Matsuo, E. R., 1978. Effect of semolina extraction rate on semolina characteristics and spaghetti quality. *Cereal Chem.* 55, 841-852.
- Dexter, J. E., Matsuo, E. R., 1979. Change in spaghetti protein solubility during cooking. *Cereal Chem.* 56, 394.
- Disciplinare di produzione del Pane nero di Castelvetro. www.agrinovazione.regione.sicilia.
- Disciplinare di produzione del pane ibleo.
- Doust, M.A., Longo, M.S., Interlandi, S., Lombardo, G.M. 2009. Caratterizzazione agronomica e qualitativa di popolazione di grano duro tradizionalmente coltivate in Sicilia. Atti XXVIII Convegno SIA, Firenze 21-23 Settembre 2009.
- Ebringerova, A., Hromadkova, Z. e Heinze, T., 2005, "Hemicellulose", *Adv. Polymer Sci.*, 186, 1-67.

- EFSA, 2009, Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to beta-glucans and maintenance of normal blood cholesterol concentrations and maintenance or achievement of a normal body weight, EFSA Journal, 7(9): 1254.
- EFSA, 2010, Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to oat beta-glucans and lowering blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease, EFSA Journal, 8(12): 1885.
- EFSA, 2011, Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to barley beta-glucans and lowering blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease, EFSA Journal, 9(12): 2470-2471.
- Ellegard, L., Andersson, H., 2007, Oat bran rapidly increases bile acid excretion and bile acid synthesis: an ileostomy study. Eur J Clin Nutr. 2007 Aug, 61 938-945.
- El-Saharty, Y. S., Tawakkol, M. S., El-Zeany, B.A., Berger, R. G. 1997. Odour active compound of fresh wheat germ. Adv. Food Sci. 19, 90-94.
- Evers, A. D. (1971). Scanning electron microscopy of wheat starch III. Granule development in the endosperm. Starch/Stärke, 23, 157–160.
- Fulgoni, V.L. III, Mueller S., 2001, Cereal Fibre and Heart Disease, "Advanced Dietary Fibre Tecn.", Mc. Cleary B.V. e Prosky L. (Eds.): 232-236.
- Gallant, D.J., Bouchet, B., Baldwin, P.M., 1997. Microscopy of starch: evidence for a new level of granule organization. Carbohydrate Polymers 32, 177–191.

- Gallo, G., Barbera, A. C., Blanciforti, S., Favara, C., Foti, S., Raimondo, I., 1997. Timilia: raccolta di nuove accessioni, validazione preliminare e potenziale utilizzazione. Atti del 3° Convegno Nazionale Biodiversità tecnologie- qualità. Reggio Calabria-Gallina 16-17 giugno 1997.
- Gidley, M. J. (1989). Molecular mechanisms underlying amylose aggregation and gelation. *Macromolecules* 22, 351–358.
- Greenwell, P., Schofield, J.D., 1986. A starch granule protein associated with endosperm softness in wheat. *Cereal Chem.* 63, 379–380.
- Güler, M., 2003. Nitrogen and irrigation effects on b-glucan content of wheat grain. *Acta Agriculturae Scandinavia, Section B, Soil and Plant Science* 53, 156-160.
- Hipsely, E.H., 1953, *Dietary "fibre" and pregnancy toxemia*, *British Medical Journal* 2, 420-422.
- Heydanek, M. G.; McGorin, R. J., 1981a. Gas chromatography-mass spectroscopy investigations on the flavor chemistry of oat groats. *J. Agric. Food Chem.*, 29, 950-954.
- Heydanek, M. G.; McGorin, R. J., 1981b. Gas chromatography-mass spectroscopy identification of volatiles from rancid oat groats. *J. Agric. Food Chem.* 29, 1093-1095.
- Hizukuri, S., 1985. Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules. *Carbohydrate Research* 141, 295–305.

