



Università Campus Bio-Medico di Roma

Corso di dottorato di ricerca in Scienze biochimiche e  
tecnologiche applicate agli alimenti e alla nutrizione  
XXV ciclo anno 2010

**Cereali nell'alimentazione umana come fonte di composti  
utili per il miglioramento e il mantenimento dello stato di  
salute**

**L'Avena come caso-studio**

**Silvia Bellato**

Coordinatore  
Prof.ssa Laura De Gara

Tutore  
Dott.ssa Maria Grazia D'Egidio  
Dott.ssa Daniela Sgrulletta

*Silvia Bellato*

31 01 2013

## INDICE

INTRODUZIONE .....	4
1. Ruolo dei cereali nell'alimentazione umana.....	5
1.1 L'avena .....	7
1.1.1 Composizione della cariosside di avena .....	8
1.1.1.1 Contenuto proteico.....	11
1.1.1.2 I grassi .....	11
1.1.1.3 Composti con proprietà antiossidanti.....	12
1.2 La fibra alimentare .....	13
1.2.1 Caratteristiche e Componenti della fibra.....	13
1.2.2 Fibra solubile: il $\beta$ -glucano.....	16
1.2.2.1 Proprietà nutrizionali del $\beta$ -glucano .....	17
2. Fattori genetici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena.....	19
2.1 Miglioramento genetico .....	19
2.1.1 Metodi di analisi rapidi ed accurati per la valutazione del potenziale nutrizionale dell'avena.....	21
2.1.1.1 La spettroscopia nel vicino infrarosso.....	21
3. Fattori tecnologici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena.....	26
3.1 Il processo di parboilizzazione.....	26
3.2 Il processo di macinazione .....	27
3.2.1 Processo di macinazione tradizionale vs processi innovativi.....	27
3.2.1.1 Micronizzazione e turbo separazione .....	28
4. Il processo tecnologico per la produzione di pasta.....	28
4.1 Nuovi prodotti ad elevato valore nutrizionale per ampliare il consumo dell'avena nell'alimentazione umana.....	29
OBIETTIVO .....	31
MATERIALI E PROCESSI TECNOLOGICI.....	33
1. Fattori genetici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena .....	34
1.1 Sviluppo di metodi di analisi rapidi ed accurati per lo screening di materiale genetico: la spettroscopia nel vicino infrarosso (NIR/NIT).....	34
1.2 Valutazione della variabilità genetica in accessioni di Avena per il contenuto in $\beta$ -glucano totale e solubile .....	35
1.3 Valutazione della variabilità genetica dell'avena nuda in test tecnologici per la produzione di alimenti innovativi.....	36
2. Fattori tecnologici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena e di altri cereali di interesse.....	37

Silvia Bellato

2.1 I processi applicati .....	37
2.1.1 <i>Trattamento idrotermico di parboilizzazione</i> .....	37
2.1.2 <i>Micronizzazione e turboseparazione</i> .....	37
2.1.3 <i>Processo di pastificazione</i> .....	37
2.1.4 <i>Prove di cottura</i> .....	38
METODI DI ANALISI.....	39
1. Analisi NIR-NIT .....	40
2. Analisi fisico-chimiche .....	40
2.1 <i>Single Kernel Classification System (SKCS)</i> .....	40
2.2 <i>Macinazione della granella</i> .....	41
2.3 <i>Determinazione del contenuto proteico totale</i> .....	41
2.4 <i>Determinazione del <math>\beta</math>-glucano totale</i> .....	41
2.5 <i>Determinazione delle frazioni di <math>\beta</math>-glucano insolubile e solubile</i> .....	42
2.6 <i>Analisi della Capacità Antiossidante Totale (TAC)</i> .....	43
2.7 <i>Quantificazione del contenuto di amido totale (TS)</i> .....	43
2.8 <i>Quantificazione del contenuto di amido resistente (RS)</i> .....	43
2.9 <i>Quantificazione del contenuto di fibra totale (TDF)</i> .....	44
2.10 <i>Analisi della viscosità apparente (AV)</i> .....	44
3 Analisi statistica.....	45
RISULTATI E DISCUSSIONE .....	46
1. Fattori genetici e ambientali per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena .....	47
1.1 <i>Variabilità nel contenuto in <math>\beta</math>-glucano tra accessioni di Avena</i> .....	47
1.2 <i>Influenza del genotipo e dell'ambiente sul contenuto in <math>\beta</math>-glucano totale e solubile</i> .....	49
1.3 <i>Variabilità della viscosità apparente della farina di avena associata a fattori genetici ed ambientali</i> .....	51
2. Metodi di analisi rapidi ed accurati: la spettroscopia nel vicino infrarosso .....	55
2.1 <i>Modelli predittivi per l'avena nuda</i> .....	55
2.2 <i>Modelli predittivi per differenti tipologie di sfarinato di avena</i> .....	58
3. Fattori tecnologici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena .....	59
3.1 <i>Variazioni nelle caratteristiche del seme di avena e di altri cereali indotte dal processo di parboilizzazione</i> .....	59
3.2 <i>Variazioni delle proprietà della farina di avena associate ai processi tecnologici, quali macinazione e parboilizzazione</i> .....	62
4. Il processo di pastificazione .....	65
CONCLUSIONI .....	68
BIBLIOGRAFIA .....	71

Silvia Bellato

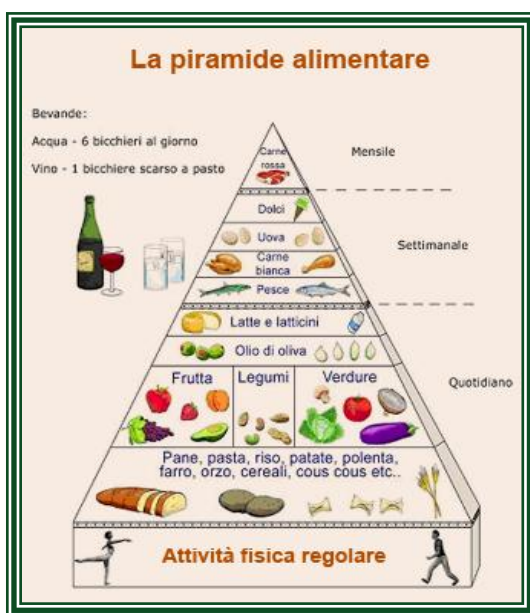
# INTRODUZIONE

*Silvia Bellato*

## 1. Ruolo dei cereali nell'alimentazione umana

Le Linee Guida per una sana alimentazione (MIPAAF-INRAN, Rev.2003) ribadiscono l'importanza dei cereali, dei legumi, degli ortaggi e della frutta come componenti essenziali di una dieta salutare. In particolare, come evidenziato anche dalla "Piramide Alimentare", che li colloca alla sua base (Figura 1), gli alimenti a base di cereali sono importanti perché apportano carboidrati complessi (soprattutto amido e fibra), ma anche vitamine, minerali ed altre sostanze di grande interesse per la salute. Inoltre i cereali, e soprattutto i legumi, sono anche buone fonti di proteine di buon valore biologico. Numerosi studi hanno dimostrato che un'alimentazione ricca in cereali, legumi, ortaggi e frutta protegge dalla comparsa di numerose malattie molto diffuse nei paesi sviluppati, in particolare diverse forme di tumore e malattie cardiovascolari (patologie delle arterie coronarie, ipertensione, infarto), malattie dell'apparato digerente (diverticolosi, stipsi), ecc. Il consumo di adeguate quantità di frutta e ortaggi assicura, inoltre, un rilevante apporto di nutrienti essenziali, cioè che l'organismo non è in grado di sintetizzare, quali vitamine e minerali, e nello stesso tempo consente di ridurre la densità energetica della dieta, sia perché il tenore in grassi e l'apporto calorico complessivo sono limitati, sia perché, grazie all'elevato contenuto in acqua, il potere saziante di questi alimenti è particolarmente elevato.

Leggendo la figura dal basso verso l'alto, troviamo per primi i cibi che vanno consumati quotidianamente, e salendo quelli che, avendo un maggiore apporto calorico, dovuto soprattutto alla presenza di grassi e zuccheri semplici, vanno consumati con più moderazione. Alla base di tutto ci sono i cereali e i loro derivati, che devono costituire la porzione più abbondante della nostra razione di calorie quotidiana (il 55%) e subito sopra, frutta, verdura e legumi, il cui consumo quotidiano è



altamente consigliato. Altri alimenti che si raccomanda di mangiare quotidianamente, ma in porzioni moderate per il loro elevato contenuto di grassi sono: l'olio extravergine di oliva (circa un cucchiaino a pasto) e latte e derivati, cercando di scegliere quelli a ridotto tenore lipidico: yogurt magri, latte parzialmente scremato o, in alternativa, misurate porzioni di formaggio. Salendo ai piani superiori della piramide, si trovano gli alimenti che vanno consumati con una frequenza settimanale, alternandoli di giorno in giorno: pesce, carne bianca e uova. In cima si trovano dolci e carne rossa, di cui si suggerisce solo un consumo saltuario. Infine, come elementi fondamentali di un adeguato stile di vita, bisogna sempre ricordare l'importanza dell'attività fisica quotidiana e l'adeguato consumo di acqua: almeno 2 litri al giorno.

**Figura 1.** La piramide alimentare.

Per quanto riguarda i cereali, che appartengono alla famiglia delle Graminacee e comprendono specie quali l'avena, il frumento, il mais, il miglio, l'orzo, il riso, la segale, il sorgo e il triticale, i cibi da essi derivati sono sempre stati nell'alimentazione mondiale la fonte principale di carboidrati e quindi di energia. In un'alimentazione equilibrata il 60% circa delle calorie della razione dovrebbe provenire dai carboidrati, dei quali almeno 3/4 sotto forma di carboidrati complessi e non più del quarto restante sotto forma di carboidrati semplici. L'importanza dei carboidrati (complessi e semplici) deriva dal fatto che vengono assorbiti ed utilizzati dall'organismo facilmente e senza produrre scorie metaboliche, assicurando alle cellule un rifornimento di glucosio e quindi di energia. L'amido deve essere digerito e trasformato in glucosio e, per questo motivo, viene assorbito più lentamente. I carboidrati semplici (glucosio, saccarosio, fruttosio, lattosio) vengono invece assorbiti più rapidamente. Di conseguenza, la presenza contemporanea dei due tipi di carboidrati (semplici e complessi) nelle proporzioni indicate assicura all'organismo un rifornimento di energia costante e prolungato nel tempo, tale da evitare brusche variazioni del tasso di glucosio nel sangue (livello glicemico). I carboidrati (zuccheri, amidi e fibre) costituiscono, quindi, la più importante (in termini quantitativi) fonte energetica dell'organismo e forniscono energia a tutti i tessuti del corpo umano, soprattutto al cervello e ai globuli rossi, che usano solo il glucosio quale fonte energetica per le attività cellulari.

Recentemente, il consumo di cereali è stato anche raccomandato in relazione all'impatto ambientale derivante dalla loro produzione. Infatti il BCFN (Barilla Center for Food and Nutrition) ha realizzato nel 2010 uno studio che può essere considerato il punto di partenza per una più attenta riflessione sul rapporto tra cibo e ambiente. Sulla base dei risultati di questo studio nel 2010 il BCFN ha elaborato e pubblicato per la prima volta la Doppia Piramide, alimentare e ambientale, che mette in relazione gli aspetti nutrizionali degli alimenti con quelli ambientali legati cioè al loro ciclo produttivo (nutrizione *vs* ambiente) (Figura 2).

Gli studiosi del BCNF hanno riclassificato i cibi presenti nella "classica" piramide alimentare analizzando l'impatto sull'ambiente determinato dal loro ciclo produttivo e hanno rilevato che la sequenza degli alimenti classificati in base al potenziale nutrizionale e in base all'impatto sull'ambiente è sostanzialmente la stessa, ma invertita. Come mostrato in Figura 2 le due piramidi affiancate (quella ambientale è naturalmente capovolta) fanno comprendere meglio la relazione tra questi due aspetti di importanza rilevante per il benessere dell'uomo: il cibo che fa bene alla salute in buona parte fa bene anche alla terra, all'aria, all'acqua. Si crea quindi il concetto di "Alimentazione sostenibile".

Silvia Bellato

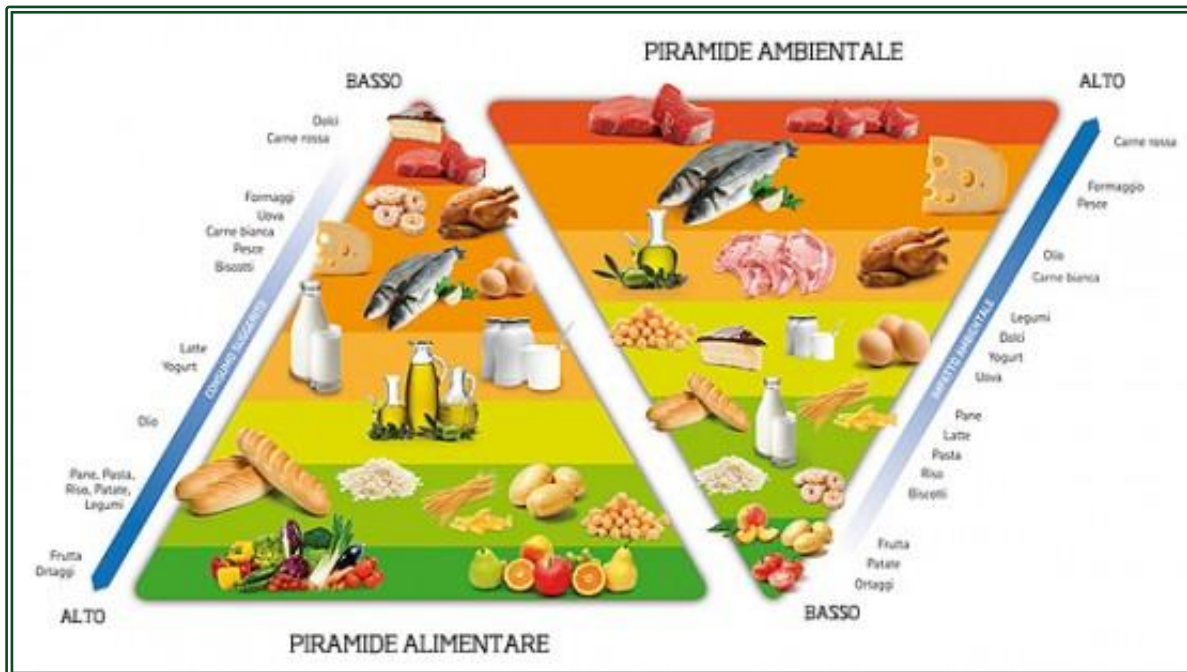


Figura 2. Doppia piramide pubblicata dal BCFN.

I cereali rappresentano dunque i prodotti vegetali di maggiore importanza e di più estesa coltivazione nel mondo. Come ampiamente discusso in precedenza essi, nel loro complesso, sono caratterizzati da un elevato contenuto di amido e fibra alimentare, una apprezzabile quantità di proteine, e da una scarsa presenza di grassi e anche di sodio. Comunque variazioni significative nel loro valore nutrizionale si riscontrano tra i diversi cereali e anche in relazione al processo di trasformazione a cui sono sottoposti.

## 1.1 L'avena

Tra i cereali l'avena è stata considerata in passato un cereale "minore" noto soprattutto come mangime di elevata qualità per gli equini. La specie *Avena sativa*, a cariosside vestita, è la più coltivata (Figura 3).



Figura 3. La pannocchia di avena.

In Scozia, nel XVII e XVIII secolo, l'avena era il principale alimento, per aver sostituito l'orzo e la segale. Nel XIX secolo, l'avena è stata a sua volta gradualmente sostituita dal frumento; le focacce preparate con farina di avena e particolari tipi di zuppe (farina di avena miscelata con acqua bollente a cui si poteva aggiungere latte o whisky) cessarono di essere un alimento di tutti i giorni, mentre il *porridge* sopravvisse soprattutto come piatto per la prima colazione.

Nell'alimentazione umana attualmente l'avena viene utilizzata principalmente come cereale per la prima colazione (fiocchi d'avena); nel muesli, alla farina o ai fiocchi d'avena viene mescolata frutta e talvolta miele. Oggi l'avena sta riscuotendo maggiore attenzione sulla base del riconoscimento ufficiale delle sue proprietà salutari per l'uomo. Infatti, l'avena è un alimento con elevate potenzialità dal punto di vista nutrizionale: la granella è caratterizzata da una composizione particolarmente equilibrata in cui proteine, carboidrati, grassi, fibre, vitamine e minerali sono di qualità tale da poter avere in un unico alimento molte delle proprietà rispondenti alle esigenze nutritive di diversi gruppi di popolazione considerate "a rischio" (Peterson, 2004). Ma particolarmente interessante è la presenza nell'avena del  $\beta$ -glucano, frazione della fibra solubile, di cui la granella di questo cereale è particolarmente ricca e al quale sono state attribuite proprietà preventive per alcune patologie cronico-degenerative.

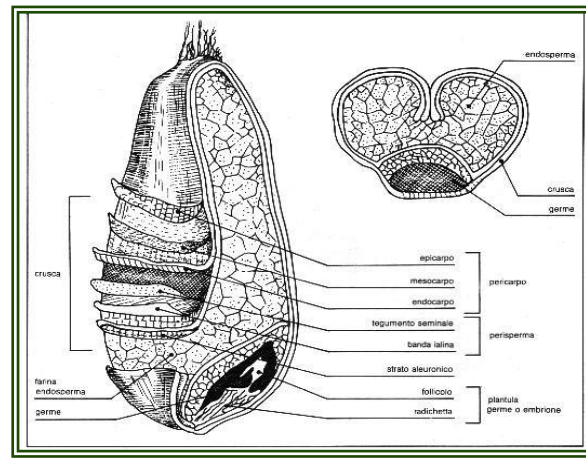
### **1.1.1. Composizione della cariosside di avena**

La cariosside dell'avena, similmente a quella di altri cereali, presenta vari strati (Figura 4) che differiscono tra loro per composizione; ciò determina effetti nutrizionalmente significativi, in quanto con le diverse modalità di trattamento della cariosside, in particolare la macinazione, vengono spesso eliminati uno o più strati, con conseguente perdita di nutrienti. La struttura anatomica della cariosside di tutti i cereali è sostanzialmente simile: si riconoscono infatti tre regioni principali, corrispondenti ai "tegumenti" (sia del frutto che del seme), all' "embrione" (comunemente definito germe) e all' "endosperma amilaceo" o mandorla farinosa.

Come rappresentato nella Figura 5, ogni regione della cariosside è composta da più strati, ciascuno dei quali possiede un'organizzazione strutturale ed una composizione chimica diversa e specifica per meglio rispondere alla propria funzione biologica.

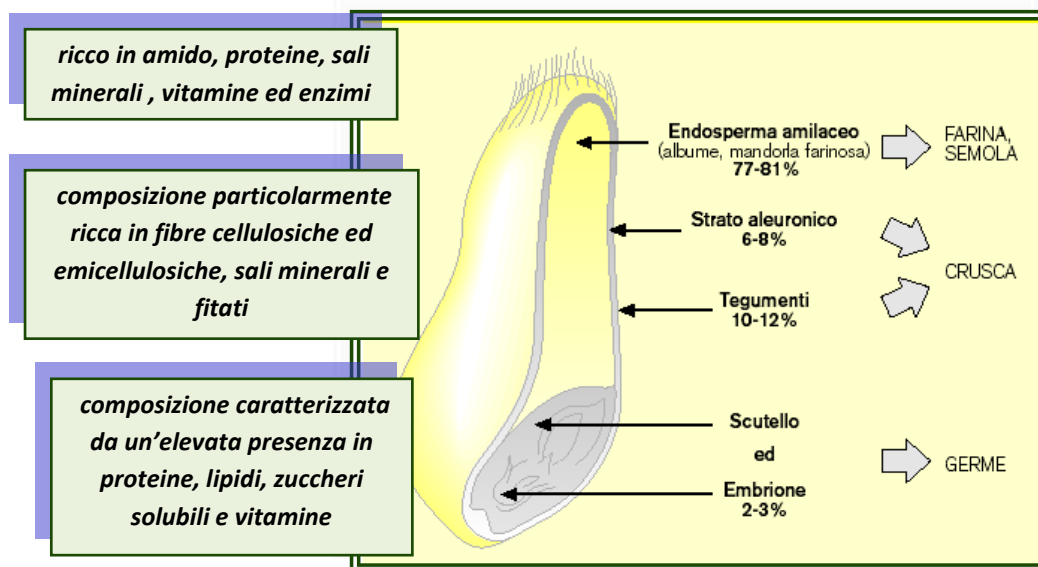
Silvia Bellato





**Figura 4.** La cariosside dei cereali.

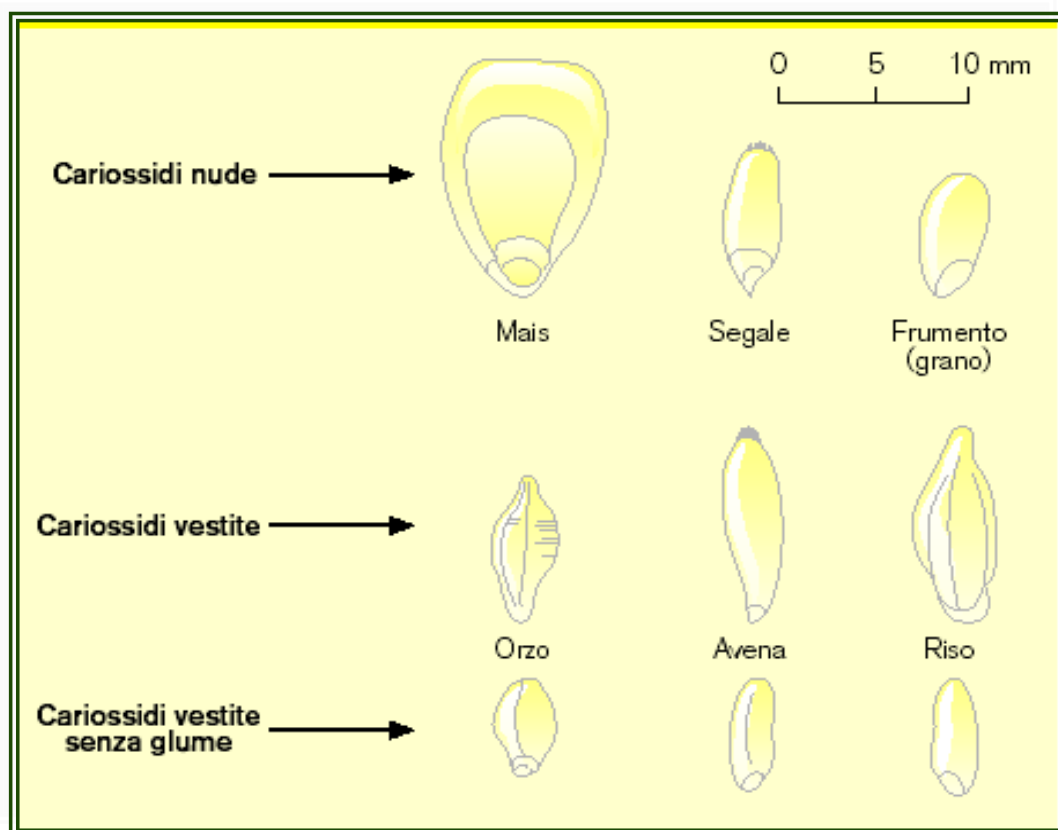
L'embrione, o germe, consiste in un abbozzo della futura pianta (asse embrionale) ed è in una regione (scutello) in grado di fornire principi nutritivi alla pianta durante la germinazione; la composizione dell'embrione è perciò caratterizzata da un'elevata presenza di proteine, lipidi, zuccheri solubili e vitamine. L'endosperma rappresenta percentualmente la maggior parte del chicco ed è composto da due regioni, la più esterna delle quali è conosciuta come strato aleuronico, un tessuto assai ricco in proteine, sali minerali, vitamine ed enzimi. La maggior parte dell'endosperma è rappresentata dalla cosiddetta mandorla, o albume, costituita da cellule in cui sono immagazzinati, in forma insolubile, nutrienti importanti (amido, proteine, sali minerali, e vitamine), che potranno essere resi disponibili durante la fase di germinazione del chicco. La frazione glucidica è per la maggior parte rappresentata dall'amido presente sotto forma di granuli; il secondo costituente, in termini percentuali, sono le proteine.



**Figura 5.** La composizione della cariosside.

Silvia Bellato

In tutti i cereali vi è un gradiente di concentrazione di questi due componenti, via via che si passa dalle cellule esterne della mandorla, più ricche in proteine, verso quelle più centrali più ricche in amido. I tegumenti sono composti da numerosi strati, alcuni afferenti al frutto (pericarpo), altri al seme (testa), la cui funzione protettiva è garantita dalla composizione particolarmente ricca in fibre cellulosiche ed emicellulosiche, sali minerali e fitati. La cariosside all'interno della spiga è protetta anche da altre strutture, le glume o brattee. In alcuni cereali (quali orzo, riso, avena) questi rivestimenti sono intimamente associati ai tegumenti del frutto: per questa caratteristica tali cariossidi sono definite "vestite", a differenza di quelle degli altri cereali, denominate "nude" o "svestite" (Figura 6), in quanto si liberano facilmente di tali parti durante le operazioni di trebbiatura. L'eliminazione delle glume nelle cariossidi è indispensabile se il cereale è destinato ad usi alimentari, a causa dell'elevato contenuto in silice (Lucisano e Pagani, 1997).



**Figura 6.** Differenza tra le cariossidi nude e le cariossidi vestite, di diversi cereali. (Da Gli alimenti. Aspetti tecnologici e nutrizionali, Daghetta et al. ITems Danone, Lucisano e Pagani: Cereali e derivati).

#### 1.1.1.1. *Contenuto proteico*

La granella dei cereali, in generale, rispetto agli alimenti di origine animale, contiene una quantità relativamente bassa di proteine, circa 10-15%*s.s.* (% di sostanza secca) (Shewry e Halford, 2002), che comunque hanno l'importante ruolo di determinarne la qualità e le proprietà funzionali, in particolare per quei cereali che sono consumati come alimenti trasformati. Come è noto, nell'avena i livelli proteici possono essere abbastanza elevati, variando in media dal 16 al 20%*s.s.* e, a differenza degli altri cereali eccetto il riso, la frazione ponderalmente più rilevante è la frazione globulinica (globulina di riserva) che costituisce tra il 70 e l'80% *s.s.* delle proteine totali e contribuisce, in considerazione del miglior pattern amminoacidico, caratterizzato da una buona percentuale di lisina, al suo più elevato valore nutrizionale in confronto ad altri cereali (Shewry e Halford, 2002). Per un sempre maggior uso dell'avena per la produzione di alimenti destinati all'uomo, il miglioramento genetico considera, accanto ad altri caratteri considerati prioritari, quali la cariosside a seme nudo e le componenti fibrose, anche l'incremento del contenuto proteico (Peterson, 2004).

Dal punto di vista dell'alimentazione umana appaiono, inoltre, interessanti le prospettive dell'avena come cereale alternativo per pazienti celiaci, in quanto da alcuni risultati di prove epidemiologiche sembrerebbe che la frazione prolaminica nota come avenina, (4-14% delle proteine totali), non sempre determina gli effetti tossici evidenziati con altri alimenti contenenti glutine di frumento, orzo e segale, quali in particolare la caratteristica infiammazione a danno della mucosa intestinale (Arentz-Hansen et al., 2004; Pogna et al., 2004).

#### 1.1.1.2 *I grassi*

La frazione dei lipidi di riserva dei cereali è costituita da trigliceridi, mono e digliceridi utilizzati come sorgente energetica dalle cellule vegetali in periodi di metabolismo attivo. I lipidi dei cereali hanno un ruolo importante nell'alimentazione perché sono altamente insaturi e contengono considerevoli quantità di acido linoleico, acido grasso essenziale utilizzato nella sintesi delle prostaglandine. Tra i cereali, l'avena ha un contenuto lipidico abbastanza elevato, attorno al 7% *s.s.* in media (Brown e Craddock, 1972). Contenuti simili, con variazioni tra il 5,4 e il 9% *s.s.*, sono stati riscontrati su genotipi di avena nuda coltivata in Canada (Peterson, 1998). Nell'avena la quasi totalità dei lipidi si ritrova nel seme (groats) mentre le glume presentano quantità molto basse, con una più elevata presenza di acidi grassi saturi; rispetto alla maggior parte dei cereali, nell'avena i lipidi sono distribuiti prevalentemente nel tessuto

*Silvia Bellato*

endospermatico (Morrison, 1978; Morrison, 1988). Per quanto riguarda la composizione in acidi grassi (che presentano un rapporto favorevole saturi:insaturi) risultano maggiormente presenti l'acido oleico (18:1), in percentuale variabile tra il 27-48%, e il linoleico (18:2), che oscilla tra il 33 e il 46%; risulta presente anche l'acido palmitico (16:0), con variazioni tra il 16 e il 24%, mentre l'acido stearico (18:0) e il linolenico sono componenti minori (Sahasrabudhe, 1979; Peterson, 2002). La frazione dei lipidi dell'avena risulta composta per il 40% da trigliceridi, per il 6-8% da acidi grassi liberi e mono e di gliceridi, per il 2% da steroli e per il 10-12% da fosfolipidi (di cui quello maggiormente presente è la fosfatidilcolina). La frazione lipidica contiene anche componenti biologicamente attivi quali vitamina E, carotenoidi e tocotrienoli.

Il contenuto e la composizione in lipidi dell'avena possono essere influenzati dalle condizioni di crescita della pianta, in particolare dalla temperatura che può modificare il grado di insaturazione (Youngs, 1986); forte è, comunque, la componente di ereditarietà di questa classe di composti (Brown et al., 1966; Zhu et al., 2004).

Come precedentemente esposto, i lipidi dell'avena sono considerati componenti importanti della dieta dell'uomo, ma l'utilizzo della granella di avena per la realizzazione di alimenti può essere limitato dalla loro forte reattività che, in condizioni estreme che favoriscono l'idrolisi dei grassi e anche la successiva ossidazione degli acidi grassi, può ridurre la qualità del prodotto per la formazione di rancidità volatile (Heiniö et al., 2001; Sides et al. 2001). Per questo motivo spesso la farina di avena destinata alla produzione di alimenti viene sottoposta a processi termici (tostatura), che però ne modificano il sapore.

#### *1.1.1.3 Composti con proprietà antiossidanti*

I radicali liberi, prodotti come normale conseguenza dei processi biochimici che avvengono nell'organismo e/o come risultato dell'esposizione a fattori ambientali e dietetici, sono implicati in molte patologie degenerative quali malattie cardiovascolari, diabete, morbo di Alzheimer, affezioni gastrointestinali e molti altri processi infiammatori che sono in grado di rendere più debole la risposta immunitaria. L'organismo possiede diversi meccanismi antiossidativi che vengono attivati per controbilanciare l'azione negativa dei radicali liberi che, generalmente, è a carico della membrana cellulare (perossidazione dei lipidi di membrana), ma che con una reazione a cascata si può estendere al contenuto della cellula fino a coinvolgimento del DNA. Utile è introdurre nell'alimentazione cibi ricchi in antiossidanti naturali (vitamine C e E, tocotrienoli, flavonoidi, carotenoidi, composti fenolici) che possono

*Silvia Bellato*

supportare l'azione di prevenzione e controllo del danno ossidativo coadiuvando il sistema endogeno, particolarmente in situazioni di elevato stress ossidativo.

Nei cereali, diverse molecole hanno funzione di antiossidanti. Per quanto riguarda l'avena, l'attività antiossidante è legata a numerosi composti: tocoli, acidi fenolici, flavonoidi, steroli, e altri componenti, specifici della cariosside di avena, detti avenantramidi (Peterson, 2001). I tocoli, definiti genericamente vitamina E, consistono in due classi di molecole, i tocoferoli e i tocotrienoli, ognuna rappresentata da quattro composti omologhi ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , e  $\delta$ ). I tocoferoli sono presenti quasi esclusivamente nell'embrione, mentre i tocotrienoli sono abbondanti nello strato aleuronico e sub-aleuronico del seme (Peterson, 1995), cosa che aumenta il valore nutrizionale dell'avena, se viene consumata come granella integrale; non sono stati invece osservati tocoli nelle glume (Peterson, 1995; Bryngelsson et al., 2002). Le molecole più abbondanti nella cariosside di avena sono l' $\alpha$ -tocotrienolo e l' $\alpha$ -tocoferolo, mentre le forme  $\gamma$ - e  $\delta$ - sono spesso assenti o presenti in tracce (Peterson, 2001). Alcuni studi hanno riportato i dati di percentuale dei vari tocoli in genotipi di avena provenienti da vari Paesi (Bryngelsson et al., 2002; Panfili et al., 2003). La mancanza di correlazione tra contenuto in tocoli e tenore in lipidi (Bryngelsson et al., 2002) ha suggerito l'ipotesi che i tocoli possano svolgere anche funzioni differenti da quella antiossidante.

## 1.2 La fibra alimentare

### 1.2.1 Caratteristiche e Componenti della fibra

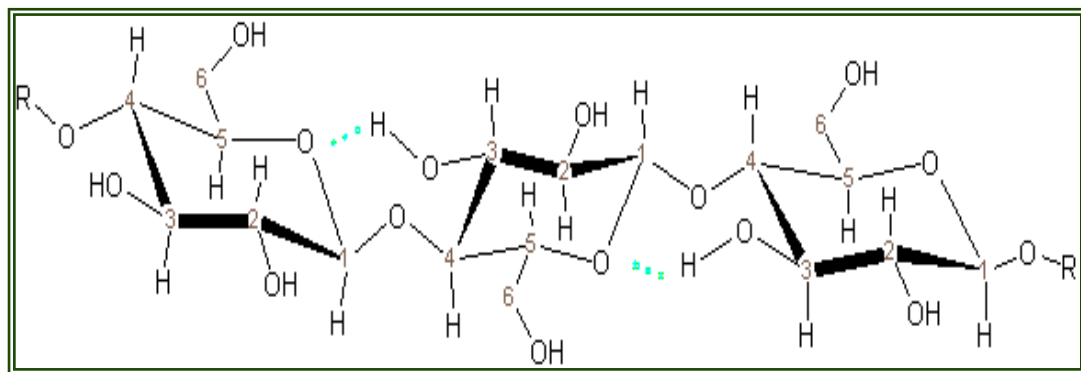
Già nel XII secolo vi era chi proponeva che il pane venisse prodotto con farina di grano non raffinato in quanto ritenuto alimento più efficace per il raggiungimento ed il mantenimento di un "buon stato di salute". Con il trascorrere degli anni e con l'avvento della civilizzazione l'uso di alimenti non raffinati, e pertanto ricchi di fibra, è stato sempre più trascurato. Il pane bianco è divenuto un simbolo di ricchezza, mentre quello nero un retaggio di povertà da dimenticare. Al contrario, negli ultimi decenni la fibra alimentare, prima considerata addirittura "non nutriente", ha assunto un posto di rilievo 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 cellulare di piante, usate nelle diete, che egli riteneva essere protettive contro alcune patologie tipiche del periodo della gravidanza. Successivamente Trowel (1974) definì la fibra come una parte di alimento, derivata dalla parete cellulare di piante, che è digerita in minima misura nel piccolo intestino. Il concetto di fibra evolve continuamente, grazie all'aumentare delle conoscenze scientifiche sulla sua composizione e sui suoi effetti sull'organismo. Nel 2001 fu definita "la porzione edibile delle piante, o analoghi carboidrati, che è resistente alla digestione e all'assorbimento nell'intestino tenue con completa o parziale

Silvia Bellato

*fermentazione nell'intestino crasso. La fibra alimentare include polisaccaridi, oligosaccaridi, lignina e sostanze vegetali associate. Le fibre alimentari promuovono effetti fisiologici benefici riferibile alle loro proprietà lassative e/o alla riconosciuta capacità di modulare il livello di colesterolo e di glucosio ematico” (AACC 2001).*

La parete cellulare è il rivestimento più esterno ed è presente solo nelle cellule vegetali. Sotto di essa si trova la membrana plasmatica che è invece presente in tutte le cellule. La parete cellulare è formata da fibre di cellulosa immerse in una struttura di proteine e polisaccaridi. La rigidità delle cellule vegetali è dovuta proprio alla presenza della parete cellulare; essendovi uno strato esterno piuttosto rigido la cellula esercita una determinata pressione di turgore.

La cellulosa è un polisaccaride composto da monomeri di  $\beta$ -glucosio (Figura 7); le catene lunghe e dritte sono unite da legami idrogeno. La cellulosa, essendo la principale componente strutturale della parete cellulare delle piante, è il più abbondante polisaccaride in natura. Anche se abbondante, la cellulosa è estremamente difficile da degradare, anche perché è insolubile e presenta delle fibre cristalline con legami idrogeno.



**Figura 7.** Struttura chimica della cellulosa.

Come già detto, la fibra è costituita da carboidrati e da altri polisaccaridi non cellulosici. Essa per l'uomo non ha alcun valore energetico in quanto, non attaccata dagli enzimi propri dell'apparato gastrointestinale, giunge integra nell'intestino. Pur non potendosi considerare un nutriente per l'uomo, la fibra alimentare esercita effetti di tipo funzionale e metabolico che la fanno ritenere un'importante componente della dieta, prescindendo dal suo apparente nullo apporto energetico. In relazione alla loro solubilità e affinità con l'acqua, le fibre possono essere classificate in solubili ed insolubili (Tabella 1). Alle fibre insolubili appartengono le classi delle lignine, cellulosa, emicellulosa e pentosani. Le fibre solubili comprendono invece

Silvia Bellato

pentosani solubili, pectine, glucomannani, betaglucani, oligosaccaridi, inulina e fruttoligosaccaridi (FOS).

<b>Fibre solubili</b>	<b>Fibre insolubili</b>
<i>Pectine</i>	<i>Cellulosa</i>
<i>Glucomannani</i>	<i>Lignine</i>
<i>Galattomannani</i>	<i>Pentosani insolubili</i>
<i>Betaglucani</i>	<i>Emicellulosa</i>
<i>Pentosani solubili</i>	
<i>Oligosaccaridi</i>	
<i>Inulina</i>	
<i>Fruttoligosaccaridi (FOS)</i>	

**Tabella 1.** Classificazione chimica della fibra alimentare.

Le fibre insolubili sono presenti principalmente nella crusca di cereali. Sono caratterizzate soprattutto dalla loro capacità di legare l'acqua (la cellulosa purificata può assorbirne da 5 a 10 volte il suo peso, la crusca ne assorbe circa 25 volte il suo peso). L'assunzione di fibra insolubile determina l'aumento della massa fecale, un accelerato transito intestinale, e la riduzione del tempo di contatto con la mucosa intestinale di alcune sostanze potenzialmente dannose, limitando gli eventuali danni. Questo tipo di fibra è particolarmente indicata nella regolazione delle funzioni gastrointestinali (prevenzione e trattamento della stipsi e della diverticolosi intestinale).

Le fibre solubili sono contenute principalmente nella frutta, in alcuni legumi, nelle verdure e nei prodotti a base di avena e orzo. Hanno la proprietà di formare gel e di essere altamente fermentabili dalla microflora intestinale; determinano rallentamento dello svuotamento gastrico e senso di sazietà e, a livello intestinale, causano un rallentamento del transito intestinale e della sua peristalsi, un aumento dell'eliminazione degli acidi biliari e una riduzione dell'assorbimento e della produzione di colesterolo (Tabella 2) (Fulgoni e Mueller, 2001).

Dal punto di vista chimico la fibra è costituita da catene omo-etero polisaccaridiche, lineari o ramificate, polimerizzate attraverso legami glicosidici di tipo  $\alpha$  o  $\beta$ , che si differenziano in base a: tipo di unità saccaridica ricorrente, lunghezza della catena, tipo di legame glicosidico, grado di ramificazione, peso molecolare. Inoltre si possono ottenere fibre con proprietà chimico-fisiche diverse, anche in dipendenza della materia prima di provenienza, del processo tecnologico di estrazione e della granulometria che si riesce ad ottenere. In aggiunta, la frazione di amido resistente (RS) influenzata dai processi termici (Muir et al.,1995) e

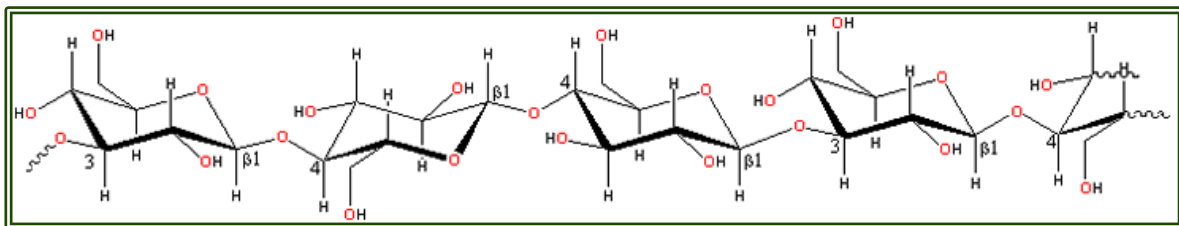
*Silvia Bellato*

classificata da Englyst et al. (1992) come parte di amido che resiste alla digestione e fisiologicamente agisce come fibra dietetica, ha non soltanto una importanza ben documentata nel migliorare la funzionalità intestinale ma può procurare ulteriori potenziali benefici per la salute: controllo dei livelli ematici di glucosio e colesterolo (Ranotra, 2001), controllo del peso e prevenzione del tumore del colon.

### 1.2.2 Fibra solubile: il $\beta$ -glucano

La rivalutazione dell'avena come coltura per l'industria alimentare ha trovato spazio in relazione alla sua ricchezza in fibre, in particolare per una frazione della fibra solubile, il  $\beta$ -glucano, presente nella granella (groat) in concentrazioni variabili tra il 2 e il 5% s.s. (McCleary e Glennie-Holmes, 1985) e riconosciuto dall'American Council on Science and Health (ACSH) come il componente attivo riguardo ai benefici della granella di avena nei confronti dell'abbassamento dei livelli di colesterolo ematico e/o della riduzione del rischio di patologie cardiovascolari (Fulgoni e Mueller, 2001; Wood, 2001). D'altra parte nel 1997 la FDA (FDA, 1997) aveva già consentito che gli alimenti a base di avena riportassero in etichetta le proprietà preventive e/o correttive del componente solubile della fibra.

Il  $\beta$ -glucano è un polisaccaride composto da catene di cellulosa con circa il 70% di 4-O- $\beta$ -D-glucopiranoside interrotto da catene di unità di 3-O- $\beta$ -D-glucopiranoside. La distribuzione di queste unità non è casuale, i legami (1-4) si presentano in gruppi di due o tre, quelli (1-3) sono singoli e, in confronto con la cellulosa, composta solo da legami  $\beta$ -(1-4), questo rende il  $\beta$ -glucano più flessibile, solubile e viscoso (Figura 8).



**Figura 8.** Struttura del  $\beta$ -glucano.

L'(1-3),(1-4)- $\beta$ -D-glucano è stato trovato nella parete delle cellule dell'endosperma e nello strato subaleuronic di avena e orzo. Il contenuto di  $\beta$ -glucano varia, generalmente, tra il 3 e il 7% nell'avena (Wood e Beer, 1998) e tra il 3 e l'11% nell'orzo (Skendi et al., 2003), rendendoli

Silvia Bellato



fonti significative di  $\beta$ -glucano nella dieta. Il  $\beta$ -glucano può anche essere aggiunto a diversi alimenti, a base di cereali o altro, e, in questo modo, ampliare la scelta di possibili fonti o componenti della fibra solubile nella dieta. Tra i prodotti alimentari disponibili in commercio e integrati con  $\beta$ -glucano si citano, come esempio, pasta, fiocchi d'avena e cereali, prodotti da forno.

#### 1.2.2.1 *Proprietà nutrizionali del $\beta$ -glucano*

Come già detto, il  $\beta$ -glucano, presente nelle pareti delle cellule di cariossidi come orzo e avena, è un polimero lineare ad alto peso molecolare, formato da legami (1-3)(1-4) che gli conferiscono solubilità in acqua (Wood, 1986) e la capacità di formare soluzioni altamente viscosi (Wood e Beer, 1998), caratteristiche che sono risultate determinanti per i suoi effetti benefici sulla salute, quali l'abbassamento dei livelli di colesterolo e di glucosio nel sangue. Proprio per la sua alta viscosità viene anche largamente utilizzato nell'industria alimentare come addensante (Wood, 1986; Temelli et al., 2004).

La viscosità del  $\beta$ -glucano è strettamente dipendente dal peso molecolare, dalla solubilità e dalla concentrazione (Wood e Beer, 1998; Autio, 1996; Wood et al., 2000). Il  $\beta$ -glucano nell'avena generalmente ha un peso molecolare più alto ( $65-250 \times 10^3$  KDa) rispetto al  $\beta$ -glucano nell'orzo ( $213 \times 10^3$  KDa) (Autio, 1996; Wood et al., 1991; Beer et al., 1997). Tale differenza è rilevante quando si considera il loro comportamento negli alimenti (Brennan e Cleary, 2005). Tuttavia, per quanto riguarda le proprietà fisiologiche del  $\beta$ -glucano di orzo e di avena l'efficacia sembra abbastanza simile (Delaney et al., 2003; Hallfrisch et al., 2003).

Il  $\beta$ -glucano dell'avena è noto ridurre i livelli di colesterolo nel sangue (Tabella 2). La FDA (Food and Drug Administration) degli Stati Uniti ha accettato una richiesta di *Health claim* in cui poter affermare che una dose giornaliera di 3 g di  $\beta$ -glucano, fibra solubile dell'avena può ridurre il rischio di malattie coronariche (FDA, 1997). Molti studi epidemiologici sull'uomo e su animali hanno infatti confermato che diete contenenti  $\beta$ -glucano di avena abbassano in soggetti ipercolesterolemici la frazione LDL del colesterolo, importante fattore di rischio per malattie cardiache. Lia et al. (1995) hanno studiato l'effetto del  $\beta$ -glucano sulla secrezione degli acidi biliari su soggetti affetti da ileopatia; i risultati hanno dimostrato che l'escrezione degli acidi biliari è influenzata dalla presenza di  $\beta$ -glucano negli alimenti rilevando anche differenze attribuite al tipo di alimento arricchito somministrato. Importanti effetti sulla riduzione dei livelli di colesterolo totale e della frazione LDL sono stati rilevati da Braaten et al. (1994a), che non rileva invece modifiche nella frazione HDL. L'effetto della farina d'avena sul legame degli

Silvia Bellato

acidi biliari in un sistema di digestione in vitro è stato studiato da Sayar et al. (2005), che dimostrano come la farina d'avena sia in grado di legare il 7.5-14.8% degli acidi biliari, risultato superiore a quello della farina di altri cereali. Sulla base dei dati gli autori concludono che il legame con gli acidi biliari è un processo che dipende da più componenti e che le condizioni utilizzate nella preparazione dell'alimento arricchito, quali il pH, la viscosità e la temperatura, nonché le sue proprietà fisiche possono influenzare questa interazione. Studi in vitro di Drzikova et al. (2005) hanno mostrato che il legame con gli acidi biliari aumenta all'aumentare della crusca d'avena, della fibra totale nella dieta, della fibra insolubile e del  $\beta$ -glucano.