- Hizukuri, S., 1986. Polymodal distribution of the chain lengths of amylopectin and its significance. *Carbohydrate Research* 147,342–347.
- Hizukuri, S., 1988. Recent advances in molecular structures of starch. *Denpun Kagaku* 35, 185–198.
- Hizukuri, S., 1993. Towards an understanding of the fine structure of starch molecules. *Denpun Kagaku* 40, 133–147.
- Hougen, F.W., Quilliam, M.A., Curran, W. A., 1971. Headspace vapors from cereal grain. *J. Agr. Food Chem.* 19, 182-183.
- Huang, C. J., Zayas, J. F., 1996. Aroma characteristics of corn germ protein flours. *J. Food Sci.* 61, 258-261.
- Interlandi, S., 2003-2004. Valutazione di varietà tradizionali di grano duro e turgido in regime di agricoltura biologica. Tesi sperimentale di laurea. Università degli studi di Catania. Relatore Prof.ssa G. M. Lombardo.
- Jane, J., Chen, Y.Y., Lee, L.F., McPherson, A.E., Wong, K.S., Radosavljevic, M., Kasemsuwan, T., 1999. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chem.* 76, 629–637.
- Jannaccone., A., 1950. Coltivazioni erbacee (cereali). Casa del Libro. Catania.
- Jeleń, H., Latus-Ziętkiewicz, D., Wąsowicz, E., Kamiński, E., 1997. Trichodiene as a volatile marker for trichothecenes biosynthesis. *J Microbiol Meth.* 31, 45-49.

- Jeleń, H. H., Grabarkiewicz-Szezesna J., 2005. Volatile compounds of *Aspergillus* strains with different abilities to produce ochratoxin A. J. Agric. Food Chem. 53, 1678-1683.
- Jensen, S., Oestda, H., Skibsted, L. H., Larsen, E., Thybo A K., 2011. Chemical changes in wheat pan bread during storage and how it affects the sensory perception of aroma, flavour, and taste. J. Cereal Sci. 53, 259-268.
- Karkalas, J., & Raphaelides, S., 1986. Quantitative aspects of amylose–lipid interactions. Carbohydrate Research, 157, 215–234.
- Kasemsuwan, T., Jane, J.L., 1996. Quantitative method for the survey of starch phosphate derivatives and starch phospholipids by P-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. Cereal Chem. 73, 702–707.
- Kiseleva, V.I., Tester, R.F., Wasserman, L.A., Krivandin, A.V., Popov, A.A., Yuryev, V.P., 2003. Influence of growth temperature on the structure and thermodynamic parameters of barley starches. Carbohydrate Polymers 51, 407–415.
- Laesen, T. O., Frisvad J., 1995. Characterization of volatile metabolites from 47 *Penicillium* taxa. Mycol Res. 99, 1153-1166.
- Landi, A., 1987. Caratteristiche ottimali del grano duro e tenero per i prodotti destinati all'alimentazione. Informatore agrario, 36, 29-22
- Larsen, T. O., Frisvard, J. C., 1995. Characterization of volatile metabolites from 47 *Pennicillium* taxa. Mycol. Res., 99, 1153-1166.

- Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., 2007. Molecular aspects of cereal b-glucan functionality: physical properties, technological applications and physiological effects. *J. Cereal Sci.* 46, 101-118.
- Lenardis, A. E., Van Baren, C., Di Leo Lira, P., Ghersa, C. M., 2007. Plant–soil interactions in wheat and coriander crops driving arthropod assemblies through volatile compounds. *Europ. J. Agronomy* 26, 410-417.
- León, A.E., Barrera G.N., Pérez G.T., Ribotta, P.D., Rosell, C.M., 2006. *Eur Food Res Technol.* 224,187–192.
- Lim, H.S., White, P.J., Frey, K.J., 1992. Genotypic effects on b-glucan content of oat lines grown in two consecutive years. *Cereal Chem.* 69, 262-265.
- Lindeboom, N., Chang, P. T., Tyler, R. T., 2004. Analytical, biochemical and physiochemical aspects of starch granule size, with emphasis on small granule starches: a review. *Starch/stärke* 56, 89-99.
- Lombardo G. M., 1994. La scelta della varietà ai fini della valorizzazione della qualità della granicoltura iblea. Atti del convegno “Il futuro della granicoltura iblea”. Modica 11-17 dicembre 1994.
- Lombardo G. M., 2004. Evoluzione varietale del frumento duro in Sicilia nel corso del XX secolo. In: *I frumenti siciliani*. Ugo De Cillis. Giuseppe Maimone editore.
- Lorenz, K., Maga, J. A., 1972. Triticale and wheat flour studies: compositions of fatty acids, carbonyls, and hydrocarbons. *J. Agr. Food Chem.* 20, 769-772.