Proprietà fisico-chimiche	Effetti ipotizzati	Effetti sulla salute
Fibre solubili		
<i>Viscosità</i>	Ritardato svuotamento gastrico, prolungata fase intestinale	Favorisce la sazietà
	Prevenzione o ritardo nell'assorbimento di nutrienti nell'intestino tenue	Abbassa i livelli di glucosio, di insulina e di lipidi dopo un pasto
	Prevenzione nel riassorbimento degli acidi biliari	Abbassa i livelli di colesterolo
	Prevenzione del riassorbimento degli estrogeni	Protegge nei confronti del tumore del seno
	Inibizione delle attività degli enzimi digestivi	Abbassa i livelli di glucosio, di insulina e di lipidi dopo un pasto
<i>Interazioni/legami</i>	Legame con gli acidi biliari (dimostrata "in vitro")	Abbassa i livelli di colesterolo
	Interazioni con gli enzimi digestivi (dimostrata solo "in vitro")	Abbassa i livelli di glucosio, di insulina e di lipidi dopo un pasto
<i>Fermentazione</i>	Effetti positivi sulla crescita dei batteri utili al benessere dell'intestino	Protegge nei confronti di infiammazioni e del cancro del colon
	Produzione di acidi grassi a catena corta	
Fibre insolubili		
<i>Particelle grossolane</i>	Incremento della massa fecale	Riduce l'incidenza di cancro del colon e di malattie dell'intestino
	Accelerato transito intestinale	Riduce il tempo necessario ai nutrienti per essere assorbiti; abbassa i livelli di glucosio, di insulina e di lipidi dopo un pasto
<i>Capacità di legare l'acqua</i>	Riduzione o ritardo nell'assorbimento dei nutrienti	Abbassa i livelli di glucosio, di insulina e di lipidi dopo un pasto

**Tabella 2.** Proprietà fisico-chimiche della fibra alimentare e effetti sulla salute umana.

Molti studi hanno successivamente dimostrato che il  $\beta$ -glucano introdotto con gli alimenti è in grado di modulare anche le risposte del glucosio e dell'insulina, un'importante caratteristica per il controllo con l'alimentazione di soggetti affetti da diabete di tipo II. Wood et al. (1990) hanno dimostrato che sia la gomma di avena che i semi di guar diminuiscono in modo

Silvia Bellato

significativo la risposta post-prandiale del glucosio. Tappy et al. (1996) riferiscono che circa 5 g di  $\beta$ -glucano dell'avena sono in grado di favorire una diminuzione del 50% della risposta glicemica. Nello stesso lavoro si rileva, inoltre, che quando soggetti NIDDM (Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus), erano alimentati con cereali da prima colazione arricchiti di  $\beta$ -glucano dell'avena si osservava oltre la diminuzione della risposta glicemica anche una diminuzione del 35% della risposta all'insulina. Gli effetti del  $\beta$ -glucano sarebbero probabilmente attribuibili a ritardo nello svuotamento gastrico che permette agli zuccheri della dieta di essere assorbiti più gradualmente oppure ad un'incrementata sensibilità dei tessuti all'insulina (Braaten, 1994b; Pick, 1996). Gli studi sul  $\beta$ -glucano dell'orzo hanno mostrato effetti sulla salute simili a quelli del  $\beta$ -glucano dell'avena (Tabella 2). I meccanismi con cui questi effetti sono mediati non sono stati ben compresi; verosimilmente questi effetti sono principalmente dovuti, come precedentemente detto, alla sua alta viscosità, proprietà che permette alla fibra solubile di legare il colesterolo e gli acidi biliari e di facilitarne l'eliminazione (Liu, 2007). Edwards e Parrett (1996) hanno proposto diversi possibili meccanismi per l'abbassamento dei livelli di colesterolo; questi includono inibizione della digestione e dell'assorbimento dei grassi, aumentata perdita di acidi biliari e di colesterolo, inibizione della sintesi del colesterolo nel fegato e specifica azione di polisaccaridi viscosi non amilacei (NSP) sulla secrezione di insulina e altri ormoni. Kahlon (2001) ha concluso che i possibili meccanismi di riduzione del colesterolo da parte della crusca d'avena si evidenziano con un aumento del colesterolo nelle feci e dell'escrezione degli acidi biliari, nonché con un aumento della produzione di acidi grassi a catena corta.

## 2. Fattori genetici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena

### 2.1 Miglioramento genetico

Il problema della conservazione della variabilità genetica presente nel germoplasma delle specie coltivate è diventato un argomento di interesse internazionale, verosimilmente in risposta alla sempre minore diversità genetica delle varietà coltivate che si manifesta con una diffusa uniformità delle caratteristiche agronomiche e una diminuita capacità di risposta a stress biotici e abiotici. Questa situazione si evidenzia anche per l'avena (*A. sativa*), in particolare in Italia, dove il numero di genotipi di avena presenti in coltivazione è molto ridotto rispetto a quello di altri Paesi; attualmente solo 19 varietà risultano iscritte al Registro nazionale (dati ENSE).

Silvia Bellato

Come precedentemente detto, a partire dagli anni '90 l'interesse per l'avena come materia prima per l'alimentazione umana è cresciuto, in seguito al riconoscimento delle particolari caratteristiche nutrizionali di questo cereale (Peterson, 2004). Il coinvolgimento dell'avena nel sistema agro-alimentare ha fatto focalizzare l'attenzione della ricerca sulla scelta dei genotipi più adatti ad essere trasformati, anche attraverso l'esplorazione della variabilità genetica esistente per questi stessi composti (Redaelli et al., 2005) e particolare considerazione è stata posta nei confronti del materiale genetico a seme nudo, più versatile e più idoneo per rispondere agli obiettivi.

In Italia, i programmi di miglioramento genetico per l'avena a seme nudo sono sempre stati pressoché inesistenti: la scarsa produttività di questa coltura, in particolare delle varietà a seme nudo rispetto alle varietà a seme vestito, e la mancanza di un mercato consolidato a cui indirizzare la produzione, ha scoraggiato le ditte sementiere dall'intraprendere la selezione e lo sviluppo di questi materiali. Solo una varietà, Nave, è stata iscritta in Italia, e la sua registrazione risale al 1983. Ciò nonostante, diversi anni fa il CRA ha attivato dei programmi di breeding per l'avena a seme nudo, parallelamente a quelli intrapresi per le varietà a seme vestito. La finalità principale era quella di identificare linee con più spiccata potenzialità produttiva, ma è stata dedicata attenzione anche a parametri merceologici (quali ad esempio il peso dei mille semi) che potessero avere impatto su di una eventuale trasformazione industriale (Redaelli et al., 1999) e alla composizione chimica della cariosside (Conciatori et al., 2000). Il lavoro ha portato all'iscrizione nel 2008 di due nuove varietà di avena nuda, Irina e Luna. Lo screening di linee a seme nudo, soprattutto in termini di valore nutrizionale, per identificare le materie prime più adatte alla produzione di alimenti è un'attività che viene continuamente portata avanti in particolare per esplorare la variabilità esistente a livello di concentrazione in proteine e in  $\beta$ -glucano totale e di frazione solubile ed insolubile (Sgrulletta et al., 2004).

Come si evince, quindi, la quantificazione di proteine e  $\beta$ -glucano è un fattore importante sia nel considerare gli effetti sulla salute degli alimenti in cui sono presenti, sia nei programmi di selezione di nuove linee sulla base di questi componenti. Per questo motivo è fortemente sentita l'esigenza di metodi che ne permettano la determinazione in maniera rapida ed accurata. In particolare, per la determinazione del  $\beta$ -glucano, il metodo più frequentemente utilizzato è quello enzimatico-colorimetrico proposto da McCleary e Codd (1991) recepito oggi dalla Association of Official Analytical Chemists (AOAC Method 995.16). In alternativa, la quantità di  $\beta$ -glucano può essere determinata utilizzando altri metodi tra i quali ricordiamo quelli HPLC e HPSEC con rivelatore a fluorescenza utilizzando specifici coloranti

Silvia Bellato

(Calcofluoro e Congo Red) (Wood et al., 1983; Åman e Graham, 1987). Accanto a questi metodi “chimici” che richiedono tempi abbastanza lunghi, sono distruttivi, costosi e potenzialmente inquinanti (a secondo dei reattivi utilizzati), oggi stanno acquistando sempre maggiore importanza metodi spettroscopici (in particolare nel vicino IR) i quali, come più ampiamente illustrato nel successivo paragrafo, mostrano indubbi vantaggi, ma che ancora non sono stati ottimizzati. Una volta eseguita la calibrazione multivariata, poiché le analisi possono essere eseguite sui campioni tal quali, senza pretrattamenti né uso di reagenti e, quindi in tempi molto brevi, essi potrebbero semplificare il lavoro di miglioramento genetico (per la selezione di nuove cultivar a seme nudo più versatili e più idonee all'alimentazione umana) che, per essere efficace, richiede l'analisi di un numero elevato di campioni.

## **2.1.1 Metodi di analisi rapidi ed accurati per la valutazione del potenziale nutrizionale dell'avena**

### ***2.1.1.1. La spettroscopia nel vicino infrarosso***

Nel settore agroalimentare è sempre più sentita l'esigenza di controlli analitici sia nelle diverse fasi della produzione agraria, sia in quelle di lavorazione e preparazione del prodotto al fine di garantirne il mantenimento della qualità, il valore nutritivo e la salubrità. L'analisi chimico-fisica è inoltre diventata determinante nella valutazione merceologica del prodotto agricolo in fase di commercializzazione, tanto che è possibile condurre le contrattazioni e gli scambi commerciali secondo norme di qualità definite, basate prevalentemente sulle caratteristiche chimiche del prodotto. Conseguenza di quanto detto è la necessità di standardizzare metodi di analisi che consentano determinazioni rapide su un gran numero di campioni.

In questo ambito i metodi chimico-fisici, in grado di eseguire contemporaneamente e rapidamente un gran numero di determinazioni a partire da un unico campione, si vanno sempre più affermando sia per individuare sofisticate adulterazioni, sia per i più svariati fini scientifici. Il crescente successo della spettroscopia NIR nell'analisi non distruttiva, cioè la determinazione di componenti di materiali senza estrazione, ma con la sola esplorazione del campo spettrale, deriva dalle ampie possibilità dimostrate da questa tecnica di risolvere problemi analitici complessi, grazie allo sviluppo della strumentazione e all'applicazione di procedimenti d'analisi sempre più rifiniti.

Il vicino infrarosso copre le lunghezze d'onda da 780 a 2526 nm (Figura 9).

*Silvia Bellato*

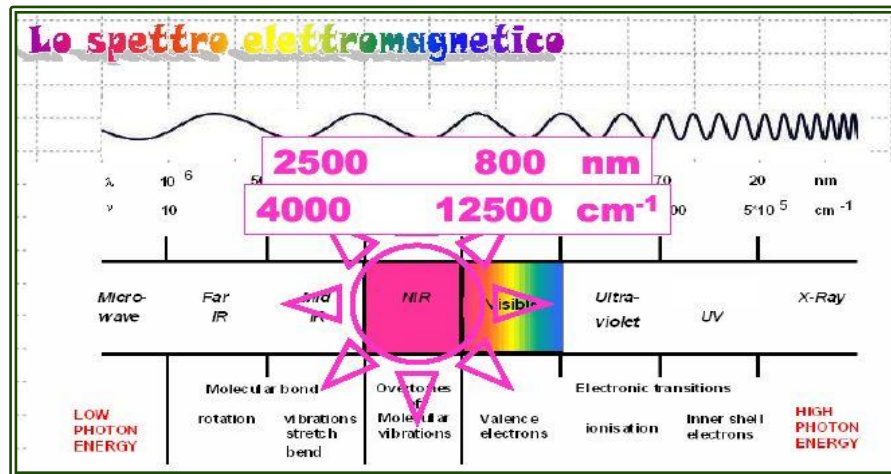


Figura 9. Lo spettro elettromagnetico.

L'assorbimento delle radiazioni elettromagnetiche da parte delle molecole ne provoca vibrazioni. Vi sono due modi di vibrazione molecolare:

- **Stretching** (stiramento): movimento ritmico lungo l'asse di legame che modifica la distanza interatomica;
- **Bending** (piegamento o deformazione): variazione di un angolo di legame o un movimento di un gruppo di atomi rispetto al resto della molecola.
- 

Le misure NIR possono essere eseguite sia in trasmissione che in riflettanza; nel caso dell'acquisizione dei dati in trasmissione ciò che viene misurato è l'intensità della luce trasmessa attraverso il campione rispetto all'intensità della luce incidente; nel caso dell'acquisizione di dati in riflettanza, ciò che viene misurato è l'intensità della luce riflessa rispetto all'intensità della luce incidente (Figura 10).

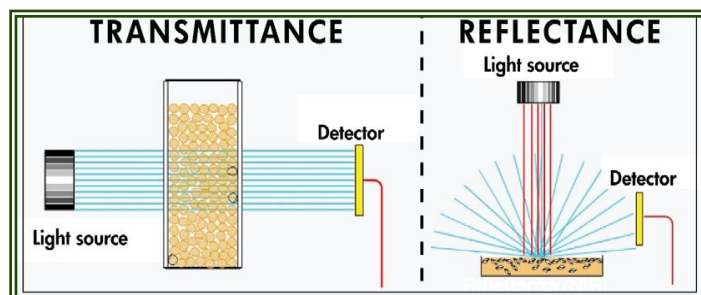


Figura 10. Rappresentazione schematica della tecnologia NTT (Trasmissione) e NIR (Riflettanza).

Silvia Bellato

Lo spettroscopio NIR è costituito da:

- sorgente di radiazioni (bulbi incandescenti o diodi emittenti);
- selezionatore di lunghezze d'onda (filtri);
- sistema di presentazione del campione alla radiazione;
- rivelatore (a solfuro di Pb per la zona spettrale compresa tra i 1100 e i 2500 nm e a Si, In, Ga e As per la regione tra 800 e 1700 nm).

In campo alimentare la tecnologia dell'infrarosso è stata utilizzata sin dai primi anni sessanta del secolo scorso, ed è stata associata con l'analisi di cereali e derivati. Già nel 1975 la tecnica NIRS è stata adottata dalla Canadian Grain Commission come metodo ufficiale per la misurazione del contenuto proteico nel frumento; nel 1980 la tecnica è stata adottata anche dal Federal Grain Inspection Service degli Stati Uniti e nel 1982 l'American Association of Cereal Chemist, massimo ente mondiale per l'analisi chimica dei cereali, ha approvato un metodo di determinazione del contenuto proteico nel frumento basato sulla tecnica NIR. L'interesse per le analisi quantitative, oggi giorno non si è ancora sopito: si è spostato anche in questo campo verso la determinazione contemporanea di un insieme di dati, siano essi dati di composizione chimica o parametri fisici. Ad esempio Kays et al. (2001) hanno mantenuto il tradizionale approccio di quantificazione del contenuto proteico, passando da un'analisi su cariossidi o semi a indagini su prodotti finiti, eterogenei per tipologia e ingredienti. La tecnica NIRS ha permesso di determinare correttamente il contenuto proteico di biscotti, paste, farine, crusche ottenute da diversi tipi di cereali e non, come frumento, orzo, avena e grano saraceno. Lo stesso approccio quantitativo è stato applicato da Himmelsbach et al. (2001) correlando il dato NIR con il contenuto in proteine e in amilosio apparente di campioni di riso. In ambito quantitativo Meadows e Barton (2002) hanno valutato la capacità della tecnica NIR di predire parametri viscoelastici di campioni di riso, parametri comunemente utilizzati per prevedere il comportamento in cottura o l'effetto del trattamento di parboilizzazione. L'interesse verso la possibilità di misurare anche parametri fisici è evidente nei lavori di Manley et al. (2002) e Nielsen et al. (2001): entrambi hanno condotto studi dove ai dati di composizione sono abbinati la durezza della cariosside o la distribuzione delle dimensioni delle particelle dopo la macinazione.

Nel campo delle analisi qualitative è presente da tempo l'interesse a sviluppare metodologie di autenticazione e discriminazione di sfarinati. Sireix e Downey (1993) hanno valutato per primi la possibilità di classificare mediante la tecnica NIRS differenti campioni di

*Silvia Bellato*

farine commerciali, ottenendo attraverso la tecnica chemiometrica di classificazione LDA (Analisi Discriminante Lineare) il 97% di classificazioni corrette.

Oltre ai numerosi lavori che vedono l'applicazione della spettroscopia NIR come tecnica quali-quantitativa per l'indagine su cereali o sottoprodotti, in letteratura vi sono diversi articoli in cui la tecnica NIRS viene utilizzata per analizzare miscele più semplici, come acqua e amido o proteine. Ad esempio si veda il lavoro di Osborne (1996), centrato sull'interazione amido-acqua in prodotti a base di cereali, e quello di Wesley e Blakeney (2001) sulle miscele acqua – amido – proteine.

La spettroscopia nel vicino infrarosso è ormai riconosciuta come la tecnologia ideale per ottenere risultati analitici in tempi molto rapidi salvaguardandone l'accuratezza e la precisione. Condizione essenziale e non di poco conto è che venga effettuato un corretto lavoro per lo sviluppo delle calibrazioni e che quest'ultime siano regolarmente controllate ed, eventualmente, aggiornate. Nel rispetto di questi presupposti basilari, le caratteristiche di questa tecnologia ne hanno permesso un ampio e diversificato uso in molti settori del comparto agroalimentare (Osborne, 2006; Lemons e Siva, 2009). Anche grazie allo sviluppo di metodologie chemiometriche, la spettroscopia nel vicino infrarosso ha avuto recentemente un grande inserimento nelle applicazioni di tipo analitico sia nell'analisi qualitativa (grading di matrici di diverse origini), che in quella quantitativa specialmente, ma non solo, in campo alimentare (nei settori dei cereali e derivati, lattiero caseario, orto frutticolo, etc.). Questa tecnica permette di effettuare le determinazioni in modo rapido e semplice, di valutare in tempo reale un processo e di intervenire con eventuali correttivi. Recentemente con la tecnologia nel vicino infrarosso è stata valutata la possibilità di quantificare il  $\beta$ -glucano in orzo nudo (Schmidt et al., 2009). Dall'analisi dei lavori citati, si evince che, per ottenere risultati soddisfacenti, è necessaria una complessa valutazione dei dati spettrali attraverso una attenta scelta e ottimizzazione dell'approccio chemiometrico.

Per poter trarre pieno vantaggio da questa tecnica, è necessario superare le limitazioni alla sensibilità e alla specificità del metodo che derivano dal fatto che le bande NIR sono relativamente deboli e altamente sovrapposte. In quest'ambito, un passaggio chiave nell'implementazione di un'analisi NIR accurata e precisa è l'impiego di tecniche chemiometriche di trattamento ed elaborazione del segnale, che permettano di estrarre l'informazione chimica rilevante, separandola dal rumore di fondo prodotto dalla matrice del campione.

Silvia Bellato



L'analisi quantitativa nel vicino infrarosso si basa sull'espressione multi-componenti della legge di Lambert-Beer:

$$A_{\lambda} = \sum_i \varepsilon_{\lambda,i} b C_i$$

dove  $A_{\lambda}$  è l'assorbanza totale registrata alla lunghezza d'onda  $\lambda$ ,  $\varepsilon_{\lambda,i}$  è il coefficiente di estinzione molare della specie  $i$ -esima alla stessa lunghezza d'onda,  $b$  è il cammino ottico e  $C_i$  la concentrazione della specie  $i$ -esima. Tuttavia, dal momento che esiste un elevato grado di sovrapposizione tra le bande spettrali dei diversi costituenti, per poter effettuare una calibrazione accurata e precisa non è possibile prescindere dall'adozione di un approccio multivariato, che preveda quindi la registrazione dell'intero spettro o di parti significative di esso, e la costruzione di un opportuno modello di regressione attraverso l'impiego di tecniche chemiometriche.

A tale scopo, gli spettri registrati su ciascuno degli  $n$  campioni in analisi alle  $p$  diverse lunghezze d'onda (o numeri d'onda) viene organizzato in una matrice  $X$  di dimensioni  $n \times p$  ( $n$  righe e  $p$  colonne). Successivamente, i dati raccolti in questa matrice possono essere preprocessati in diversi modi per evidenziare maggiormente le informazioni riguardanti gli analiti e/o per limitare i contributi legati a fonti di variabilità indesiderata. Per quanto riguarda lo step successivo – e fondamentale – dell'analisi dei dati, ovvero la costruzione di un modello di calibrazione che leghi la quantità o concentrazione degli analiti di interesse alle intensità dei segnali spettrali, esistono diverse tecniche che possono essere utilizzate, e che hanno ciascuna i propri vantaggi e svantaggi. Senza entrare troppo nel dettaglio della descrizione dei vari metodi possibili, tra le varie opportunità, nel corso di questa tesi si è utilizzata principalmente la regressione con minimi quadrati parziali (PLS) per determinare la relazione matematica tra il segnale infrarosso e la concentrazione degli analiti da determinare, in questo caso il  $\beta$ -glucano. Tra i vari metodi di calibrazione disponibili, infatti, la regressione PLS è il più adatto a trattare sistemi come quello in esame, per i quali i segnali strumentali siano fortemente correlati (in un profilo spettrale, l'assorbanza ad una determinata lunghezza d'onda è correlata all'assorbanza alle lunghezze d'onda precedenti e successive) ed il numero di campioni sia inferiore al numero delle variabili misurate su ciascun campione.

Silvia Bellato

### 3. Fattori tecnologici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena

#### 3.1 Il processo di parboilizzazione

I modelli alimentari consigliati per mantenere uno stato di buona salute, che è stato ormai ampiamente dimostrato dipendere anche da un'alimentazione equilibrata, raccomandano il consumo di cereali *whole grain*, fonte di una buona quantità di proteine, di un'elevata quota di carboidrati complessi e di fibre naturali, nonché di altri componenti utili e/o protettivi per la salute. E' stato, infatti, ampiamente dimostrato che il consumo di cereali integrali aiuta a ridurre il rischio di alcune malattie quali diabete di tipo 2, eccesso di colesterolo, obesità, patologie cardiovascolari, nonché, in generale, contribuisce a migliorare lo stato di salute e benessere del tratto gastro-intestinale (Liu, 2007).

Per tali motivi, in questi ultimi anni è aumentata la richiesta di alimenti prodotti con cereali integrali e, come conseguenza, di trattamenti tecnologici che consentissero di salvaguardare il loro potenziale nutrizionale. Particolare attenzione è stata indirizzata ai trattamenti termici in relazione ai loro effetti sulla qualità tecnologica e nutrizionale della materia prima e dei prodotti derivati. In questo ambito è stato osservato che l'uso del vapore, come nel trattamento di parboilizzazione, determina un miglioramento significativo delle caratteristiche tecnologiche dell'avena tale da consentirne la trasformazione in pasta alimentare (Redaelli et al., 2006).

Inoltre, la parboilizzazione con appropriate condizioni di temperatura ed umidità si è dimostrata in grado di enfatizzare le proprietà nutrizionali della granella; infatti, durante il trattamento la gelatinizzazione dell'amido facilita la formazione di amido resistente, un tipo di fibra alimentare associata con vari benefici per la salute inclusa la riduzione del rischio di tumore del colon (Kim et al., 2006). I vantaggi della parboilizzazione sono (i) la diffusione di vitamine e minerali dagli strati esterni verso l'interno della granella; (ii) l'inattivazione degli enzimi; (iii) la prevenzione della proliferazione di funghi e insetti; (iv) la gelatinizzazione dei granuli di amido con effetti positivi sulla durezza della cariosside e sulla percentuale di cariossidi fratturate; (v) l'aumento della resa di macinazione. Inoltre la parboilizzazione favorisce la migrazione di luteina e tocoli (vitamina E) dagli strati corticali e dall'embrione verso l'endosperma amilaceo, aumentando il valore nutrizionale delle farine (Hidalgo et al., 2008). Infine, la granella parboilizzata presenta una migliore consistenza e una minore quantità di cariossidi spezzate, aumentandone il consumo diretto per esempio in zuppe e risotti.

Silvia Bellato

### 3.2 Il processo di macinazione

La produzione di alimenti dalle cariossidi dei cereali generalmente comporta l'eliminazione delle parti indigeribili o irritanti (lignine e cellulose presenti negli strati più esterni) e delle parti più ricche di grassi, che potrebbero alterarsi (embrione o germe), e quindi l'utilizzo del solo endosperma. Alcuni cereali, come riso e orzo, possono essere utilizzati integri, dopo il trattamento di *brillatura*; gli altri cereali, invece, devono essere ridotti in sfarinati (farine o semole a seconda della granulometria) che vengono poi utilizzati per le diverse produzioni (pane, pasta, biscotti e altro). Ma ottenere farine bianche e fini, adatte per esempio alla produzione di pane bianco, comporta l'abbattimento delle proprietà nutrizionali della farina stessa, perché l'eliminazione degli strati più esterni della cariosside corrisponde all'eliminazione di molti composti utili. Questa perdita può essere evitata utilizzando le farine integrali, cioè comprensive della parte cruscale, nella produzione di alcuni alimenti (per esempio pane integrale).

La macinazione a scopo alimentare è un processo che prevede la rottura della cariosside, seguita dalla separazione dei frammenti in base alle loro dimensioni attraverso la setacciatura, con setacci di vario tipo (comunemente con setacci piani a oscillazione libera); le particelle ancora associate ad una parte di crusca vengono separate da quest'ultima dalle macchine semolatrici, poi alcuni divisori fanno un'ulteriore separazione (svestimento) ed infine si effettua un altro passaggio attraverso laminatoi lisci per ottenere le farine finali di una determinata granulometria.

#### 3.2.1 Processo di macinazione tradizionale vs processi innovativi

Il processo tradizionale consente quindi la produzione di alimenti raffinati oppure alimenti integrali, con sostanziali differenze dal punto di vista nutrizionale, e con effetti diversi sull'organismo umano, ma la scelta del consumatore è più spesso veicolata dalle caratteristiche visive e organolettiche del prodotto, sebbene la nuova tendenza, in cui l'attenzione del consumatore è sempre più rivolta verso uno stile di vita sano, fatto di scelte salutari, vede la contrapposizione tra ricerca del piacere e attenzione alla salute e al benessere. In questo contesto le tecnologie produttive degli alimenti si sono affinate e sviluppate con l'obiettivo di migliorare la qualità degli alimenti intesa come conservabilità, gusto e aspetto, ed anche, in relazione alle più aggiornate conoscenze scientifiche, come valore nutrizionale e/o come potenziale nel ridurre e/o prevenire il rischio di malattie. Oggi nuovi procedimenti tecnologici sono stati considerati per produrre alimenti con maggiore valore nutrizionale, che aiutino a

Silvia Bellato

mantenere un buono stato di salute, ma che allo stesso tempo incontrino il gusto del consumatore, facendo sì che rientrino nell'uso quotidiano.

### *3.2.1.1 Micronizzazione e turbo separazione*

Seguendo l'obiettivo di identificare processi tecnologici innovativi che consentano di realizzare nuovi ingredienti o alimenti con un elevato valore nei riguardi della salute del consumatore, si stanno studiando sistemi tecnologici di macinazione che applicando specifici diagrammi di frazionamento della granella consentano di salvaguardare nella farina composti bioattivi di interesse, eliminando soltanto le frazioni che hanno effetti negativi sulla qualità tecnologica e sulla sicurezza d'uso (Michalska et al., 2007; Hemery et al., 2007; Ferrari et al., 2009; Gani et al., 2012; Delcour et al., 2012). Tra gli altri, il sistema di micronizzazione e turboseparazione delle farine permette di abbinare la macinazione della granella, alla separazione ad aria delle frazioni con differente dimensione e composizione, ottenendo una frazione grossolana (G) composta dagli strati più esterni della cariosside, e una frazione più sottile (F), derivata dalle parti interne. Il sistema è inoltre regolabile per ottenere una buona separazione con farine ottenute da cereali diversi, che hanno quindi caratteristiche diverse. Le frazioni recuperate possono essere miscelate in varie proporzioni per ottenere farine arricchite con cui produrre prodotti specifici (per esempio alimenti funzionali).

## **4. Il processo tecnologico per la produzione di pasta**

La pasta è un alimento base nella dieta degli italiani; il suo consumo medio annuale pro capite è stato stimato in circa 28kg. D'altra parte l'Italia è al primo posto tra i paesi produttori di pasta, ottenuta tradizionalmente dalla trasformazione della granella di frumento duro. Numerose ricerche sono state realizzate seguendo l'obiettivo di aumentare il suo potenziale nutrizionale attraverso l'integrazione con altre fonti vegetali come soia, mais, glutine di frumento, leguminose, proteine estratte da foglie (Hanna et al., 1978; Lucisano et al., 1984; Fabriani, 1988; De Stefanis et al., 1990; Clark e Johnson, 2002; Hall e Johnson, 2004; Shogren et al., 2006). Inoltre è ormai ampiamente testata l'aggiunta delle parti cruscali della cariosside alla semola di frumento duro per realizzare paste integrali. Le paste integrate in tal modo presentano un aumento generalizzato di tutti i minerali e della fibra dietetica totale (Milatovich e Mondelli, 1990). Infatti, la grande espansione del mercato degli alimenti funzionali ha

*Silvia Bellato*

permesso di riconoscere la pasta come un potenziale e interessante veicolo di composti bioattivi (Bergman et al., 1994; Brennan et al., 2004; Torres et al., 2007).

La pasta ha un elevato valore energetico, è caratterizzata principalmente dall'apporto di buone quantità di proteine di medio valore biologico e di elevate quantità di carboidrati, rappresentati principalmente da amido. Basso è il contenuto di grassi della pasta, anche se apprezzabile è il loro valore nutrizionale. Da non trascurare è l'apporto di alcuni elementi inorganici (ferro e fosforo) e di alcune vitamine del gruppo B (riboflavina e tiamina).

La produzione di pasta prevede l'utilizzo di impastatrici che, grazie alla rotazione di un albero a braccia munito di palette, creano un impasto uniforme di semola e acqua, che passa poi attraverso un cilindro a vite senza fine dove è compresso e spinto attraverso la trafilatura, che gli conferisce la forma desiderata (per esempio spaghetti se la trafilatura termina con piccoli fori). La pasta ottenuta è molto umida, e per essere essiccata viene posta su canne (nel caso della pasta lunga) in appositi supporti e tagliata o su appositi telai, e messa negli essiccatori, che seguendo percorsi preimpostati raggiungono e mantengono la temperatura desiderata per il tempo prestabilito. Una volta essiccata la pasta viene lasciata "riposare" per alcuni giorni ed è infine pronta al consumo.

#### **4.1 Nuovi prodotti ad elevato valore nutrizionale per ampliare il consumo dell'avena nell'alimentazione umana**

Come precedentemente discusso, numerosi studi epidemiologici hanno permesso di chiarire il ruolo positivo per la salute del  $\beta$ -glucano, di cui, tra i cereali, l'avena, ma anche l'orzo, è particolarmente ricca. Con l'obiettivo quindi di ampliare la disponibilità sul mercato di fibra solubile di avena, sono stati proposti diversi prodotti innovativi, caratterizzati da un maggior valore nutritivo attribuito proprio alla presenza di componenti bioattivi della farina di avena. Vari studi, inoltre, (De Stefanis et al., 1993; Sgrulletta et al., 1994; Sgrulletta et al., 1995; Sgrulletta et al., 2001a; Sgrulletta et al., 2001b) hanno evidenziato come la granella di avena a seme nudo, che può essere utilizzata integralmente evitando la fase di separazione delle glume, fosse più idonea alla trasformazione in alimenti per l'uomo che risultino più accettabili dal punto di vista organolettico e meno onerosi per quanto riguarda gli aspetti tecnologici.

E' quindi interessante la prospettiva di sviluppo di prodotti che considerino nella formulazione semola di frumento duro miscelata con farina di avena nuda, ed in seguito solo avena; in questo caso il concetto da sviluppare include sia l'opportunità di enfatizzare al massimo le elevate proprietà nutrizionali dell'avena che la possibilità di ampliare la gamma di

*Silvia Bellato*

cibi a base di cereali destinati a pazienti affetti da celiachia vista la scarsa frequenza di tossicità riscontrata con l'avena.

Silvia Bellato

## OBIETTIVO

I moderni modelli alimentari consigliati per mantenere uno stato di buona salute, raccomandano il consumo equilibrato di tutti gli alimenti naturali, privilegiando per frequenza e quantità derivati dei cereali, frutta e verdura, e riducendo il consumo di alimenti ricchi di grassi saturi delle carni e dei dolci.

Tra i cereali, in particolare, alla luce delle maggiori conoscenze su specifici componenti della cariosside e sui meccanismi attraverso i quali essi influenzano le funzioni fisiologiche

*Silvia Bellato*

dell'organismo, è stata rivalutata l'avena come una ricca fonte di principi attivi. L'avena, infatti, un cereale con potenzialità uniche dal punto di vista nutrizionale, potrebbe ricoprire un ruolo importante nell'ambito di un modello alimentare ed uno stile di vita corretto, se ne fosse ampliato l'uso come materia prima per la produzione di alimenti che possano avere un effetto benefico su importanti funzioni dell'organismo, e/o comunque destinati al miglioramento del complessivo benessere delle persone.

Considerando quindi il rinnovato interesse nei confronti dell'avena come cibo per l'uomo, questa ricerca è finalizzata ad esplorare in ogni aspetto le sue potenzialità in relazione alla prospettiva della sua auspicabile maggiore presenza nell'alimentazione umana, a partire dal miglioramento genetico per la selezione di nuove cultivar più versatili e più idonee per rispondere agli obiettivi (avena a seme nudo *vs* avena a cariosside vestita), considerando, inoltre, la possibilità di sviluppare metodi analitici rapidi ed accurati per migliorare l'efficienza dei programmi di *breeding* per l'avena mediante la valutazione di importanti caratteri associati con le sue proprietà nutrizionali.

In aggiunta, in questo studio, si è cercato di approfondire le conoscenze relative all'influenza di fattori intrinseci ed estrinseci, quali genotipo e ambiente, sui componenti biologicamente attivi della granella di avena, al fine di identificare i sistemi ottimali per incrementarne il contenuto e migliorarne la composizione.

Infine, è stata esplorata la possibilità di produrre alimenti innovativi che, mantenendo il nutriente funzionale nella sua matrice naturale, ne ampliassero la disponibilità per la popolazione. Nella standardizzazione del processo produttivo del nuovo alimento, l'obiettivo è stato quello di ottenere un prodotto con un elevato potenziale nutrizionale e buoni standard organolettici senza tralasciare gli aspetti sociali e culturali (usi e tradizioni culinarie, tempi e facilità di preparazione etc.) che possono favorirne l'accettabilità da parte del consumatore.

Silvia Bellato



Tesi di dottorato in Scienze Biochimiche e Tecnologie Applicate agli Alimenti ed alla Nutrizione, di Silvia Bellato, discussa presso l'Università Campus Bio-Medico di Roma in data 26/03/2013.  
La disseminazione e la riproduzione di questo documento sono consentite per scopi di didattica e ricerca, a condizione che ne venga citata la fonte

# **MATERIALI E PROCESSI TECNOLOGICI**

*Silvia Bellato*

Nel corso di questa ricerca il materiale e le relative prove agronomiche, nonché i processi tecnologici studiati, sono stati diversi in relazione agli obiettivi da perseguire.

## **1. Fattori genetici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena**

### **1.1 Sviluppo di metodi di analisi rapidi ed accurati per lo screening di materiale genetico: la spettroscopia nel vicino infrarosso (NIR/NIT)**

Per la caratterizzazione dell'avena nuda mediante l'individuazione e la quantificazione di specifici componenti che possono rappresentare dei parametri di qualità "nutrizionale" del prodotto, si è cercato di identificare il materiale che consentisse di inserire la maggiore variabilità possibile nei modelli applicativi da sviluppare.

A tal fine, sono state realizzate specifiche prove agronomiche a Roma (Montelibretti) per tre anni (variabilità ambientale) inserendo come ulteriore fattore di variabilità la dose di semina (300 o 400 semi/m<sup>2</sup>). Le prove sono state condotte con tre repliche di campo, un numero di repliche ritenuto sufficiente per considerare nell'errore statistico la variabilità attribuibile a variazioni nella fertilità del terreno. Com'è noto anche le caratteristiche intrinseche genetiche hanno un'importanza rilevante per la composizione dei cereali; per questo motivo sono stati identificati genotipi di avena nuda rappresentativi del panorama di varietà attualmente disponibili (Abel, Bikini, Expression, Grafton, Hendon, Irina, Luna, Nave, Racoon) e di alcune linee in avanzata fase di selezione (BD123, BD124, 13914CN) per un totale di 166 campioni riportati in Tabella 1.

Un ulteriore set di campioni di avena di provenienza italiana ed europea, ottenuti da prove agronomiche realizzate nell'ambito di un progetto finanziato dall'UE, "Avena genetic resources for quality in human consumption" (AVEQ), è stato utilizzato per lo sviluppo di modelli predittivi NIR per la stima del  $\beta$ -glucano totale e solubile, che fossero applicabili alle diverse tipologie di cariossidi di avena. Seguendo questo obiettivo nel set di calibrazione o training set sono state inserite sia cariossidi private delle glume appartenenti a varietà vestite che cariossidi di avena a seme nudo. I 350 campioni analizzati provenienti da diverse banche genetiche appartenevano a 12 specie diverse e comprendevano cultivars commerciali, linee in fase avanzata di miglioramento e specie selvatiche. I campioni sono stati sottoposti sia all'analisi NIR sia alle analisi con i metodi ufficiali.

*Silvia Bellato*

Nome	Origine	Anno di registrazione	Numero di campioni
Nave	Italia	1983	15
Irina	Italia	2008	17
Luna	Italia	2008	17
BD123	Italia		12
BD124	Italia		18
Grafton	Galles	2000	12
Expression	Galles	2004	16
Hendon	Galles	2003	12
Racoon	Galles	2009	17
13914CN	Galles		18
Abel	Repubblica Ceca	1995	6
Bikini	Norvegia	1996	6

**Tabella 1.** Varietà di avena nuda utilizzate per lo sviluppo di modelli NIR e NIT su sfarinato e granella di avena nuda.

## 1.2 Valutazione della variabilità genetica in accessioni di Avena per il contenuto in $\beta$ -glucano totale e solubile

Sono stati analizzati 658 genotipi di avena (Tabella 2), appartenenti a 12 specie diverse, che includono cultivar commerciali, linee in fase avanzata di selezione e specie selvatiche (wild) provenienti da diverse banche genetiche. Undici varietà commerciali provenienti da diversi paesi sono state scelte come standard: Argentina e Genziana (Italia), Auteuil e Evora (Francia), Belinda (Svezia), Ivory (Germania), Jaak (Estonia), Krezus (Polonia), Mina (Bulgaria), Mures (Romania), Saul (Repubblica Ceca). Mina and Saul sono cultivar a seme nudo, tutte le altre sono a seme vestito.

Silvia Bellato

Specie	No. accessioni
<i>abyssinica</i>	5
<i>barbata</i>	3
<i>byzantina</i>	23
<i>canariensis</i>	1
<i>damascena</i>	1
<i>fatua</i>	12
<i>hirtula</i>	3
<i>hybrida</i>	1
<i>sativa subsp.</i>	546
<i>sterilis</i>	5
<i>strigosa</i>	46
<i>wiestii</i>	1

**Tabella 2.** Elenco delle specie di avena e numero di accessioni considerate in questo studio.

I campioni per le analisi biochimiche sono stati raccolti da tre diversi campi sperimentali ogni anno, rappresentanti dei tre areali europei: Nord Europa (Estonia e Svezia), Europa Centrale (Polonia e Francia), e Sud Europa (Bulgaria e Romania). Le accessioni considerate in questa parte dello studio sono state seminate in singole parcelle, mentre le 11 cultivar “standard” sono state coltivate in cinque repliche in ogni località in entrambi gli anni. Le analisi chimiche delle cultivar standard sono state effettuate sui campioni raccolti dalle cinque repliche e sono stati utilizzate per l'analisi statistica.

### 1.3 Valutazione della variabilità genetica dell'avena nuda in test tecnologici per la produzione di alimenti innovativi

Al fine di avere materie prime sufficienti a testare nuovi processi tecnologici, sono state realizzate prove agronomiche in pieno campo con tre varietà di avena nuda, più versatile e più adatta alla trasformazione: Grafton, Irina e Abel. Le prove sono state realizzate a Montelibretti (Roma) per due anni, applicando le tecniche agronomiche usuali per l'avena nuda.

Silvia Bellato

## **2. Fattori tecnologici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena e di altri cereali di interesse**

### **2.1 I processi applicati**

#### ***2.1.1 Trattamento idrotermico di parboilizzazione***

Sono state utilizzate due varietà di avena (*Avena sativa*), allevate in prove di confronto varietale, messe a confronto con i seguenti cereali: frumento tenero (*Triticum aestivum*), f. duro (*T. turgidum* ssp *durum*), farro (*T. turgidum* ssp *dicoccum*), monococco (*T. monococcum*), risone e riso semigreggio (*Oryza sativa*).

Il processo di parboilizzazione è stato eseguito su 100 g di granella dei diversi cereali, imbibiti fino al 40% di umidità, e poi sottoposti ad un ciclo di trattamento a 121°C per 10 minuti ad una pressione di 2.1 bar. Prima della macinazione le cariossidi sono state essiccate fino a raggiungere l'11% di umidità (Hidalgo et al., 2008).

#### ***2.1.2 Micronizzazione e turboseparazione***

Tre varietà di avena, Irina, Grafton e Abel, sono state utilizzate per studiare l'impatto dei processi tecnologici sulle proprietà dello sfarinato di avena. Tra i diversi modi per aumentare il contenuto di  $\beta$ -glucano, è stato testato il sistema di Micronizzazione KMX-500 device, 100-200 kg/h (Separ Microsystem, Brescia, Italia), applicato alla granella di avena, alla velocità di 170 Hz. Lo sfarinato ottenuto (indicato come sfarinato intero micronizzato) è stato successivamente separato ad aria, utilizzando una Unità Integrata di Turboseparazione ad aria (Separ Microsystem, Brescia, Italia), in due frazioni: una frazione G, grossolana, ed una frazione F, più fine.

Questi sistemi di micronizzazione e turboseparazione sono stati applicati anche alla granella su cui era stato precedentemente eseguito il trattamento di parboilizzazione, delle tre varietà di avena Irina, Grafton e Abel.

#### ***2.1.3 Processo di pastificazione***

Sono state prodotti campioni di pasta da miscele contenenti quantità diverse di farina ottenuta dalla micronizzazione e turboseparazione delle tre varietà di avena: Grafton, Abel e Irina, nelle quantità di 10, 20, e 40 % di sfarinato di avena unito per la restante percentuale a semola di grano duro della varietà Claudio; è stata inoltre prodotto un campione di pasta con la sola semola Claudio (utilizzata come controllo). Le paste sono state prodotte sia con la frazione G (strati più esterni) che con la frazione F (a granulometria fine). A 1.5 Kg di miscela (semola + sfarinato) è stata aggiunta la quantità di acqua necessaria all'impasto per raggiungere

Silvia Bellato

la consistenza desiderata (tra 350 e 500 mL). Poi attraverso l'estrusore (estrusore NAMAD) è stata prodotta la pasta sotto forma di spaghetti, che sono stati messi ad essiccare all'interno di un apposito essiccatore (AFREM, Francia) con un ciclo a bassa temperatura (50°C per 12 h). Gli spaghetti secchi sono stati conservati a temperatura ambiente per 10 giorni prima di effettuare gli assaggi. Una parte della pasta cruda è stata macinata a diverse granulometrie (0.5 mm e 0.1 mm) e una parte della pasta cotta è stata liofilizzata ed infine macinata per effettuare le successive analisi (come per la pasta cruda).

#### ***2.1.4 Prove di cottura***

Le paste ottenute dalle miscele di avena e semola di frumento in diverse quantità sono state assaggiate per testarne le qualità organolettiche a confronto della pasta di sola semola di grano duro. Sono stati pesati 100 g di spaghetti e messi in 1 L di acqua precedentemente portata a ebollizione. A tempi diversi è stato prelevato un frammento di spaghetti per determinare il tempo di scomparsa del nucleo amilaceo tramite schiacciamento tra due vetrini. La cottura è stata di 13 minuti, poi la pasta è stata lasciata riposare su un piatto per 6 minuti, rigirata e mescolata delicatamente, e dopo 3 minuti sottoposta al test di assaggio da un panel di assaggiatori esperti per valutare le caratteristiche di Ammassamento, Collosità e Nervo.

Silvia Bellato

## **METODI DI ANALISI**

*Silvia Bellato*

## 1 Analisi NIR-NIT

Gli spettri in trasmissione sono stati registrati, operando su circa 500g di campione, con analizzatore NIT INFRATEC 1241 Grain Analyzers della FOSS Italia (FossItalia, Padova, Italia) (range 570-1100 nm ad intervalli di 2 nm), dotato di accessori per l'analisi di prodotti a granulometria fine (circa 20g di semola e farine) e rivelatore a silicio. La sorgente di luce è costituita da una lampada alogena a tungsteno. La lunghezza ottica è di 18 mm per i campioni di granella intera mentre per lo sfarinato sono state utilizzate capsule con lunghezza di 3 mm.

Gli spettri in riflettanza sono stati registrati, operando su circa 20 g di campione, con analizzatore NIRSystems 6500 della FOSS Italia Tecator (400-2500 nm ad intervalli di 2 nm), dotato di un modulo di trasporto del campione e rivelatore a  $\text{SiO}_2$  nel range da 400 a 1098 nm e uno a PbS nel range 1100-2500 nm. Anche in questo caso la sorgente di luce è costituita da una lampada alogena a tungsteno. Le analisi sono state effettuate in doppio.

La classificazione degli spettri, la loro analisi, e la selezione delle lunghezze d'onda di maggiore interesse sono state effettuate utilizzando il software WinISI Project manager v.1.50 (Infrasoft International LLC, State College, PA) applicando l'algoritmo PLS.

La curva di calibrazione è stata validata scegliendo tra i campioni di calibrazione (o training set); un test set cioè campioni scelti in maniera casuale e utilizzati come set di validazione per il modello predittivo. Sono stati applicati alcuni trattamenti matematici: detrend, analisi della varianza, e derivata I.

## 2 Analisi fisico-chimiche

### 2.1 Single Kernel Classification System (SKCS)

L'SKCS (mod. 4100, Perten) è uno strumento utilizzato per valutare la durezza, il diametro, l'umidità e il peso delle cariossidi mediante un rotore dentato, un piano di schiacciamento e una bilancia. Il singolo seme viene pesato mediante una bilancia (parametro "peso del seme") e successivamente trasferito nella unità di analisi della durezza dove sono collocati il rotore e il piano di schiacciamento che, misurando la forza necessaria per arrivare alla rottura di quest'ultimo, ne determina il parametro "durezza del seme". Il sistema è tale da permettere di ottenere con sufficiente accuratezza anche altri parametri sui semi analizzati. Infatti, il rotore e il piano sono elettricamente isolati in modo tale da poter valutare la conducibilità elettrica del campione e ricavare il relativo contenuto in acqua (umidità). Infine, il diametro della cariosside viene ottenuto in funzione del tempo necessario al suo completo

Silvia Bellato



schiacciamento. L'analisi viene effettuata su 300 semi e i risultati delle variabili analizzate sono espressi come valore medio associato alle rispettive Deviazioni Standard.

## ***2.2 Macinazione della granella***

La granella è stata macinata con molino Udy Mill Cyclotec (FossItalia- PD, Italy), la granulometria richiesta dai metodi di riferimento per le diverse determinazioni: 0.5 mm per la determinazione di proteine,  $\beta$ -glucano totale, insolubile e solubile, analisi NIR e NIT, viscosità apparente, fibra dietetica e amido totale; 1.0 mm per la quantificazione del contenuto di amido resistente.

## ***2.3 Determinazione del contenuto proteico totale***

Il contenuto proteico totale è stato determinato con il micro-Kjeldahl, che prevede la digestione di 200 mg di campione con 8 mL  $H_2SO_4$  (conc. 96%p/v) con 1% di catalizzatore selenico e 2 mL di  $H_2O_2$ , e la successiva mineralizzazione ad una temperatura di 450°C per circa 2 ore. In questo modo l'azoto presente nel campione viene mineralizzato sotto forma di solfato di ammonio. Segue una fase di distillazione con  $H_2O$  e NaOH al 32%. Il distillato viene poi raccolto in beute da 250ml contenenti 20ml di acido bórico, e l'azoto presente nel campione viene titolato con acido solforico 0.05 N dopo l'aggiunta di 5-6 gocce di indicatore misto (rosso metile + verde di bromocresolo), fino al viraggio da verde a rosa lilla.