- Lorenzo, J. M., 2014. Influence of the type of fiber coating and extraction time on foal dry-cured loin volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). *Meat Sci.* 96, 179-186.
- Maeda, T., Kikuma, S., Araki, T., Ikeda, G., Takeya, K., Sagara, Y., 2009. The Effects of Mixing Stage and Fermentation Time on the Quantity of Flavor Compounds and Sensory Intensity of Flavor in White Bread. *Food Sci. Technol. Res.* 15, 117-126.
- Maga, J. A., 1978. Cereal volatiles, A review. *J. Agric. FoodChem.* 26, 175-178.
- Makelainen H., Anttila H., Sihvonen J *et al.*, 2007, The effect of beta-glucan on the glycemic and insulin index, *Eur J Clin Nutr.* 61, 779-85.
- Mattiolo, E., Lombardo, G. M., Anastasi, U., Tuttobene, R., Licciardello, F., Litrico, A., 2014. Studio Del Profilo Aromatico Della Granella Di Varieta' Antiche Di Frumento Duro. *Convegno Nazionale di Agronomia, Pisa 17-19 settembre 2014.*
- McGowan, B.M., Bloom, S.R., 2004. *Peptide YY and appetite control.* *Curr Opin Pharmacol.* 4, 583-588.
- McWilliams, M., Mackey, A. C., 1969. Wheat flavor components. *J. Food Sci.* 493-496.
- Mo, X., Xu, Y., Fan, W., 2010. Characterization of aroma compounds in Chinese rice wine Qu by solvent-assisted flavor evaporation and headspace solid-phase microextraction. *J. Agric. Food Chem.* 58, 2462-2464.

- Moran T.H., 2000, Cholecystokinin and satiety: current perspectives. *Nutr* 16, 858-865.
- Morris, C.F., 2002. Puroindolines: the molecular genetic basis of wheat grain hardness. *Plant Molecular Biology*. 48, 633–647.
- Morrison, W.R., 1985. Lipids in cereal starches. In: Hill, R.D., Munck, L.(Eds.), *New Approaches to Research on Cereal Carbohydrates*, Elsevier, Amsterdam, pp. 61–70.
- Morrison, W.R., 1988. Lipids in cereal starches: a review. *J. Cereal Sci.* 8, 1–15.
- Morrison, W.R., Karkalas, J., 1990. Starch. In: Dey, P.M., (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 2. Academic Press, London, pp. 323–352.
- Morrison, W.R., 1993. Cereal starch granule development and composition. In: Shewry, P.R., Stobart, K. (Eds.), *Seed Storage Compounds: Biosynthesis, Interactions and Manipulation*, Oxford Science Publications, Oxford, 175–190
- Morrison, W.R., 1995. Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality. *Cereal Foods World* 40, 437–446.
- Mua, J.P., Jackson, D.S., 1997. Fine structure of corn amylose and amylopectin fractions with various molecular weights. *J. Agr. and Food Chem.* 45, 3840–3847.
- Mulders, E. J. 1973. The odor of white bread. IV. Quantitative determination of constituents in the vapor and their odor values. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 151:310.

- Nilsson, A.C., Ostman, E.M., Holst, J.J., Bjorck, I.M., 2008. Including indigestible carbohydrates in the evening meal of healthy subjects improves glucose tolerance, lowers inflammatory markers, and increases satiety after a subsequent standardized breakfast. *J Nutr* 138, 732-739.
- Oda, S., Schofield, J.D., 1997. Characterisation of friabil in polypeptides. *J. Cereal Sci.* 26, 29–36.
- Olsen, O.-A. (2001). Endosperm development: Cellularization and cell fate specification. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 233–267.
- Pawliszyn, J., 2000. Theory of solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. Sci.* 38, 270-278.
- Olszewski, P.K., Li, D., Grace, M.K., Billington, C.J., Kotz, C.M., Levine, A.S., 2003. Neural basis of orexigenic effects of ghrelin acting within lateral hypothalamus. *Peptides* 24, 597-602.
- O'Neil, M.J. Peculiar odor, somewhat resembling the odor of benzaldehyde. *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 13th Edition, Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc., 2001., p. 764
- Park, S. H., Wilson, J. D., Seabourn, B. W., 2009. Starch granule size distribution of hard red winter and hard red spring wheat: its effects on mixing and breadmaking quality. *J. Cereal Sci.* 49, 98-105.
- Papageorgiou M., Lakhdara N., Lazaridou A., Biliaderis C.G. e Izydorczyk M.S., 2005, Water extractable (1-3),(1-4)-beta-D-glucans from barley and oats: An