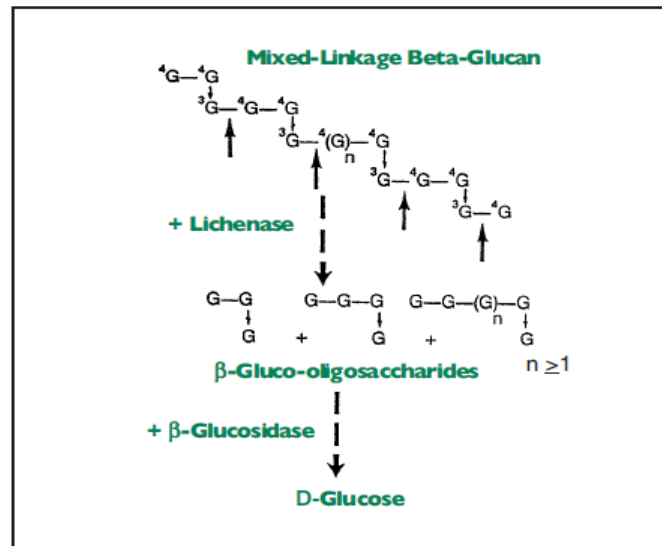
La quantità di proteine inizialmente presenti nel campione si ottiene moltiplicando la quantità di azoto per il fattore 6.25 (G.U.186 suppl. n°4, 10 agosto 1994). Per ottenere il valore di riferimento, cioè la quantità (mL) di  $H_2SO_4$  richiesti per titolare 1 mg di azoto, si utilizza  $NH_4Cl$  (standard primario), procedendo con la distillazione e successiva titolazione. Le analisi sono state effettuate in doppio.

## ***2.4 Determinazione del $\beta$ -glucano totale***

Il contenuto di  $\beta$ -glucano totale nei campioni di avena è stato determinato utilizzando il kit specifico della "Megazyme International Ireland Ltd.", che si basa sul metodo di McCleary e Codd (AOAC Methods 995.16). Questo metodo è basato sulla demolizione enzimatica del  $\beta$ -glucano fino a D-glucosio e determinazione spettrofotometrica di quest'ultimo dopo aggiunta di uno specifico reagente per lo sviluppo del colore.

Il principio del metodo è schematizzato in Figura 1.

Silvia Bellato



**Figura 1.** Schema della procedura per la determinazione enzimatica del  $\beta$ -glucano.

In particolare il campione, opportunamente macinato, viene trattato con soluzione acquosa a pH 6.5 (tampone fosfato 20 mM). La sospensione viene riscaldata in bagnomaria bollente per alcuni minuti, agitando, e poi raffreddata a 40°C e, dopo aggiunte dell'enzima lichenasi, mantenuta a questa temperatura per 1 h (in questa fase avviene una prima depolimerizzazione dell'analita). Successivamente si diluisce a 30 mL con acqua, si centrifuga e, ad una piccola aliquota del surnatante 0,1 mL si aggiunge un secondo enzima ( $\beta$ -glucosidasi in tampone acetato 50 mM a pH = 4,0) che durante un nuovo periodo di incubazione a 40°C (15 min) completa la demolizione del  $\beta$ -glucano fino a D-glucosio. Contemporaneamente si prepara un bianco in modo del tutto analogo, sostituendo al campione e all'enzima una soluzione contenente il solo tampone acetato. A questo punto si aggiunge al campione e al bianco il reattivo GOPOD, costituito da una miscela di glucosidasi-perossidasi e 4aminoantipirina, e dopo un ulteriore periodo di incubazione a 40°C (20 min) si misura l'assorbanza a 510 nm (Saastamoinen et al., 1992; Lambo et al., 2005). La quantità di  $\beta$ -glucano presente nel campione è calcolata sulla base di analoghe prove condotte su campioni di farine a titolo noto e/o di standard di  $\beta$ -glucano. Le analisi sono state effettuate in doppio.

### **2.5 Determinazione delle frazioni di $\beta$ -glucano insolubile e solubile**

La frazione insolubile del  $\beta$ -glucano è stata determinata secondo il metodo di Åman and Graham (1987), che prevede una fase di lavaggi in H<sub>2</sub>O a 38°C per 2 h, e successive centrifugazioni per eliminare la frazione solubile, e la successiva quantificazione sul pellet secondo il metodo McCleary e Codd (AOAC Methods 995.16). La frazione solubile è stata

calcolata per differenza tra la frazione totale e quella insolubile. Le analisi sono state effettuate in doppio.

### ***2.6 Analisi della Capacità Antiossidante Totale (TAC)***

La misura della TAC è stata effettuata seguendo il metodo diretto di Serpen et al. (2008) che prevede il contatto del campione solido con una soluzione acquosa di etanolo al 50% contenente il radicale 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) per un periodo di 50 minuti in un agitatore orbitale. La lunghezza d'onda per la lettura è di 734 nm. Per ottenere un'assorbanza nel range valido della curva di calibrazione (da 0.625 a 1.25 mmolare), i campioni sono stati diluiti con cellulosa in polvere in rapporto 1:10 w/v ed è stato misurato il decremento di assorbanza del radicale libero in soluzione rispetto al valore di assorbanza iniziale. La TAC è espressa in millimoli TEAC (Trolox equivalent antioxidant Capacity) per kg di campione.

### ***2.7 Quantificazione del contenuto di amido totale (TS)***

Per la determinazione del contenuto di amido totale, 100 mg di sfarinato sono stati mescolati con EtOH 80 % e subito trattati con l'enzima  $\alpha$ -amilasi e posti in bagnomaria a 99 °C per 6 minuti (agitando ogni 2 minuti). I campioni sono stati portati alla temperatura di 55 °C e sono stati aggiunti il tampone Sodio acetato buffer (pH 4.5) e l'enzima amiloglicosidasi, che è stato lasciato agire 30 minuti a 55 °C. I campioni sono stati diluiti in H<sub>2</sub>O (fino a 100 mL), e 5 mL della soluzione è stata centrifugata. 0.1 mL di surnatante sono stati posti in una provetta con 3 mL di reagente GOPOD e incubati a 50 °C per 20 minuti. Infine il campione è stato letto allo spettrofotometro alla lunghezza d'onda di 510 nm. Le analisi sono state effettuate in doppio.

### ***2.8 Quantificazione del contenuto di amido resistente (RS)***

L'analisi del contenuto di amido resistente è stata effettuata secondo il metodo ufficiale (Metodo ufficiale A.O.A.C., 2002)(utilizzando lo specifico Kit Megazyme, Ireland) che consiste nel trattamento del campione (100 mg) con l'enzima  $\alpha$ -amilasi pancreatica contenente amiloglicosidasi (AMG) per 16 h a 37 °C, seguito da lavaggi con EtOH al 99% e centrifugazioni, al pellet è stato aggiunto KOH, lasciato agire in agitazione per 20 minuti in ghiaccio. I campioni sono stati poi portati a 50 °C ed è stato aggiunto tampone sodio acetato a pH 3.8 e l'enzima AMG, che è stato lasciato agire per 30 minuti a 50 °C (con agitazione su vortex ogni 10 minuti). Dopo 25 minuti di centrifuga sono stati prelevati 0.1 ml di surnatante da ogni campione, aggiunti 3 mL di GOPOD, e dopo 20 minuti a 50 °C e 10 minuti a

Silvia Bellato

temperatura ambiente sono state effettuate le letture a 510 nm. Le analisi sono state effettuate in doppio.

### ***2.9 Quantificazione del contenuto di fibra totale (TDF)***

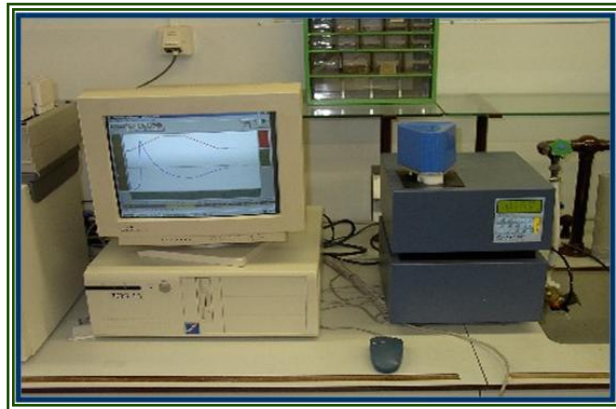
Il contenuto in fibra totale è stato determinato mediante metodo enzimatico gravimetrico (Metodo ufficiale AOAC, 1995). Il materiale in esame viene trattato con  $\alpha$ -amilasi termoresistente, per agglutinare l'amido e decomporlo parzialmente; in seguito ha luogo una digestione proteica mediante proteasi e la degradazione residuale dell'amido mediante amiloglucosidasi. Le fibre alimentari vengono precipitate mediante etanolo, si filtra il precipitato e si lava con etanolo ed acetone. Il residuo viene pesato; dal peso vengono sottratte il contenuto proteico e la quantità di sali minerali determinati su crogioli indipendenti. Le analisi sono state effettuate in doppio.

### ***2.10 Analisi della viscosità apparente (AV)***

L'analisi è stata eseguita su campioni di sfarinato di avena macinato a 0.5 mm. 6 campioni per ognuna delle varietà Mina, Belinda e Argentina, 7 campioni *wild*, e le 3 varietà Irina, Grafton e Abel, sia non processate, sia parboilizzate, e le loro frazioni ottenute a seguito di micronizzazione e turboseparazione (frazione G e frazione F). Le analisi sono state eseguite in doppio.

E' stato utilizzato lo strumento Rapid Visco Analyzer (RVA, Newport Scientific, Warriewood, Australia) (Figura 2), seguendo il metodo di Chernyshova et al. (2007). Sono stati pesati 4 g di sfarinato, sono stati aggiunti 24 g di H<sub>2</sub>O, e la curva è stata ottenuta alla temperatura di 55 °C costanti, per consentire la solubilizzazione del  $\beta$ -glucano ma evitare la gelatinizzazione dell'amido, in questo modo si è limitato il contributo dell'amido alla viscosità del campione. La velocità di miscelazione è stata di 960 rpm per i primi 10 secondi, e di 160 rpm per il tempo successivo, per un totale di 8 minuti di analisi. Lo strumento ha registrato le misure ogni 4 s. I valori sono stati esportati in files excel. La curva che si ottiene indica un picco di viscosità, che corrisponde al punto di equilibrio tra il gonfiarsi e separarsi dei polimeri (che causa l'aumento della viscosità) e la rottura e l'allineamento dei polimeri (che causa la diminuzione della viscosità).

Silvia Bellato



**Figura 2.** Rapid Visco Analyzer (RVA, Newport Scientific, Warriewood, Australia) utilizzato per misurare la viscosità apparente sullo sfarinato di avena.

### 3 Analisi statistica

In considerazione degli obiettivi, i dati sono stati valutati statisticamente utilizzando le analisi qui riferite.

Il modelli di calibrazione NIR per la determinazione del contenuto di  $\beta$ -glucano totale e delle frazioni solubile e insolubile sono stati sviluppati utilizzando il metodo di regressione PLS (Partial Least Square) e adottando sistemi chemiometrici adeguati alle matrici analizzate.

L'analisi della varianza (ANOVA), il test di Duncan e la determinazione del coefficiente di correlazione semplice di Pearson  $r$  sui dati ottenuti dal set di campioni delle cultivar "standard" (11 e 7 varietà per il contenuto di  $\beta$ -glucano totale e solubile rispettivamente) sono stati determinati con il programma MSTATC (Michigan State University, East Lansing, US). Box plots e *cluster analysis* sono stati ottenuti utilizzando il software MATLAB (versione R2010a, Math Works, Inc., USA).

Silvia Bellato

## **RISULTATI E DISCUSSIONE**

*Silvia Bellato*

## 1 Fattori genetici e ambientali per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena

### 1.1 Variabilità nel contenuto in $\beta$ -glucano tra accessioni di Avena

Numerose accessioni di avena provenienti da differenti paesi, nell'ambito del progetto Europeo "Avena genetic resources for quality in human consumption" (AVEQ), sono state esaminate e caratterizzate per i principali parametri relativi alla qualità dell'avena destinata al consumo per l'uomo.

Nella Tabella 1 è riportato l'elenco delle specie considerate nel nostro studio e il *range* di variabilità riscontrato nei contenuti di  $\beta$ -glucano totale e della frazione solubile.

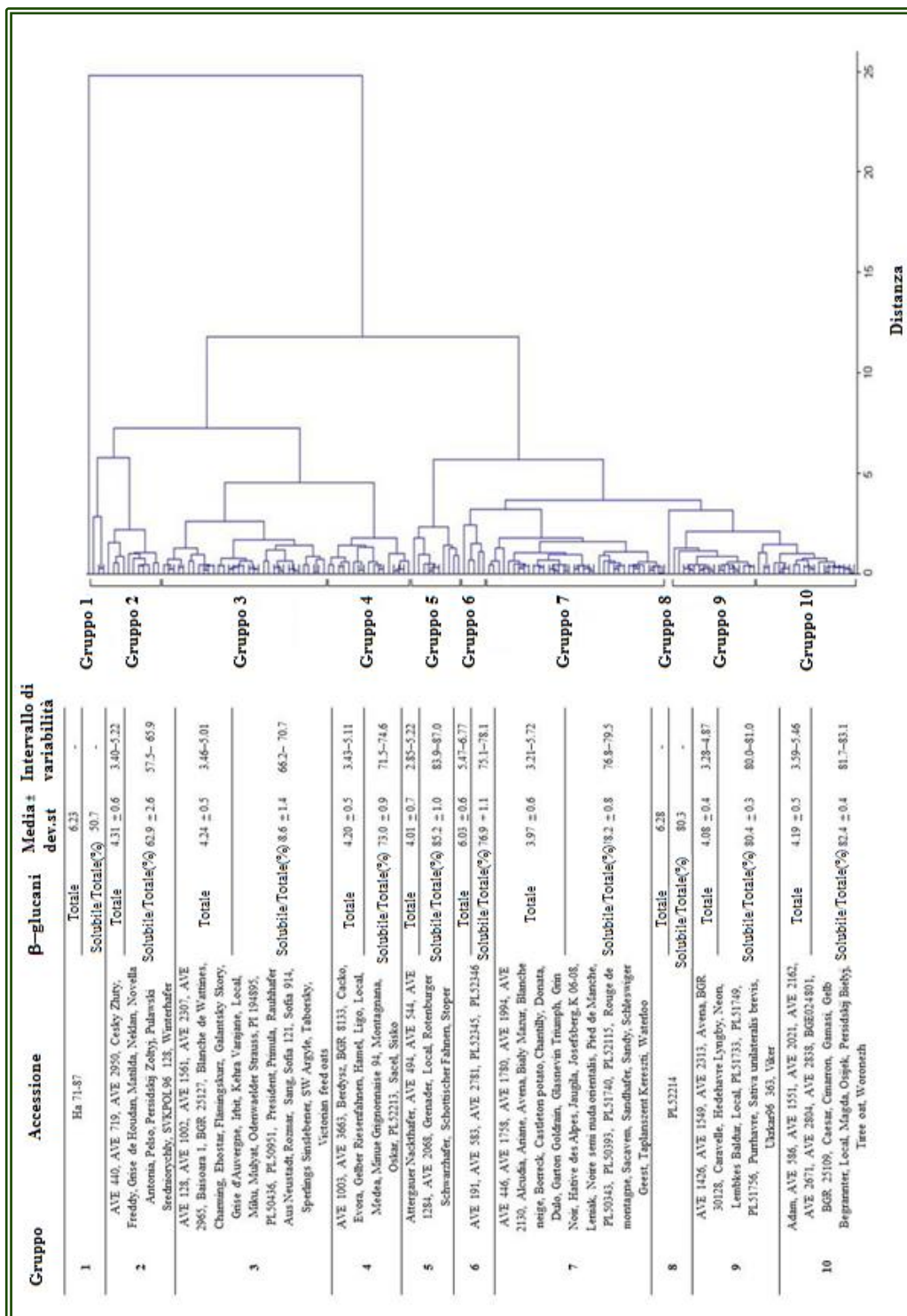
Specie	Genoma	$\beta$ -glucano totale		$\beta$ -glucano solubile	
		No. accessioni	Range	No. accessioni	Range
<i>abyssinica</i>	AB	5	3.58–5.12	2	3.19–3.78
<i> barbata</i>	AB	3	4.51–5.46	2	2.88–4.48
<i>byzantina</i>	ACD	23	2.88–4.94	5	2.50–3.59
<i>canariensis</i>	Ac	1	3.57	1	2.61
<i>damascena</i>	Ad	1	6.77	1	5.29
<i>fatua</i>	ACD	12	3.20–5.90	8	2.67–4.49
<i>hirtula</i>	As	3	4.99–6.28	3	3.62–5.04
<i>hybrida</i>	ACD	1	4.23	1	3.41
<i>sativa subsp.</i>	ACD	546	3.02–5.74	110	2.05–4.18
<i>sterilis</i>	ACD	5	3.90–5.22	4	3.23–4.48
<i>strigosa</i>	As	46	2.85–6.23	20	2.45–3.95
<i>wiestii</i>	As	1	6.55	1	5.05

**Tabella 1.** Elenco delle specie di avena considerate in questo studio: classificazione del genoma, numero di accessioni analizzate e *range* di variabilità per il  $\beta$ -glucano totale e solubile (% s.s.).

Le accessioni analizzate appartengono a 12 specie di Avena con differenti livelli di ploidia. L'*Avena sativa* è risultata la specie più rappresentata, seguita da *A. strigosa*, *A. bizantina* e *A. fatua*. Il *range* di variabilità osservato in *A. sativa* varia da 3.02 a 5.74 % s.s. per il  $\beta$ -glucano totale e tra 2.05 e 4.18 % s.s. per la frazione solubile. Valori in accordo con quelli riportati da altri autori per differenti set di genotipi (Cho e White, 1993; Miller et al., 1993; Welch et al., 2000). Numerose accessioni di *A. strigosa*, specie coltivata marginalmente e destinata alla produzione di mangimi per gli animali, hanno mostrato elevati contenuti in  $\beta$ -glucano e un ampio *range* di variabilità (2.85-6.23 %s.s.). Elevati contenuti in  $\beta$ -glucano sono stati evidenziati anche nelle specie selvatiche *A. damascena*, *A. hirtula* e *A. wiestii*.

Silvia Bellato

Al fine di riunire le accessioni analizzate in gruppi omogenei è stata utilizzata l'analisi cluster (hierarchical clustering) in cui come criterio di classificazione sono state considerate tre variabili: il  $\beta$ -glucano totale, la frazione solubile, e la % di solubile/totale (Figura 1).



**Figura 1:** Hierarchical clustering di 154 accessioni di avena caratterizzate in base al contenuto in  $\beta$ -glucano totale and solubile (%s.s.), che presenta i dieci gruppi ottenuti. Nella parte sinistra della figura sono riportate le accessioni riunite in ogni Gruppo con le loro corrispondenti medie e il relativo range di variabilità.

Silvia Bellato



L'analisi cluster, basata sulle distanze Euclidee, ha permesso di separare 150 genotipi di avena in 10 gruppi che presentavano due o più sottogruppi (Figura 1). Nella parte sinistra della Figura 1 sono riportate le accessioni di avena presenti in ogni gruppo, il valore medio e il *range* di variazione tra  $\beta$ -glucano totale e la % di solubile/totale. I gruppi con i valori medi più elevati per il  $\beta$ -glucano totale (>6% s.s.) (gruppi 1, 6 e 8) sono composti da accessioni appartenenti alle specie *A. strigosa*, *A. hirtula*, *A. fatua*, *A. wiestii* e *A. damascena*. Di particolare interesse sono stati considerati i gruppi 8 e 6, caratterizzati anche da alte % di frazione solubile (80.3 e 76.9 %).

Gli alti contenuti in  $\beta$ -glucano evidenziati nelle specie "wild", fanno ipotizzare il loro utilizzo come fonte di alleli per questo tratto nel miglioramento genetico (Welch et al., 2000).

### 1.2 Influenza del genotipo e dell'ambiente sul contenuto in $\beta$ -glucano totale e solubile

Come descritto precedentemente, entro questa serie di prove agronomiche condotte in Europa in tre località per due anni consecutivi, per un totale di cinque ambienti, sono state inserite 11 varietà standard in prove replicate. I dati relativi a questo materiale sono stati utili per valutare l'influenza del genotipo e dell'ambiente sull'accumulo di  $\beta$ -glucano.

L'analisi della varianza, riportata nella Tabella 2, mostra che tutti i fattori considerati, località, genotipo e le loro interazioni, hanno avuto un'influenza statisticamente significativa sia sul  $\beta$ -glucano totale che sulla frazione solubile, permettendo di rilevare che il genotipo ha avuto l'impatto maggiore sulla varianza totale.

	$\beta$ -glucano totale		$\beta$ -glucano solubile	
	GL	Quadrati medi	GL	Quadrati medi
Ambiente	4	0.859**	4	1.419**
Errore	12	0.04	12	0.06
Genotipo	10	2.075**	6	3.148**
A x G	40	0.376**	24	0.190**
Errore	150	0.04	90	0.07

GL = Gradi di Libertà; \*\*  $p \leq 0.01$

**Tabella 2.** Analisi della varianza per il  $\beta$ -glucano totale e solubile nelle cultivars standard.

Nella Figura 2A i cinque ambienti considerati sono confrontati graficamente utilizzando i box-plots, che presentano la mediana del  $\beta$ -glucano totale e solubile e la variabilità osservata in

Silvia Bellato

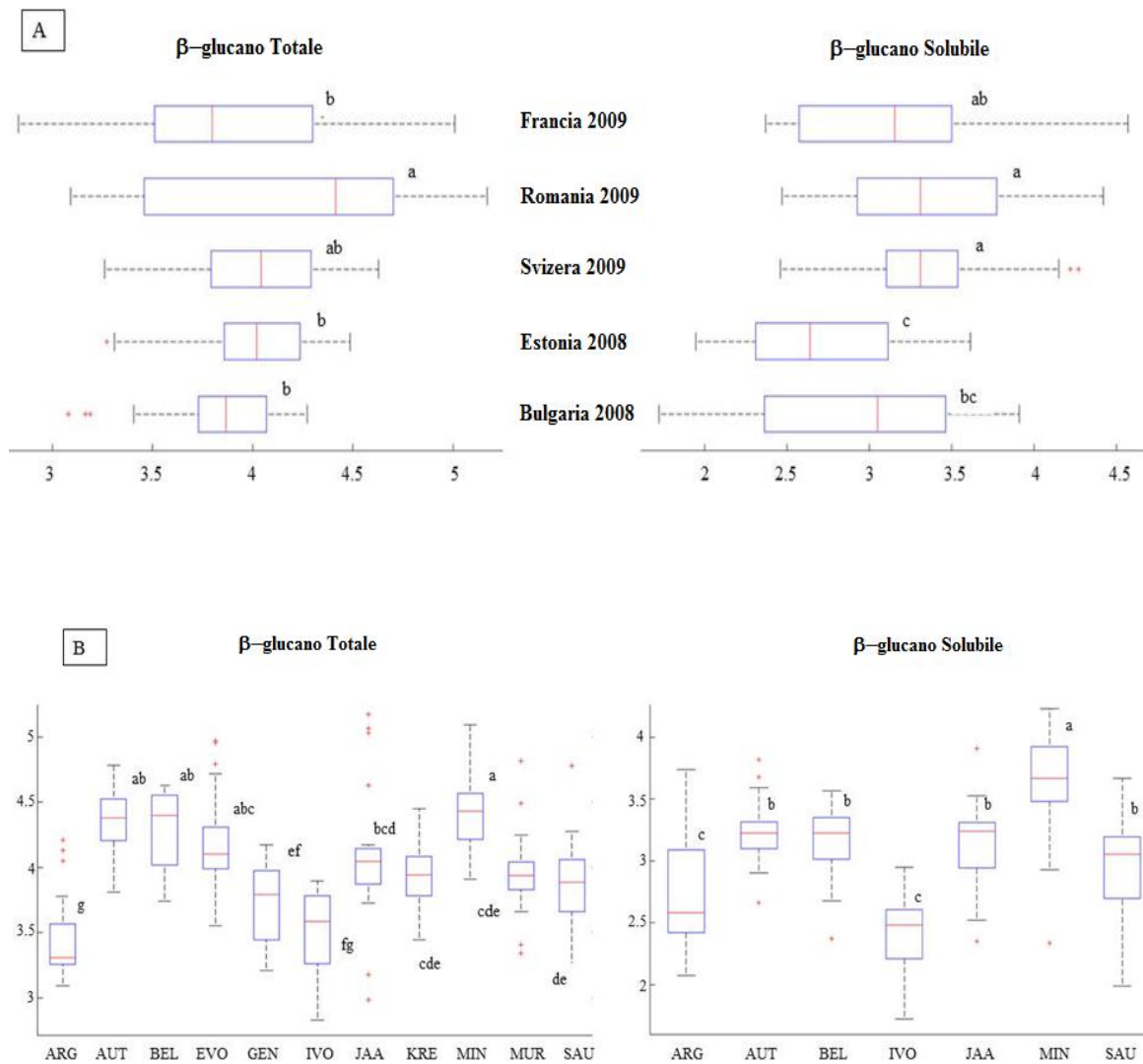
ogni località in relazione alle cultivars considerate. Un box plot compresso rappresenta un ambiente in cui si è osservato un più uniforme comportamento delle varietà per quanto riguarda l'abilità nell'accumulare  $\beta$ -glucano; d'altra parte un box plot di forma più allungata (come per esempio Romania 2009) indica una più ampia variabilità per questo tratto. La significatività delle differenze tra diversi ambienti è stata testata mediante il test di Duncan. I dati presentati permettono di ipotizzare che rispetto al 2010 le condizioni climatiche del 2009 potrebbero essere state più favorevoli per l'accumulo di  $\beta$ -glucano. Le due località in cui l'avena è stata coltivata nel 2008 hanno mostrato caratteristiche climatiche opposte: la Bulgaria ha registrato la temperatura media più alta durante la stagione di crescita ed il minore quantitativo di pioggia (176 mm), mentre l'Estonia la più bassa temperatura e le più abbondanti precipitazioni (381 mm). La temperatura media registrata in Romania e Svezia nel 2009 sono state nella media, mentre le precipitazioni registrate in Romania sono state le più alte tra tutte le località (397 mm), dovute a forti piogge e venti durante il mese di giugno, in Svezia invece sono state registrate precipitazioni totali di 233 mm. Infine, in Francia, la stagione è stata più mite, con 355 mm di precipitazioni.

Come rappresentato nella Figura 2B le cultivar analizzate si sono dimostrate abbastanza ben differenziate. Alcune varietà (Mina, Auteuil e Belinda) presentano i valori più elevati sia per il  $\beta$ -glucano totale che per la frazione solubile.

Il ruolo dei fattori climatici, in particolare temperatura e disponibilità di acqua, sull'accumulo di queste componenti delle granella dei cereali è stato discusso in una review da Tiwari e Cummins (2009). Inoltre in alcuni studi è stato osservato che una ridotta disponibilità di acqua durante il ciclo di crescita della pianta determina una più elevata concentrazione di  $\beta$ -glucano totale nella granella (Brunner e Freed, 1994; Peterson, 1991). Doehlert et al. (2001) riportano un risultato opposto, infatti in questo lavoro il  $\beta$ -glucano sembra correlato positivamente con elevate precipitazioni e temperature durante il periodo di maturazione della granella.

Dai dati del presente studio emerge che un'importante fonte di variabilità è dovuta all'interazione del genotipo con l'ambiente; inoltre dalle analisi effettuate si rileva che negli ambienti caratterizzati da medie temperature e quantità di pioggia ritenute sufficienti (nell'intervallo tra 233 e 397 mm) la granella di avena presenta i più elevati contenuti in  $\beta$ -glucano.

Silvia Bellato



**Figura 2.** Box-plots del  $\beta$ -glucano totale e solubile (% s.s.) che presentano la variabilità riscontrata nelle cinque località considerate nella prova (A) e nelle cultivars standard (B). La linea che attraversa il centro del box rappresenta il valore della mediana; il box inizia al 25° percentile e termina al 75° percentile dell'insieme dei dati. Lettere differenti indicano che le medie sono significativamente diverse una dall'altra ( $p \leq 0.05$ ).

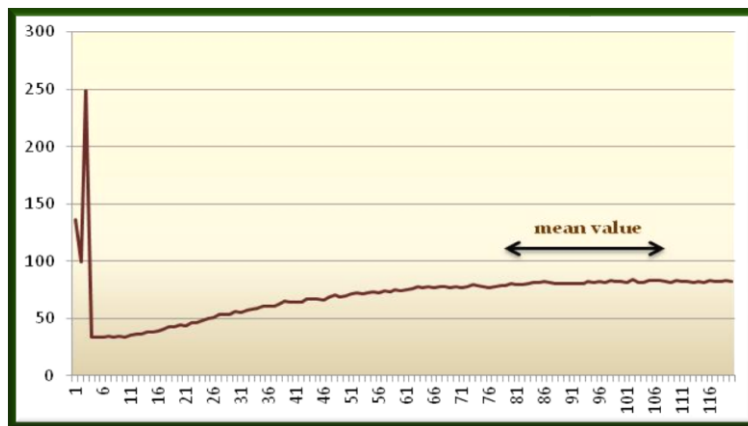
### 1.3 Variabilità della viscosità apparente della farina di avena associata a fattori genetici ed ambientali

Come precedentemente discusso, gli effetti fisiologici delle fibre solubili sono strettamente associati con la loro capacità di formare soluzioni altamente viscosi a bassa concentrazione. E' stato anche illustrato come molti fattori intrinseci ed estrinseci possono determinare importanti variazioni nelle proprietà fisico-chimiche della farina di avena.

Nell'ambito di questa ricerca la variabilità riscontrata nella viscosità della farina è stata messa in relazione con fattori genetici e ambientali, verificando inoltre il ruolo del contenuto e

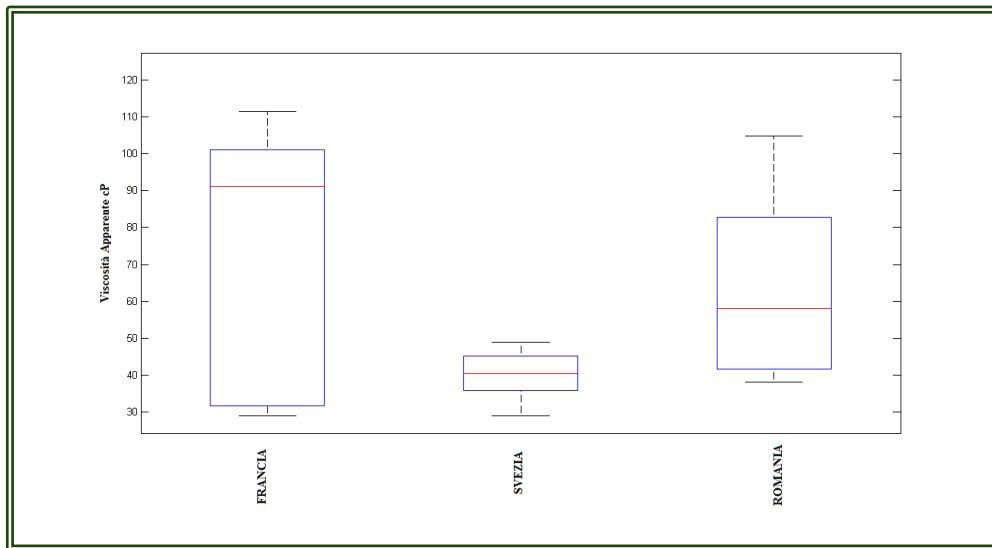
Silvia Bellato

della composizione del  $\beta$ -glucano sulla viscosità. In questo studio la viscosità è stata misurata con il “Rapid Visco Analyzer” (RVA) in funzione della temperatura e del tempo di mescolamento, seguendo le indicazioni di Chernyshova et al. (2007). Una tipica curva è rappresentata nella Figura 3. Il profilo, cioè la durata dell’analisi e la temperatura, è stato scelto per massimizzare la solubilizzazione del  $\beta$ -glucano in un breve periodo, evitando allo stesso tempo il contributo derivante dalla gelatinizzazione dell’amido. Infatti alla temperatura scelta (55°C) l’amido non contribuisce alla viscosità.



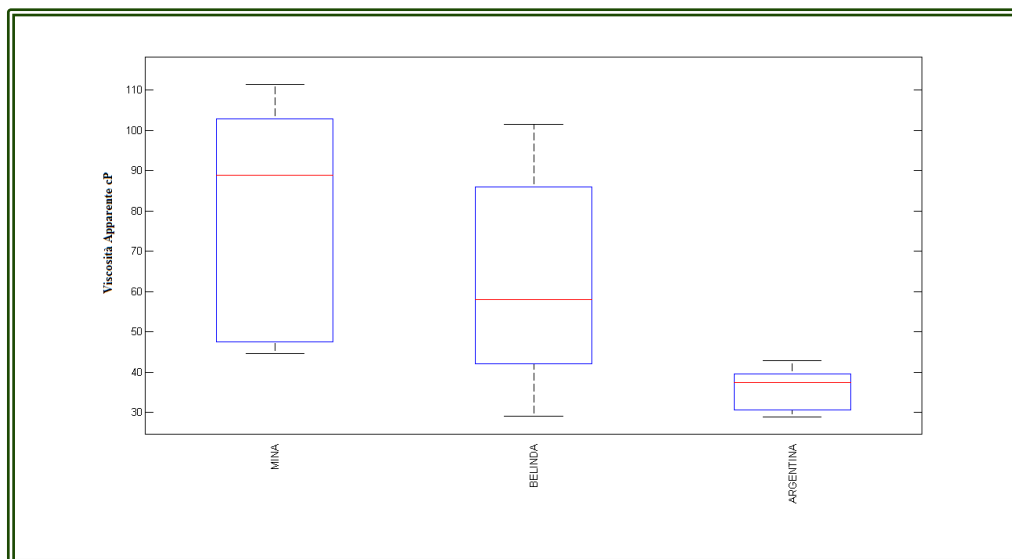
**Figura 3.** Curva della viscosità apparente misurata ed espressa in cP. Il dato riportato sarà la viscosità media da 5 a 7 minuti sulla curva (freccia).

Entro il progetto “AVEQ” è stato anche possibile analizzare il valore della viscosità apparente su tre varietà di avena ottenute da tre differenti prove sperimentali condotte nel 2009 in tre ambienti: Nord (Svezia), Centro (Francia) e Sud Europa (Romania). Nelle figure 4 e 5 gli ambienti di coltivazione e le tre varietà sono confrontate graficamente attraverso dei box-plots. I campioni coltivati in Francia mostrano il più alto valore medio di viscosità apparente (75.5 cP) e allo stesso tempo la maggiore variabilità (Figura 4), che significa, in queste condizioni ambientali, la presenza di una forte interazione genotipo x ambiente. Il materiale coltivato in Svezia, d’altra parte, mostra il più basso valore medio e una ridotta variabilità per questo tratto.



**Figura 4.** Variabilità della viscosità apparente (AV) della farina di avena entro e tra gli ambienti considerati. La linea che attraversa il centro del box rappresenta il valore della mediana; il box inizia al 25° percentile e termina al 75° percentile dell'insieme dei dati.

Le tre cultivar sono piuttosto ben differenziate in termini di valori di viscosità apparente (Figura 5). Mina (avena nuda) e Argentina hanno i valori più alto e più basso, rispettivamente, per la viscosità apparente della farina, e anche la maggiore e minore variazione. In questo set di campioni di avena è stata evidenziata una correlazione significativa tra quantità di  $\beta$ -glucano totale e viscosità apparente ( $r=0.680^*$ ).

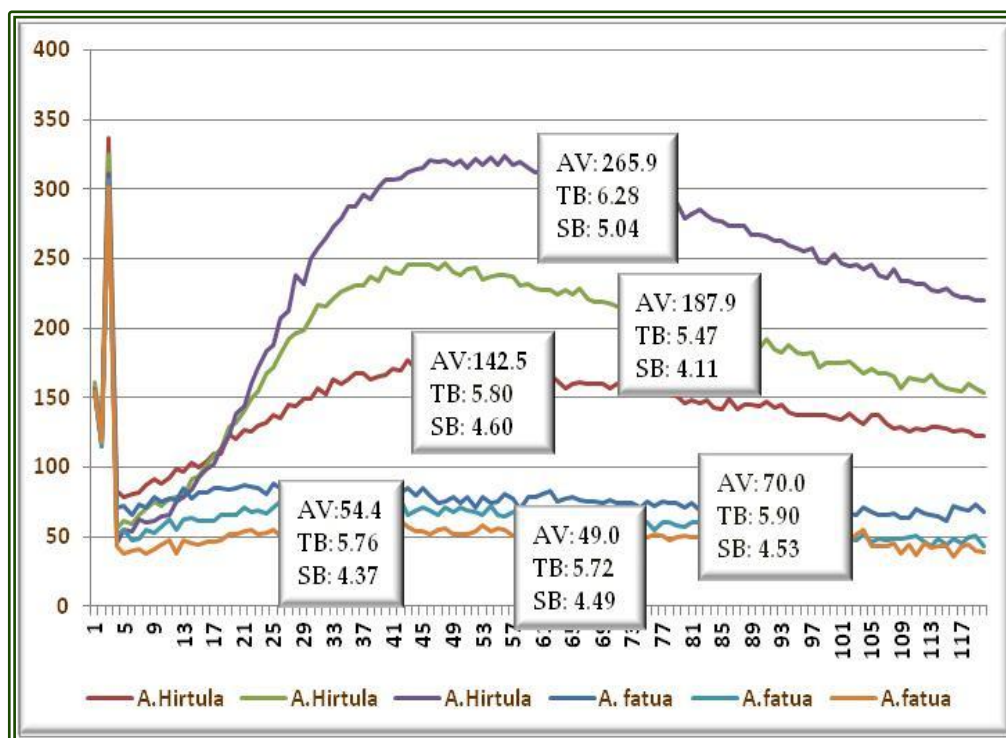


**Figura 5.** Variabilità della viscosità apparente (AV) della farina di avena entro e tra le varietà di avena analizzate. La linea che attraversa il centro del box rappresenta il valore della mediana; il box inizia al 25° percentile e termina al 75° percentile dell'insieme dei dati.

Silvia Bellato

Redaelli et al. (2012) hanno analizzato una grande collezione di germoplasma di avena, incluse alcune specie mai analizzate prima, e che sono state descritte dal punto di vista nutrizionale, verificando la variabilità del contenuto di  $\beta$ -glucano. Tra le specie selvatiche con un alto contenuto di  $\beta$ -glucano, sei accessioni sono state selezionate per una successiva caratterizzazione, tre delle quali diploidi, *A. hirtula* e tre esaploidi, *A. fatua*. Nella Figura 6 è riportata la viscosità apparente delle loro farine. Le accessioni di *A. hirtula* combinano un alto contenuto di  $\beta$ -glucano con alti valori di viscosità apparente, mentre le accessioni *A. fatua* producono una curva diversa, caratterizzata da bassi valori di viscosità apparente. Questi risultati suggeriscono la presenza, nelle specie diploidi di avena selvatica di fattori genetici potenzialmente favorevoli per incrementare con il miglioramento genetico la qualità nutrizionale delle cultivars commerciali.

Inoltre questi dati confermano che oltre alle caratteristiche del  $\beta$ -glucano (contenuto, struttura e peso molecolare) anche altri costituenti della farina di avena ne influenzano la viscosità e che, per un determinato contenuto in  $\beta$ -glucano, alcune linee di avena possono mostrare differenti livelli di viscosità (Chernyshova et al. 2007). Questi risultati sono anche in accordo con quelli riferiti da Liu e White (2011) e confermano l'importanza di valutare la viscosità della farina di avena per una stima completa del potenziale nutrizionale genetico nei programmi di breeding.



**Figura 6.** Variazioni nella Viscosità Apparente (AV) tra diversi genotipi di specie selvatiche di avena, e delle percentuali di  $\beta$ -glucano totale (TB) e solubile (SB).

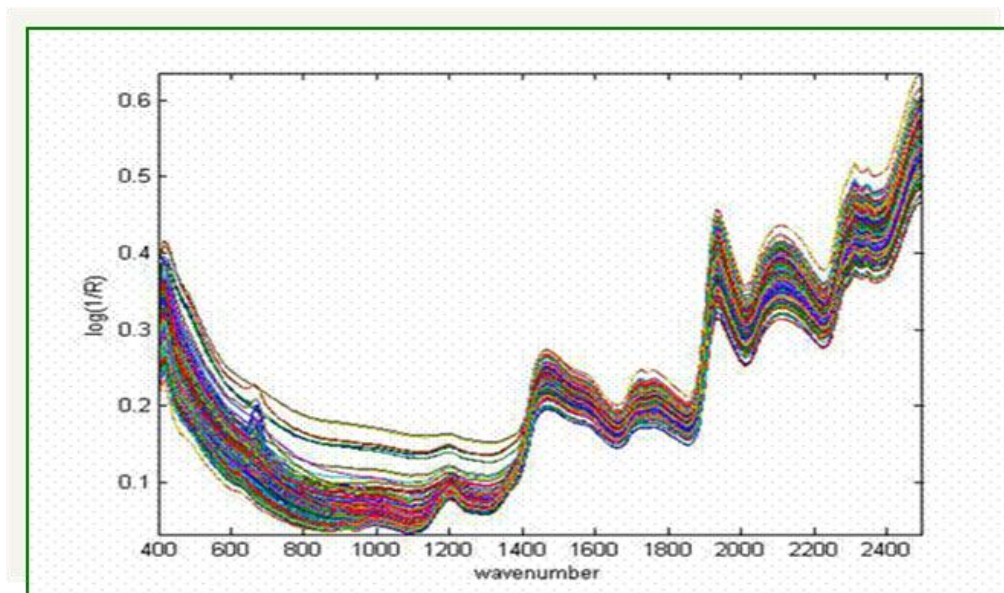
Silvia Bellato

## 2. Metodi di analisi rapidi ed accurati: la spettroscopia nel vicino infrarosso

Seguendo l'obiettivo di sviluppare un metodo rapido ed accurato per la determinazione del  $\beta$ -glucano nella granella e nello sfarinato di avena è stata utilizzata la spettroscopia NIR/NIT, ormai molto diffusa nel settore agroalimentare, in particolare nell'analisi dei cereali, sia su campioni di sfarinato a granulometria fine che su campioni a granella intera.

### 2.1 Modelli predittivi per l'avena nuda

Sono stati analizzati 166 campioni di avena nuda, che includono 10 varietà e 2 linee, coltivate a Roma per tre anni consecutivi. L'analisi spettroscopica è stata effettuata secondo tre distinte modalità, in riflettanza sullo sfarinato e in trasmissione sia sullo sfarinato che sulla granella. Nella Figura 7 sono presentati, come esempio, gli spettri ottenuti da campioni di sfarinato di avena.



**Figura 7.** Esempi di spettri NIR (sfarinato di avena) di campioni utilizzati in calibrazione.

I risultati sperimentali registrati su questi campioni sono quindi stati organizzati in una matrice di dati per poter procedere con la successiva elaborazione chemiometrica e costruire il modello di calibrazione. A tale scopo, è stato necessario dividere l'insieme delle misure in due distinti set di dati: il training (o calibration) set, ovvero le misure utilizzate per costruire il modello matematico, ed il test set, ovvero una serie di misure che servono a validare il modello standardizzato sui campioni del training set. La scelta di quali misure includere in ciascuno di questi due sets è di particolare importanza ed è opportuno che essa venga fatta sulla base di

Silvia Bellato

qualche criterio “intelligente”. Tra i vari proposti in letteratura, in questo lavoro si è scelto di utilizzare il metodo di Kennard-Stone: questo algoritmo prevede che il training set includa un ampio *range* di misure. In questo modo è anche possibile avere un controllo di eventuali dati anomali (outliers) che, in caso, verrebbero tutti a trovarsi nel set di calibrazione, permettendo così di utilizzare al meglio le statistiche robuste per migliorare i risultati. I campioni da inserire nel test set vengono scelti dal programma in maniera random entro la variabilità riscontrata.

Si è proceduto con la successiva analisi chemiometrica. In particolare, sono stati considerati diversi tipi di pretrattamento (derivata I e II, SNV, detrending e loro combinazioni) e la possibilità di operare la calibrazione attraverso il metodo PLS sia in maniera “classica” che secondo un algoritmo robusto, che permettesse di ottenere risultati migliori in presenza di dati anomali. La scelta del metodo migliore è stata effettuata sulla base dei risultati in cross-validation. La capacità predittiva per il  $\beta$ -glucano totale è stata quindi valutata applicando i modelli così messi a punto su un validation set esterno.

I modelli valutati hanno portato a risultati soddisfacenti in termini di capacità predittiva non solo per quanto riguarda le stime sul training set (RMSEC, ovvero errore quadratico medio sulla predizione dei valori del set di calibrazione, e RMSECV, cioè errore quadratico medio risultante dalla procedura di cross-validazione, sempre fatta sui campioni del calibration set), ma anche per quanto riguarda la previsione del contenuto di  $\beta$ -glucano (RMSEP, scarto quadratico medio in predizione, ovvero su campioni non utilizzati per la costruzione del modello) (Tabella 3).

<b><math>\beta</math>-glucano</b>				
<b>Metodo</b>	<b>N° LV</b>	<b>RMSEC</b>	<b>RMSECV</b>	<b>RMSEP</b>
NIR sfarinato	<b>9</b>	<b>0.1207</b>	<b>0.2730</b>	<b>0.2410</b>
NIT sfarinato	<b>5</b>	<b>0.2018</b>	<b>0.2918</b>	<b>0.3840</b>
NIT granella	<b>8</b>	<b>0.1832</b>	<b>0.3402</b>	<b>0.5426</b>

**Tabella 3.** Confronto tra i tre metodi NIR

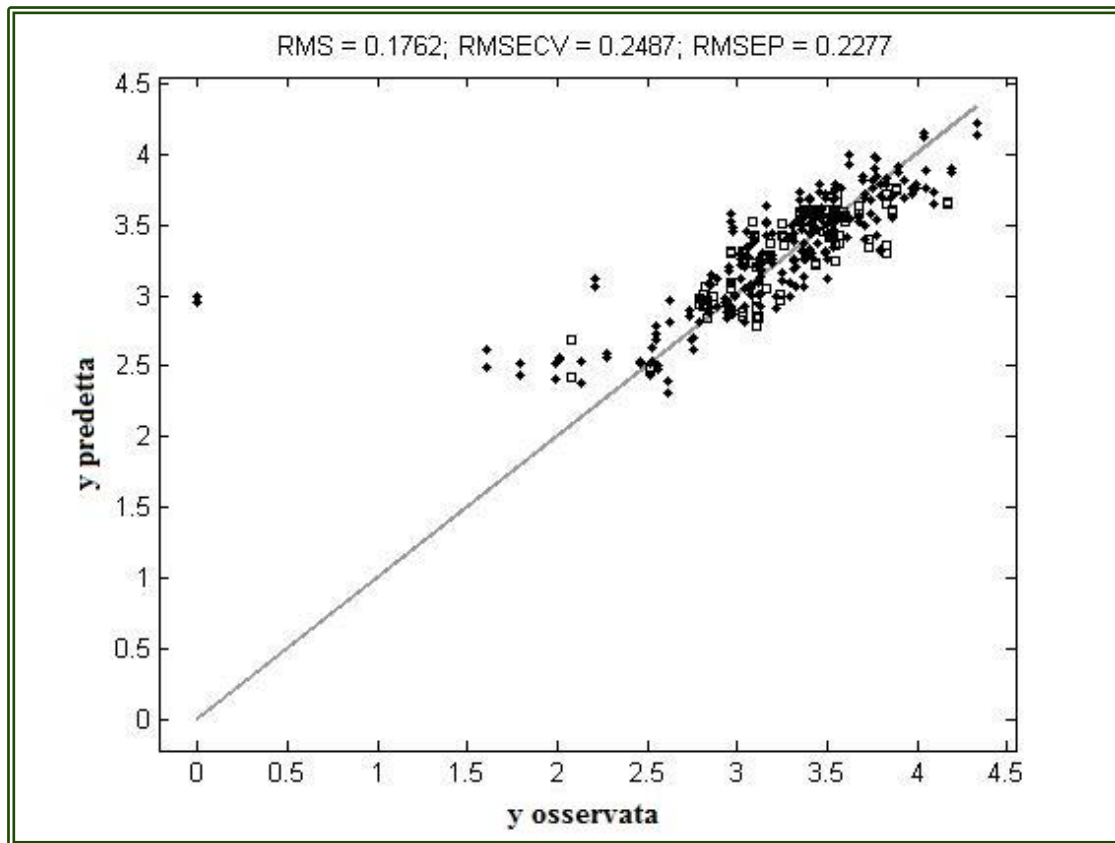
Per quanto riguarda l'analisi del tipo di pretrattamento più adatto, è stato osservato come la derivata I sia stata quella che ha dato il risultato migliore in termini di previsione (RMSEP = 0.22389). La bontà di questo modello può essere anche visualizzata graficamente in Figura 8, dove è riportato il grafico valori osservati vs valori predetti sia per il training che per il test set.