- intervarietal study on their structural features and rheological behaviour, J. Cereal Sci, 42, 213-224.
- Pawliszyn, J., 1997. Solid Phase Microextraction: Theory and Practice. Department of chemistry, University of Waterloo. Waterloo Ontario Canada.
- Pawliszyn, J., 1999. Applications of Solid Phase Microextraction. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Pawliszyn, J., 2000. Theory of solid-phase microextraction. J. Chromatogr. Sci. 38, 270-278.
- Pawliszyn, J., 2002. Sampling and Sample Preparation for Field and Laboratory. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Pawliszyn, J., 2012. Handbook of Solid Phase Microextraction. Elsevier Inc., London.
- Peng M, Gao M, Abdel-Aal E, Hucl P, Chibbar R (1999) Cereal Chem 76:375–379
- Pereira, V., Cachi, J., Marques, J. C., 2014. Volatile profile of Madeira wines submitted to traditional accelerated ageing. Food Chem. 162, 122-134.
- Perry, G. H., Dominy, N. J., Claw, K. G., Lee, A. S., Fiegler, H., Redon, R., *et al.* (2007). Diet and evolution of human amylase gene copy number variation. Nature Genetics, 39, 1256–1260.
- Perkowski, J., Buśko, M., Chmielewski, J., Góral, T., Tyrakowska, B., 2008. Content of tricosdiene and analysis of fungal volatiles (electronic nose) in wheat and triticale grain naturally infected and inoculated with *Fusarium Culmorum*. Int. J Food Microbiol. 126, 127-134.

- Peterson, D.M., 1992. Composition and Nutritional Characteristics of Oat Grain and Products. In: Marshall, H.G., Sorrells, M.E. (Eds.), Oat Science and Technology. Agronomy Monograph (33). American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, pp. 265-292.
- Pfannhauser, W., 1990. Volatile compounds during the extrusion cooking of a wheat-barley cross. Dtsch. Lebensm. Rundsch., 86, 69-72.
- Pfannhauser, W., 1993 Volatiles formed during extrusion cooking of cereals. Flavour Fragrance J., 8, 109-113.
- Piesika, D., Pan' kab, D., Delaney, K. J., Skoczek, A., Lamparska, R., Weaver, D. K., 2011. Cereal crop volatile organic compound induction after mechanical injury, beetle herbivory (*Oulema* spp.), or fungal infection (*Fusarium* spp.). J Plant Physiol. 168, 878–886.
- Plutowska, B., Wardencki W., 2008. Application of gas chromatography–olfactometry (GC–O) in analysis and quality assessment of alcoholic beverages – A review. Food Chem. 107, 449–463.
- Poinot, P., Grua-Priol, J., Arvisenet, G., Rannou, C., Semenou, M. Bail, A. L., Prost, C., 2007. Optimization of HS-SPME to study representativeness of partially baked bread odorant extracts. Food Res. Int. 40, 1170-1184.
- Poinot, P., Arvisenet, G., Grua-Priol, J., Colas, J., Fillonneau, C., Le Bail, A., Prost, C., 2008. Influence of formulation and process on the aromatic profile and physical characteristics of bread. J. Cereal Sci. 48, 686-697.