Silvia Bellato



Come si può vedere dalla figura, nonostante la presenza di evidenti dati anomali, il modello calcolato attraverso l'algoritmo robusto non ne risulta significativamente affetto.

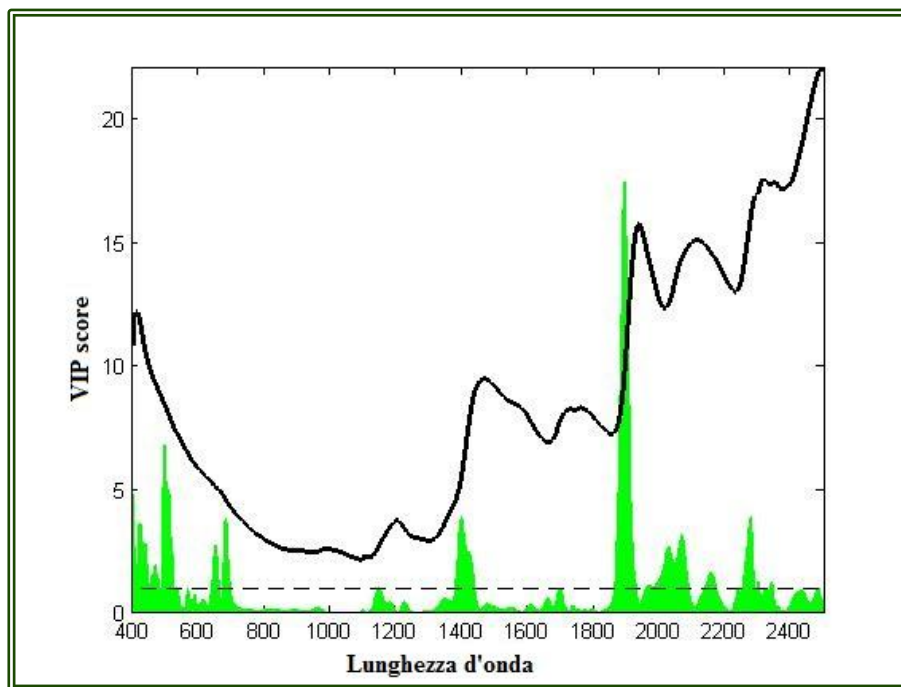
Se invece si considera l'insieme dei risultati (training e test set, e numero di misure non considerate come anomale dal modello robusto), il miglior compromesso è dato dalla combinazione derivata I + SNV.



**Figura 8.** Retta dei valori osservati *vs* predetti per il miglior modello PLS relativo all'analisi NIR dello sfarinato. Sono riportati sia i valori del training (•) che del test (□) set.

Per entrambi questi pretrattamenti, è possibile interpretare i risultati ottenuti in termini di quali variabili (lunghezze d'onda) siano maggiormente correlate con il contenuto di  $\beta$ -glucano nei campioni. Questa interpretazione è possibile attraverso l'analisi dei valori dei coefficienti di regressione del modello e di un indice caratteristico dei modelli PLS chiamato VIP (Variable Importance in Projection), che da conto di quanto ciascuna variabile contribuisca alla definizione del modello stesso (variabili con VIP maggiore di 1 sono considerate essere statisticamente significative). Nella Figura 9 si osserva che le regioni spettrali maggiormente correlate con la quantità di  $\beta$ -glucano sono quelle comprese tra i 400 e gli 800 nm, quella attorno a 1440 nm e quella tra i 1900 e i 2350 nm, cioè quelle che interessano i singoli, doppi e tripli legami C-C.

Silvia Bellato



**Figura 9.** VIP (Variable Importance of Projection) del modello PLS robusto costruito sui dati NIR.

Questo studio ha permesso di dimostrare che la spettroscopia nel vicino infrarosso può essere utilizzata per selezionare nuovi genotipi di avena nuda anche sulla base della composizione del  $\beta$ -glucano, consentendo così di predirne con buona accuratezza il valore nutrizionale e tecnologico. I dati qui illustrati hanno evidenziato che, come dimostrato da altri autori per l'orzo, anche per l'avena nuda l'analisi in riflettanza, applicabile su quantitativi anche molto limitati di sfarinato, fornisce risultati migliori in termini di accuratezza e precisione rispetto all'analisi in trasmissione, sia nel caso del  $\beta$ -glucano totale che per la frazione di  $\beta$ -glucano solubile.

## ***2.2 Modelli predittivi per differenti tipologie di sfarinato di avena***

Sulla base dei risultati del lavoro discusso nel paragrafo 2.1, in particolare per l'uso di trattamenti matematici e per le lunghezze d'onda identificate come maggiormente correlate con i parametri studiati, un analogo lavoro di sviluppo di calibrazione per il contenuto in  $\beta$ -glucano totale e per la frazione solubile, valida sia per la granella di avena vestita privata delle glume, che per varietà nude, è stato successivamente realizzato con la spettroscopia NIR applicata agli sfarinati a granulometria fine. In questo caso sono stati utilizzati per la calibrazione e la validazione, un totale di circa 350 campioni di avena, analizzati per il  $\beta$ -glucano totale e solubile con i metodi analitici di riferimento. I dati statistici presentati in Tabella 4 mostrano bassi valori standard (0.208 e 0.234, rispettivamente per il  $\beta$ -glucano totale

Silvia Bellato

e solubile). I valori del RPD (rapporto tra deviazione standard e errore standard di predizione (3.99 e 3.07 rispettivamente per il  $\beta$ -glucano totale e solubile) indicano che i due parametri possono essere rapidamente stimati mediante la spettroscopia NIRS con soddisfacente accuratezza, permettendo la selezione dell'avena anche per questo tratto.

Componenti	N	Media	Range di variabilità	SD	RSQ	SECV
$\beta$ -glucano Totale	290	2.68	2.17-5.30	0.83	0.91	0.208
$\beta$ -glucano Solubile	302	3.65	1.23-4.18	0.72	0.79	0.234

N = numero di campioni in calibrazione; SD = Deviazione standard; RSQ = coefficienti di determinazione per il set di validazione; SECV = errore standard in *cross validation*.

**Tabella 4.** Statistica NIR ottenuta dai modelli di calibrazione sviluppati per il  $\beta$ -glucano totale e solubile (% s.s.) nel seme privato delle glume di avene vestite e nel seme di avene nude.

### 3 Fattori tecnologici per valorizzare il potenziale nutrizionale dell'avena

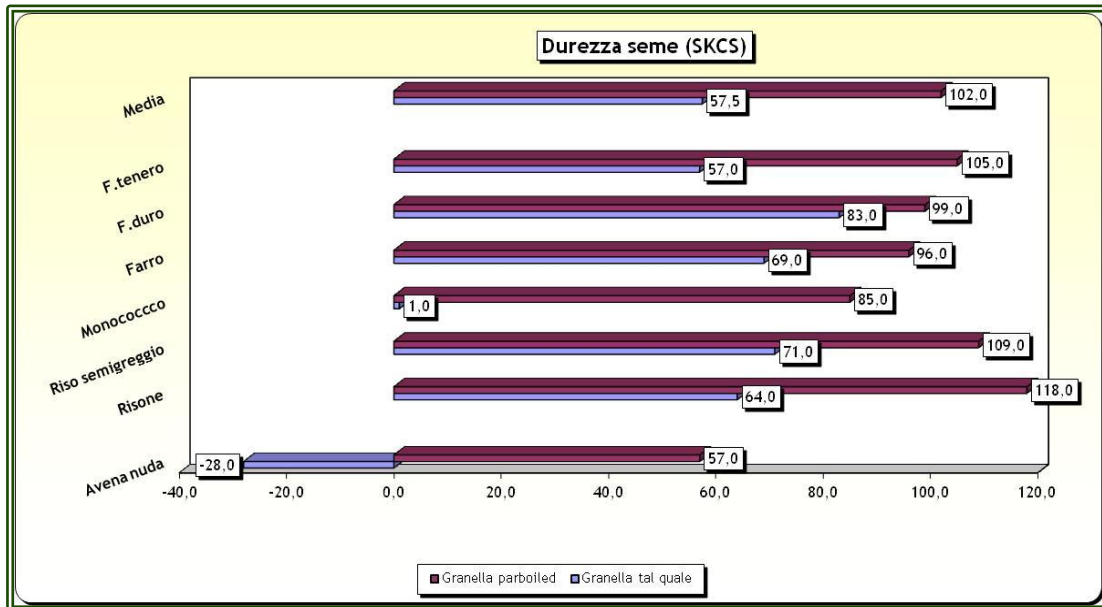
#### **3.1 Variazioni nelle caratteristiche del seme di avena e di altri cereali indotte dal processo di parboilizzazione**

Seguendo l'obiettivo di incrementare nell'alimentazione umana l'uso di semi di cereali come *whole grain* e cercando di salvaguardarne e/o di enfatizzarne la potenzialità nutrizionale con appropriati processi tecnologici, è stato valutato l'effetto del trattamento di parboilizzazione sulle proprietà chimico-fisiche della granella di avena, e messa a confronto con quelle di altre cinque specie di cereali che, per la ricchezza in specifici composti bioattivi, sono di particolare interesse per il consumatore e per l'industria alimentare.

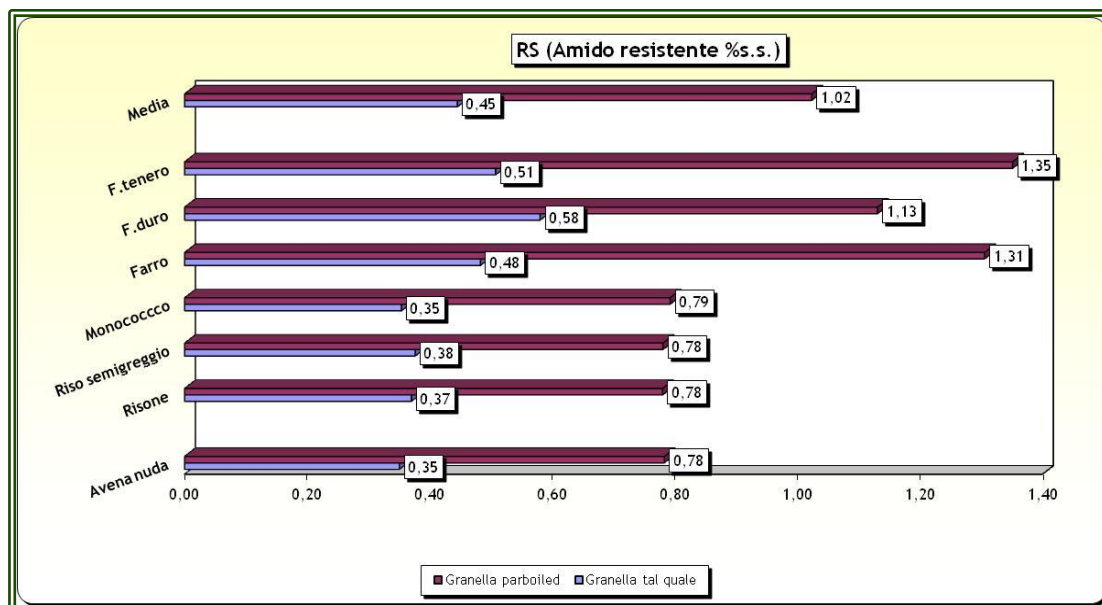
La discussione dei dati è basata sui valori medi riscontrati. I risultati hanno evidenziato una elevata variabilità tra i diversi cereali non trattati: in particolare, il contenuto in TDF (% s.s.) oscilla tra 1.93 nel risone decorticato e 12.46 in avena nuda (Figura 12). E' stato anche determinato il contenuto in  $\beta$ -glucano, e come atteso, fra i cereali considerati sono stati evidenziati contenuti interessanti solo in avena (4.31 % s.s.), ma non sono state rilevate modifiche indotte dal trattamento (dati non riportati). Come dimostrato anche da altri autori per il riso ed il monococco, il trattamento di parboilizzazione causa un drastico aumento in tutti i cereali esaminati della durezza delle cariossidi (Figura 10) (in media, 57.5 vs 102.0 unità di SKCS, granella tal quale vs parboilizzata) e della quota di amido resistente (Figura 11) (in media, 0.45 vs 1.02 % s.s.), in quest'ultimo caso tale aumento è di particolare entità nel f.

Silvia Bellato

tenero e duro e nel farro, che dopo la parboilizzazione presentano contenuti superiori all'1 % s.s. Le caratteristiche intrinseche di questi cereali verosimilmente permettono durante il processo di parboilizzazione la trasformazione dei granuli di amido dal tipico pattern di tipo A nella forma resistente attraverso la riorganizzazione delle catene di amilosio nel tipo B, caratteristico della forma retrogradata (Berry et al., 1988). Un altro dato importante evidenziato è stato il significativo incremento di TDF nel risone e nei frumenti (Figura 12).



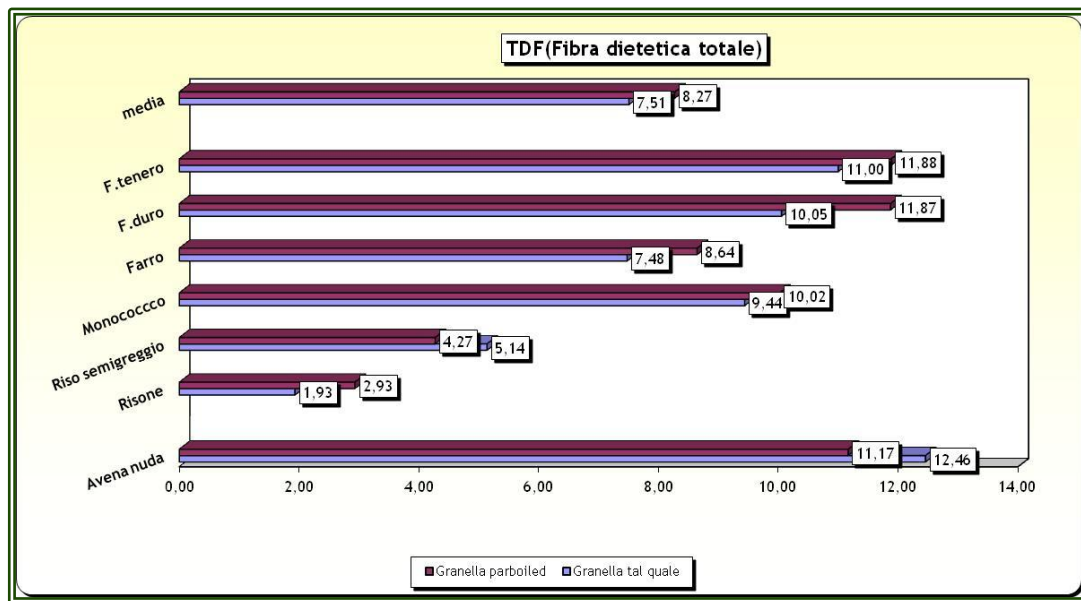
**Figura 10.** Durezza della cariosside (SKCS) dei cereali esaminati messa a confronto con quella dell'avena e media di tutti i valori.



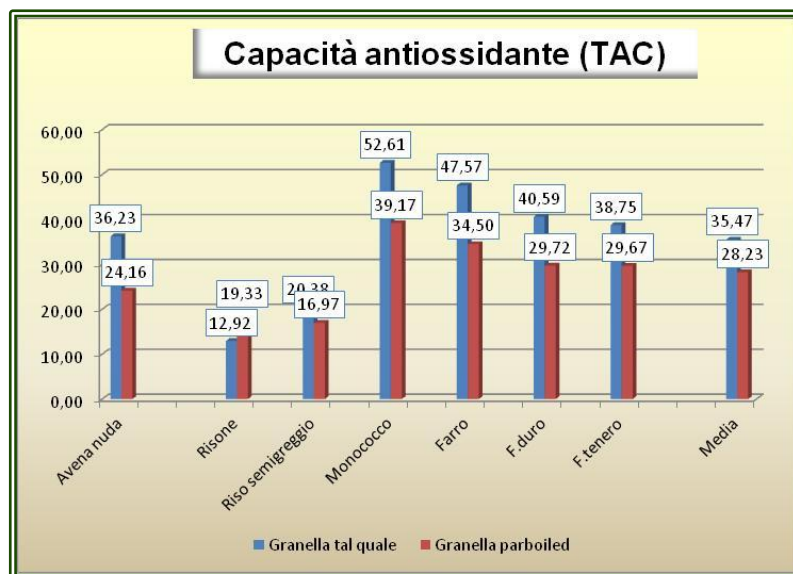
**Figura 11.** Amido resistente (RS) dei cereali esaminati messa a confronto con quella dell'avena e media di tutti i valori.

Silvia Bellato

E' stata analizzata anche la capacità antiossidante totale (TAC) (Figura 13) sempre come confronto tra avena e gli altri cereali e, per ogni cereale, tra campione tal quale vs parboilizzato. Ampia è la variabilità riscontrata: il monococco presenta i valori più elevati (52.61 e 39.17 mmoli/kg, rispettivamente tal quale vs parboilizzato). In generale, nel materiale parboilizzato si evidenzia una significativa diminuzione della TAC, verosimilmente per gli effetti negativi del calore sulle diverse componenti antiossidanti (Hidalgo et al., 2008); solo il risone, decorticato dopo il trattamento di parboilizzazione, appare mantenere la sua capacità antiossidante, risultata la più bassa tra i cereali esaminati



**Figura 12.** Fibra dietetica totale (TDF) dei cereali esaminati messa a confronto con quella dell'avena e media di tutti i valori.



**Figura 13.** Capacità antiossidante (TAC) dei cereali esaminati messa a confronto con quella dell'avena e media di tutti i valori.

Silvia Bellato

I dati presentati permettono di evidenziare tra la granella dei cereali considerati una notevole variabilità nella potenzialità nutrizionale e indicano che il processo di parboilizzazione può modificarne le proprietà chimico-fisiche, nonché la loro capacità antiossidante totale, le cui variazioni appaiono dipendere dal tipo di componenti antiossidanti presenti. Nella prospettiva della loro utilizzazione diretta come semi appare di particolare interesse nutrizionale il significativo incremento della frazione di amido resistente evidenziato in tutti le specie trattate ma particolarmente nel frumento in accordo con quanto rilevato anche durante il processo di cottura degli spaghetti (Sgrulletta et al., 2005).

Questi risultati sono in accordo con i dati di Hidalgo et al. (2008) su monococco che osservano anche una redistribuzione di alcune molecole di elevato valore dietetico e nutrizionale.

### ***3.2 Variazioni delle proprietà della farina di avena associate ai processi tecnologici, quali macinazione e parboilizzazione***

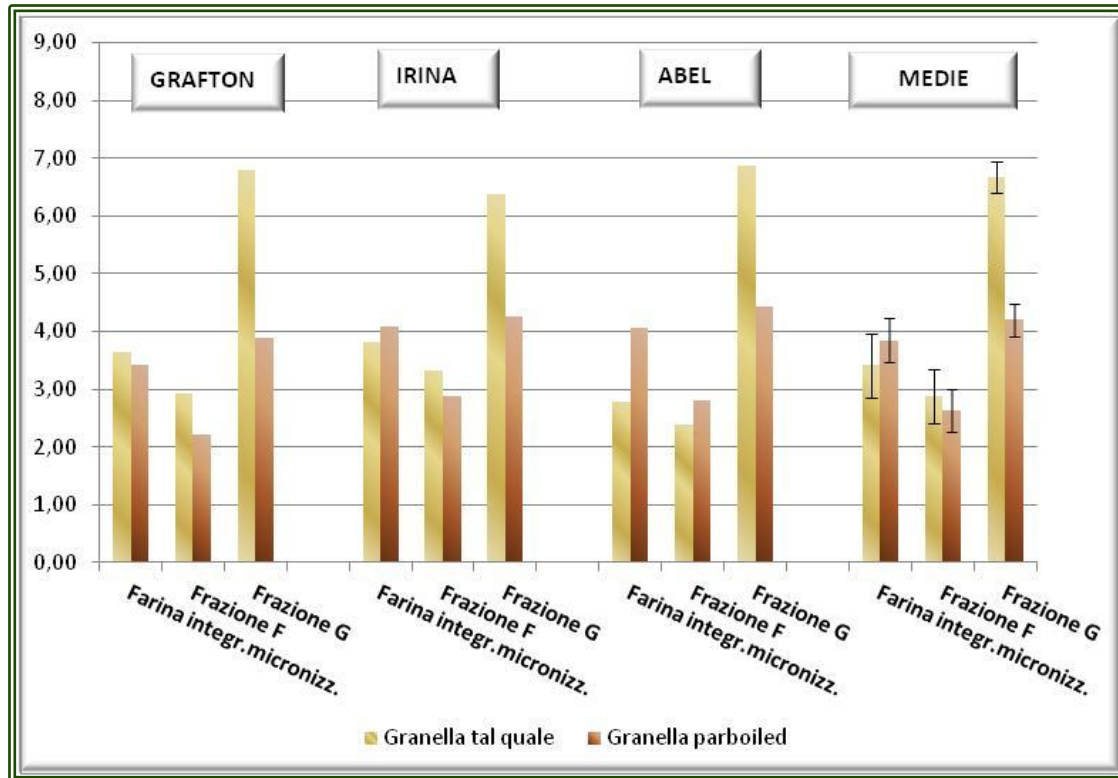
Tra i fattori che nella fase di trasformazione influenzano il potenziale nutrizionale dell'avena, è di importanza cruciale l'uso di tecnologie idonee quali sistemi di macinazione che consentano di contenere le variazioni nel potenziale nutrizionale della materia prima destinata alla produzione di alimenti. Con questo obiettivo tre varietà di avena nuda, Irina, Abel e Grafton, sono state utilizzate per aumentare il contenuto di  $\beta$ -glucano attraverso l'uso di sistemi di macinazione innovativi.

E' stato esaminato un sistema di micronizzazione e turboseparazione applicato alla granella di avena nuda. La farina ottenuta dalla micronizzazione (indicata come farina micronizzata intera) è stata successivamente separata ad aria (turboseparazione) in due frazioni: una frazione a granulometria grossolana (G) e una frazione a granulometria fine (F). Questo processo è stato applicato anche alla granella previamente parboilizzata per valutare in parallelo gli effetti di questo trattamento sulle proprietà della farina di avena. Le variazioni riscontrate nella farina per il contenuto di  $\beta$ -glucano totale e solubile sono riportate nelle figure 14 e 15, rispettivamente.

Le frazioni, G ed F, hanno mostrato contenuti e composizione diverse di  $\beta$ -glucano con ampie variazioni (45-50%). Il processo di parboilizzazione tende a ridurre la concentrazione, con l'eccezione del  $\beta$ -glucano solubile nella farina micronizzata, che non mostra variazioni

Silvia Bellato

significative attribuibili al trattamento. Si evidenzia come la frazione G della granella non processata presenti un'alta concentrazione di  $\beta$ -glucano; le variazioni osservate sono simili nelle varietà di avena nuda esaminate.