- Poinot, P., Arvisenet, G., Grua-Priol, J., Colas, J., Fillonneau, C., Le Bail, A., Prost, C., 2009. Use of an artificial mouth to study bread aroma. *Food Res. Int.* 42, 717-726.
- Porfiri, O., 2014. *I frumenti Dalle varietà al campo*. Editore Pentàgora. Rete semi rurali.
- Prestianni, N., 1926. *Frumenti coltivati in Sicilia*. Commissione provinciale per la propaganda, Agenzia Caltanissetta.
- Preston, K. R., March, P. R., Tipples, K. H., 1982. An assessment of SDS-sedimentation test for prediction of Canadian bread quality. *Can. J. Plant Sci.* 62, 545-553.
- Raeker, M., Gaines, C., Finney, P., Donelson, T., 1998. Granule size distribution and chemical composition of starches from 12 soft wheat cultivars. *Cereal Chem.* 75, 721–728.
- Redaelli, R., Del Frate, V., Bellato, S., Terracciano, G., Ciccoritti, R., Germeier, C. U., De Stefanis, E., Sgrulletta, D., 2013. Genetic and environmental variability in total and soluble b-glucan in European oat genotypes. *J. Cereal Sci.* 57, 193-199.
- Richard-Molard, D., NAGO, M. C., DRAPRON, R. 1979. Influence of the breadmaking method on French bread flavor. *Baker's Dig.* 53, 34.
- Ridout, M.J., Gunning, A.P., Parker, M.L., Wilson, R.H., Morris, V.J., 2002. Using AFM image the internal structure of starch granules. *Carbohydr. Polym.* 50, 123–132.

- Ruitz, J. A., Quilez, J., Mestres, M., Guasch, J., 2003. Solid-phase microextraction method for headspace analysis of volatile compounds in bread crumb. *Cereal Chem.* 80, 255-259.
- Rychlik, M.; Grosch, W. 1996. Identification and quantification of potent odorants formed by toasting of wheat bread. *Lebensm. Wiss. Technol.* 29, 515-525.
- Rowe, D. J., 1998. *Aroma Chemicals for Savory Flavors Perfumer & Flavorist.* Oxford Chemicals, North Gare, Seaton Carew, Hartlepool, U. Vol. July/August. 23. 1998
- Sayaslan, A., Chung, O. K., Seib, P. A., Seitz, L. M., 2000. Volatile compounds in five starches. *Cereal Chem.* 77, 248-253.
- Sasaki, T., Matsuki J., 1998. Effect of Wheat Starch Structure on Swelling Power. *Cereal Chem.* 75:525–529.
- Schofield, J.D., 1994. Wheat proteins: structure and functionality in milling and breadmaking. In: Bushuk, W., Rasper, V. (Eds.), *Wheat Production, Composition and Utilisation*, Blackie, Glasgow, pp. 73–106.
- Seitz, L.M., 1995. Volatile compounds in wheat cultivars from several locations in Kansas. In: Charalambous, G. (Ed.), *Food Flavors: Generation, Analysis, and Process Influence.* Elsevier Science B.V., Amsterdam, pp. 2183–2203.
- Senthilkumar, T., Jayas, D.S., White, N.D.G., Freund, M.S., Shafai, C., Thomson, D.J., 2012. Characterization of volatile organic compounds released by granivorous insects in stored wheat. *J Stored Prod Res* 48, 91-96.

- Scheppach, W., 1994. Effects of short chain fatty acids on gut morphology and function. *Gut*. 35, S35-S38.
- Shimizu C., Kihara M., Aoe S. *et al.*, 2008, Effect of high beta-glucan barley on serum cholesterol concentrations and visceral fat area in japanese men-a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial, *Plant Foods Hum Nutr* 63, 21-25.
- Shirey, R.E., 2000a. Optimization of extraction conditions and fiber selection for semivolatile analytes using solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. Sci.* 38, 279-288.
- Simmonds, D., & O'Brien, T. (1981). Morphological and biochemical development of the wheat endosperm. In Y. Pomeranz (Ed.), *Advances in cereal science and technology* (Vol. 4) (pp. 5–70). St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists.
- Sinha, R. N., Tuma, D., Abramson, D., Muir, W. E., 1988. Fungal volatiles associated with moldy grain in ventilated and non-ventilated bin-stored wheat. *Mycopathologia* 101, 53-50.
- Slavin J.L., 2005, Dietary fiber and body weight. *Nutr* 21, 411-8.
- Snart, J., Bibiloni, R., Grayson, T., Vasanthan, T., Bell, R., 2006. Supplementation of the diet with high-viscosity beta-glucan results in enrichment for lactobacilli in the rat cecum, Tannock G.W. *Appl Environ Microbiol* 72, 1925-1931.

- Takeda, Y., Hizukuri, S., Takeda, C., Suzuki, A., 1987. Structures of branched molecules of amyloses of various origins and molar fractions of branched and unbranched molecules. *Carbohydrate Research* 165, 139–145.
- Talou, T.; Sanchez, J. M.; Bourrounet, B. 1996. New trends in electronic noses for flavour chemistry. In *Flavour Science: Recent Developments*; Taylor, A. J., Mottram, D. S., Eds.; Royal Society of Chemistry: Cambridge, U.K., 1996; pp 277-282.
- Tapola, N., Karvonen, H., Niskanen, L., Mikola, M., Sarkkien, E., 2005, Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients, *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 15, 255-61.
- Tester, R. F., Morrison, W. R., 1990. Swelling and Gelatinization of Cereal Starches. II. Waxy Rice Starches. *Cereal Chem.* 67:551–557.
- Tester, R.F., Karkalas, J., 2002. Starch. In: Steinbüchel, A. (Series Ed.) Vandamme, E.J., De Baets, S., Steinbüchel, A. (vol. Eds.), *Biopolymers*, vol. 6. Polysaccharides. II. Polysaccharides from Eukaryotes, Wiley–VCH, Weinheim, pp. 381–438.
- Torrens, J., Riu-Aumantell, M., Lòpez-Tamames, E., Buxaderas, S., 2004. Volatile compounds of red and white wine by headspace-solid phase microextraction using different fibers. *J. Chromatogr.* 42, 310-316.
- Trowell, H.C., 1974, Definition of dietary fibre, *Lancet* 503.
- Vermeylen, R., Goderis, B., Reynaers, H., Delcour. J. A., 2005. *Carbohydr. Polym.* 62,170–181.

- Viggiani, P., 2007. Aspetti storici ed artistici. In *Il Grano. Coltura e cultura*.
Coordinatore Renzo Angelini; Bayer CropScience.
- Vitaglione, P., Lumaga, R.B., Stanzione, A., Scalfi, L., Fogliano, V., 2009, Beta-
glucan-enriched bread reduces energy intake and modifies plasma ghrelin
and peptide YY concentrations in the short term. *Appetite* 23, 338-344.
- Wang, L.Z., White, P.J., 1994. Structure and properties of amylose, amylopectin
and intermediate material of oat starches. *Cereal Chem.* 71, 263–268.
- Welch, R.W., Leggett, J.M., Lloyd, J.D., 1991. Variation in the kernel (1/3)(1/4)-b-D-
glucan content of oat cultivars and wild *Avena* species and its relationship to
other characteristics. *J. Cereal Sci.* 13, 173-178.
- Wercinski, S. A.S., 1999. Solid phase microextraction – A practical guide. Marcel
Dekker, New York
- Wong, J.M., De Souza, R., Kendall, C.W., Emam, A., Jenkins, D.J., 2006. 2006.
Colonic health: fermentation and short chain fatty acids, *J Clin Gastroenterol*
40,235-243.
- Yashushi, Y.B., Takenouchi, T., Takeda, Y., 2002. Molecular structure and some
physicochemical properties of waxy and low-amylose barley starches.
Carbohydrate Polymers 47, 159–167.
- Yoshimoto, Y., Tashiro, J., Takenouchi, T., Takeda, Y., 2000. Molecular structure
and some physicochemical properties of high-amylose barley starch. *Cereal
Chem.* 77, 279–285.

Yusuf, O. K., Bewaji, C. O., 2011. GC-MS of volatile components of fermented wheat germ extract. *Journal of Cereals and Oil seeds* 2, 38-42.

Zhang, H., Zhang, W., Xu, C., Zhou, X., 2013. Morphological features and physicochemical properties of waxy wheat starch. *International J. Biological Macromolecules* 62, 304-309.

Zhou, M., Robards, K., Holmes, M. G., Helliwell, S., 1999. Analysis of volatile compounds and their contribution to flavor in cereals. *J. Agric. Food Chem.* 47, 3941-3953.

www.faostat.org

www.istat.it

www.minambiente.it

www.minerva.unito.it

www.politicheagricole.it

www.supelco.com