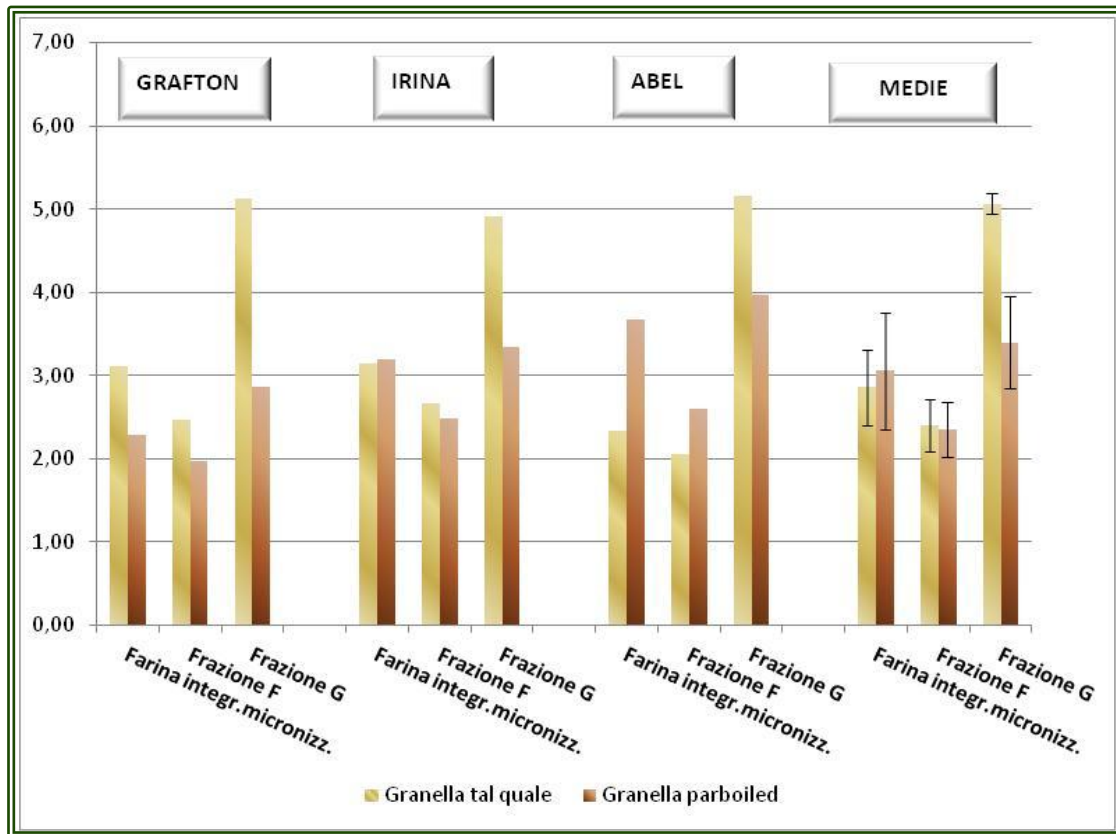


**Figura 14.** Variazione del contenuto in  $\beta$ -glucano totale nei prodotti ottenuti dai processi applicati (parboilizzazione, micronizzazione e turbo separazione) alla granella di tre varietà di avena a seme nudo.

La Figura 16 mostra le differenze osservate nei valori di viscosità apparente tra i materiali ottenuti dalla macinazione (micronizzazione e turboseparazione) della granella non processata e parboilizzata di due delle tre varietà di avena considerate. Si osservano, in media, variazioni che oscillano da 31.8 a 88.5 cP. In media, la frazione G mostra il valore più alto (valori medi: 43.3 e 116.3 cP per la granella non processata e parboilizzata, rispettivamente), ma risposte differenti sono state osservate tra le due varietà di avena nuda considerate.

Infatti per Grafton il valore di viscosità della frazione G della granella non trattata è più elevato (60.0 cP), mentre per Irina la frazione G della granella non trattata presenta il valore di AV più basso (20.0 cP). Come precedentemente discusso questo è un caso in cui la viscosità misurata non si correla con il contenuto in  $\beta$ -glucano, infatti la frazione G della granella non trattata presenta la più elevata concentrazione in  $\beta$ -glucano sia totale che solubile.

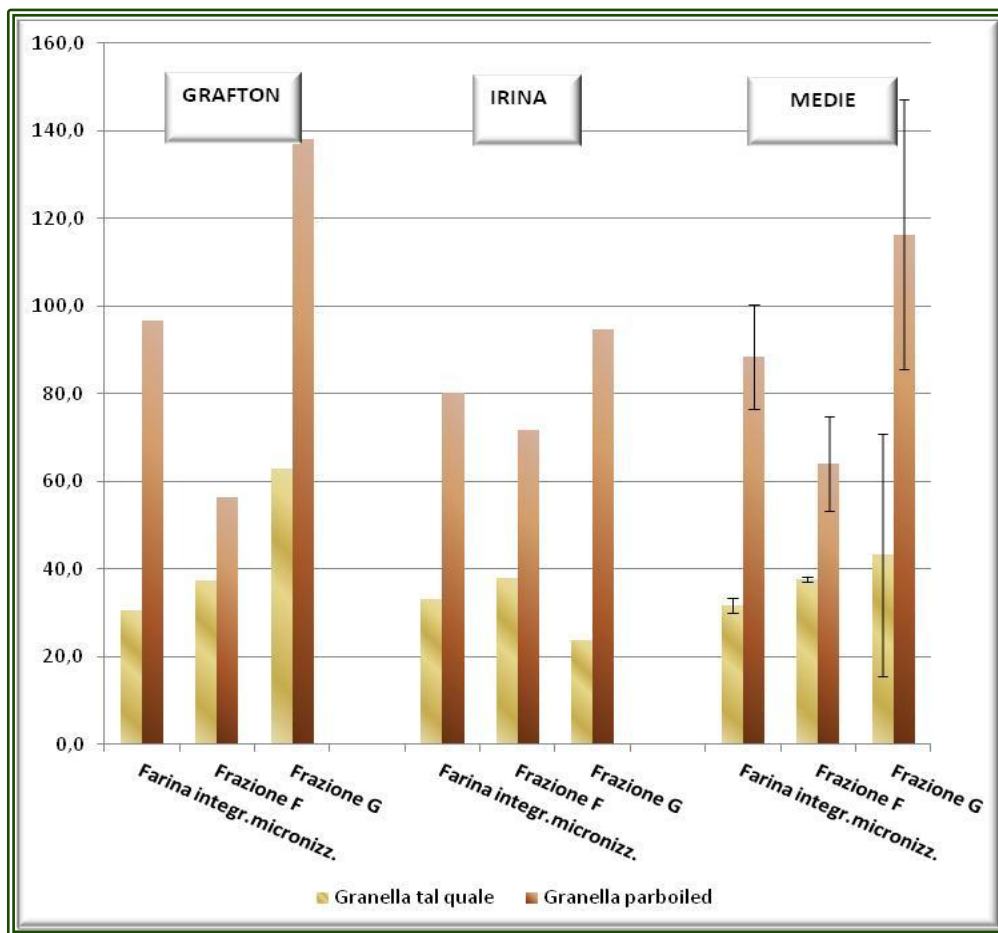
*Silvia Bellato*



**Figura 15.** Variazione del contenuto in  $\beta$ -glucano solubile nei prodotti ottenuti dai processi applicati (parboilizzazione, micronizzazione e turbo separazione) alla granella di tre varietà di avena a seme nudo.

In media, comunque, la granella parboilizzata mostra valori più elevati, anche se questo incremento non è accompagnato da un incremento della frazione solubile; in questo esperimento, quindi, il processo di parboilizzazione sembrerebbe avere un impatto positivo sugli effetti fisiologici del  $\beta$ -glucano; comunque considerando che sia il peso molecolare che l'estraibilità sono importanti componenti della sua attività fisiologica ulteriori indagini sono necessarie. Verosimilmente in accordo con El Khoury et al (2012), l'effetto dell'applicazione del processo di parboilizzazione potrebbe essere simile a quello che si ha nei prodotti tipo *porridge*, in cui si rilevano solo piccole variazioni nel peso molecolare del  $\beta$ -glucano.





**Figura 16.** Variazione di AV (Viscosità Apparente) nei prodotti ottenuti dai processi applicati (parboilizzazione, micronizzazione e turbo separazione) alla granella di due varietà di avena a seme nudo.

#### 4. Il processo di pastificazione

Entrando nel merito del prodotto proposto a base di avena, vari test (De Stefanis et al., 1993; Sgrulletta et al., 1994; Sgrulletta et al., 1995; Sgrulletta et al., 2001a; Sgrulletta et al., 2001b) hanno evidenziato come la granella di avena a seme nudo fosse più idonea alla trasformazione in alimenti per l'uomo che risultino gradevoli dal punto di vista organolettico, e meno onerosi per quanto riguarda gli aspetti tecnologici, proprio perché la granella a seme nudo può essere utilizzata integralmente evitando la fase di separazione delle glume

Nella fase di individuazione della tipologia di prodotto idonea per incrementare la disponibilità del  $\beta$ -glucano, l'interesse è stato indirizzato verso la pasta alimentare, cioè un alimento salutare di ampio consumo, rispondente alle abitudini socio-culturali, destinato a tutta la popolazione ed in un formato idoneo, così da avvantaggiare il più possibile la società con i benefici per la salute. In questo studio, come evidenziato precedentemente, sono state sottoposte a processo

*Silvia Bellato*

di pastificazione (pasta formato spaghetti) diverse formulazioni comprendenti semola di frumento duro miscelata con una frazione di farina ottenuta applicando il processo di micronizzazione e turbo separazione alla granella di tre varietà di avena nuda. Le relative paste sono state prodotte attraverso un processo di pastificazione tradizionale con diagramma di essiccamento a bassa temperatura. La fase di impasto ha richiesto particolare attenzione in relazione alla quantità di acqua da aggiungere per ottenere un impasto omogeneo. Variazioni significative nella quantità di acqua aggiunta sono state osservate per le formulazioni in cui era presente una quantità maggiore di frazione G ed F ottenuta dalla granella di avena. La fase di estrusione per la produzione di pasta lunga formato spaghetti, critica per le formulazioni con la frazione G, non ha presentato particolari problemi utilizzando la frazione F. In questo studio il potenziale nutrizionale, cioè i principali componenti considerati utili ai fini nutrizionali, è stato analizzato sia sul prodotto crudo che sul prodotto cotto e liofilizzato.

L'uso della frazione G per integrare la semola di frumento duro ha creato notevoli problemi nella fase di estrusione per tutte le formulazioni testate, al punto che non è stato possibile produrre le paste. I risultati qui presentati si riferiscono quindi alle paste ottenute dalle formulazioni realizzate con la frazione F. I risultati hanno permesso di evidenziare che la pasta integrata con la frazione F (frazione a granulometria più sottile) presenta una composizione nutrizionale qualitativamente superiore alla pasta di sola semola, come si può osservare dai dati riportati nella Tabella 5 e relativi al prodotto cotto.

In particolare, si rileva un regolare incremento dei composti considerati man mano che aumenta nella formulazione la frazione micronizzata ottenuta dalle avene; tale risultato era atteso ma comunque indicativo di un processo che non determina perdite di componenti. Di assoluto rilievo è l'aumento del contenuto in proteine, in TDF e in  $\beta$ -glucano sia totale che solubile e la parallela diminuzione dell'amido totale: l'integrazione con farina di avena sembra aumentare, quindi, il valore nutrizionale del prodotto sia per maggiore concentrazione di fibra totale e solubile che per diminuzione del valore calorico derivante dalla minore quantità di amido. Si rileva, inoltre, che la struttura dell'amido della farina di avena miscelata con semola di frumento duro, non viene modificata dal processo di cottura, infatti, le paste arricchite non mostrano variazioni nella quota di amido resistente. Questi andamenti si registrano regolarmente per tutte le varietà di avena utilizzate. Questo risultato è in accordo con precedenti studi (Mac Arthur e D'Appolonia, 1979; Weng e Wite, 1994; Zhou et al., 1998; Sgrulletta et al. 2005) ed è stato attribuito a specifiche proprietà fisico-chimiche dell'amido di avena che presenta alte concentrazioni di lipidi, verosimilmente in grado di formare complessi con l'amilosio.

Silvia Bellato

	Proteine totali	Amido totale	Fibra totale (TDF)	B-glucano totale	B-glucano solubile	Amido resistente
Pasta di semola di f.duro 100%	11,5	75,9	3,93	0,39	0,29	1,38
Pasta integrate con avena						
Grafton						
10%	12,1	77,0	4,37	0,49	0,32	0,87
20%	13,2	73,8	5,89	0,96	0,69	0,59
40%	15,1	69,8	8,80	1,40	1,01	0,41
Abel						
10%	12,0	76,1	5,84	0,70	0,50	
20%	13,4	74,2	7,79	0,93	0,66	0,53
40%	14,4	70,5	11,09	1,39	1,19	0,40
Irina						
10%	11,7	76,0	4,01	0,70	0,51	0,58
20%	11,9	73,1	5,57	0,97	0,58	
40%	12,1	69,6	8,19	1,85	1,28	0,45
media avene						
<b>10%</b>	<b>11,9</b>	<b>76,4</b>	<b>4,74</b>	<b>0,63</b>	<b>0,45</b>	<b>0,72</b>
<b>20%</b>	<b>12,8</b>	<b>73,7</b>	<b>6,42</b>	<b>0,95</b>	<b>0,65</b>	<b>0,56</b>
<b>40%</b>	<b>13,9</b>	<b>70,0</b>	<b>9,36</b>	<b>1,55</b>	<b>1,16</b>	<b>0,42</b>

**Tabella 5.** Alcune caratteristiche della composizione chimica (%s.s.) della pasta cotta liofilizzata ottenuta integrando la semola di frumento duro con la frazione micronizzata di interesse della cariosside di avena.

I criteri su cui si basano i test per la valutazione della qualità della pasta includono il controllo delle proprietà organolettiche, biochimiche e nutrizionali. La qualità dopo cottura, ritenuto comunque l'aspetto più importante, è stato verificato attraverso il controllo delle caratteristiche sensoriali (collosità, nervo, ammassamento). Le caratteristiche organolettiche del prodotto cotto hanno mostrato una notevole variabilità tra le diverse formulazioni realizzate e anche tra le varietà di avena. In particolare solo il prodotto in cui la farina di avena è presente in maggiore concentrazione (40 %) ha presentato un gusto amaro e astringente e una maggiore sensazione fibrosa. In generale gli assaggiatori hanno valutato i prodotti con formulazione 10 e 20 % di farina di avena con caratteristiche sensoriali tipiche dei prodotti integrali, senza particolari note negative che ne penalizzassero il gusto. Per quanto riguarda le caratteristiche collosità, nervo e ammassamento, è stato rilevato che la presenza di avena non modifica sostanzialmente queste caratteristiche, i dati infatti hanno mostrato indici simili tra pasta tradizionale di semola e pasta integrale (dati non riportati).

*Silvia Bellato*

## CONCLUSIONI

*Silvia Bellato*

Numerose ricerche hanno analizzato l'associazione tra stile alimentare e insorgenza di malattie cronico-degenerative; in generale, è emerso che un fattore protettivo contro le più diffuse malattie croniche non trasmissibili è rappresentato dall'adozione di uno stile alimentare in cui prevalga il consumo di cereali (di cui un 50% integrali) e di verdura, legumi, frutta e olio di oliva, cioè i principali alimenti del modello nutrizionale mediterraneo.

In relazione al ruolo dei cereali per ridurre il rischio di malattie migliorando la salute ed il benessere delle persone, le attività di ricerca di questo progetto di dottorato sono state finalizzate ad approfondire le conoscenze sul potenziale nutrizionale dell'avena legato alla presenza di elevate quantità di  $\beta$ -glucano, fibra solubile con importanti proprietà salutistiche. I risultati hanno fornito indicazioni che potranno essere un valido supporto per il settore dell'industria agroalimentare per incrementare l'utilizzazione di questo cereale nell'alimentazione alla luce delle raccomandazioni nutrizionali che suggeriscono una dose giornaliera di 3 g di  $\beta$ -glucano di avena.

L'esplorazione e la caratterizzazione di un gran numero di accessioni di avena provenienti da diversi paesi europei ha consentito di individuare i genotipi di maggior interesse per il loro potenziale nutrizionale e specifico materiale genetico, in particolare alcune specie selvatiche, da utilizzare come fonte di alleli per aumentare il contenuto in  $\beta$ -glucano nel miglioramento genetico.

In parallelo la disponibilità di strumenti che operano nel vicino infrarosso e l'uso di sistemi chemiometrici adeguati ha permesso lo sviluppo di modelli applicativi robusti per la valutazione rapida e accurata dei parametri di interesse (proteine,  $\beta$ -glucano totale e solubile) nelle numerose linee in selezione durante il miglioramento genetico, validi sia per le avene a seme nudo che per le cariossidi private delle glume esterne di varietà vestite.

Questo studio ha infine consentito di evidenziare i fattori estrinseci (temperatura, disponibilità di acqua) che, durante la granigione, possono influenzarne l'accumulo nella granella attribuendo al genotipo un ruolo fondamentale per la variabilità del  $\beta$ -glucano totale e solubile.

Di particolare interesse, in relazione agli obiettivi, sono stati valutati i risultati relativi allo studio effettuato sulla viscosità delle farine di avena, caratteristica responsabile delle proprietà salutari attribuite al  $\beta$ -glucano; dai dati, infatti è emerso come la maggiore o minore viscosità non dipenda sempre dal contenuto e dalla composizione del  $\beta$ -glucano e che per un'efficiente caratterizzazione del potenziale nutrizionale della materia prima sarebbe molto utile anche la valutazione diretta della viscosità.

*Silvia Bellato*

Le attività finalizzate allo sviluppo di alimenti innovativi a base di avena hanno fornito informazioni utili riguardo l'applicazione del processo idrotermico di parboilizzazione che sia in avena che nei cereali testati induce significative variazioni in alcune caratteristiche fisico-chimiche della cariosside e della farina, quali durezza, amido resistente, capacità antiossidante, viscosità, modificandone il potenziale nutrizionale.

Il processo tecnologico per la produzione di pasta integrata con farina di avena ha richiesto la standardizzazione di un sistema di macinazione innovativo, applicato per la prima volta alla granella di avena nuda, che comprende un passaggio di micronizzazione con successiva turboseparazione da cui sono state ottenute due frazioni di farina, con caratteristiche fisico chimiche differenti, materia prima miscelata alla semola di frumento duro per produrre paste alimentari arricchite in  $\beta$ -glucano, utili per raggiungere più facilmente i livelli giornalieri raccomandati.

Lo sviluppo di un "convenience food" caratterizzato da un elevato potenziale nutrizionale ha proposto ulteriori aspetti innovativi con riferimento alle formulazioni che potessero offrire quantità crescenti di composti bioattivi (contenuti nutrizionali progettati) mantenendoli nella loro matrice naturale.

In conclusione, una delle condizioni fondamentali per una dieta alimentare sana è quella della varietà di cibi e di nutrienti. In generale, questa ricerca intende promuovere il maggior consumo di cereali minori quali l'avena evidenziandone aspetti che verosimilmente potranno essere maggiormente valorizzati dall'industria agroalimentare. I risultati del progetto relativo alla filiera dell'avena hanno dimostrato che è possibile ampliare la disponibilità sul mercato di prodotti a base di avena e suggeriscono, tra l'altro, come migliorare le abitudini alimentari della popolazione attraverso un'offerta di cibi più ampia e varia ma coerente con i moderni principi nutrizionali.

Silvia Bellato

## BIBLIOGRAFIA

AACC 2001. The definition of Dietary Fiber. AACC Report. *Cer. Foods World*. 46 (3): 112-126.

Åman P., Graham H. 1987. Analysis of total and insoluble mixed-linked (1→3),(1→4)-β-D-glucans in barley and oats. *J. Agric. Food Chem.* 35: 704-709.

*Silvia Bellato*

AOAC Method 2002.02. Official Methods of Analysis. Resistant Starch.

Arentz-Hansen H., Fleckenstein B., Molberg O., Scott H., Koning F., Jung G., Roepstorff P., Ludin K.E., Sollid L.M. 2004. The molecular basis for oat intolerance in patients with celiac disease. *PLoS Med.* 1(1):e1.

Autio K. 1996. Functional aspects of cell wall polysaccharides. In: Eliasson, A.-C. (ed.). *Carbohydrates in Food*. New York: Marcel Dekker.: 227-264.

Beer M.U., Wood P.J., Weisz J. 1997. Molecular weight distribution and (1→3)(1→4)-β-D-glucan content of consecutive extracts of various oat and barley cultivars. *Cereal Chem.* 74: 476-480.

Bergman C.J., Gualberto D.G., Weber C.W. 1994. Development of a high-temperature-dried soft wheat pasta supplemented with cowpea (*Vigna unguiculata* (L) Walp). Cooking quality, color, and sensory evaluation. *Cereal Chem.* 71(6): 523-527.

Berry C.S., P'Anson K., Miles M.J., Morris V.J., Russell P.L. 1988. Physical chemical characterisation of resistant starch from wheat. *J.Cereal Sci.* 8: 203.

Braaten J.T., Scott F.W., Wood P.J. 1994(b). High β-glucan oat bran and oat gum reduce postprandial blood glucose and insulin in subjects with and without type 2 diabetes. *Diabetic Medicine : A J. British Diabetic Association.* 11: 312–318.

Braaten J.T., Wood P.J., Scott F.W., Wolynetz M.S., Lowe M.K., Bradley-White P., Collins M.W. 1994(a). Oat β-glucan reduces blood cholesterol concentration in hypercholesterolemic subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* 48: 465-474.

Brennan C.S., Cleary L.J. 2005. The potential use of cereal (1→3, 1→4)-β-D-glucans as functional food ingredients. *J. Cereal Sci.* 42: 1-13.

Brennan C.S., Kuri V., Tudorica C.M. 2004. Inulin-enriched pasta: effects on textural properties and starch degradation. *Food Chem.* 86:189-193.

Brown C.M., Alexander D.E., Carmer S.G. 1966. Variation in oil content and its relation to other characters in oats (*Avena sativa* L.). *Crop Sci.* 6: 190-191.

Brown C.M., Craddock J.C. 1972. Oil content and goat weight of entries in the world oat collection. *Crop Sci.* 12: 514-515.

Silvia Bellato



Brunner B.R., Freed R.D. 1994. Oat grain  $\beta$ -glucan content as affected by nitrogen level, location and year. *Crop Science* 34, 473 e 476.

Bryngelsson S., Mannerstedt-Fogelfors B., Kamal-Eldin A., Andersson R., Dimberg L.H. 2002. Lipids and antioxidants in groats and hulls of swedish oats (*Avena sativa* L.). *J. Sci. Food & Agric.* 82: 606-614.

Chernyshova A.A., White P.J., Scott M.P., Jannink J.L. 2007. Selection for nutritional function and agronomic performance in oat. *Crop Sci.* 47, 2330-2339.

Cho K.C., White P.J. 1993. Enzymatic analysis of  $\beta$ -glucan content in different oat genotypes. *Cereal Chem.* 70 (5), 539e542.

Clark R., Johnson S. 2002. Sensory acceptability of foods with added lupin (*Lupinus angustifolius*) kernel using pre-set criteria. *J. Food Sci.* 67:356–362.

Conciatori A., De Stefanis E., Redaelli R., Sgrulletta D. 2000. Chemical characterization of some kernel traits in naked oat genotypes. *J. Genet. & Breed.* 54: 275-278.

Delaney B., Nicolosi R.J., Wilson T.A., Carlson T., Frazer S., Zheng G.H., Hess R., Ostergren K., Haworth J., Knutson N. 2003.  $\beta$ -glucan fractions from barley and oats are similarly antiatherogenic in hypercholesterolemic Syrian golden hamsters. *J. Nutr.* 133: 468-495.

Delcour J.A., Rouau X., Courtin C.M., Poutanen K., Ranieri R. 2012. Technologies for enhanced exploitation of the health-promoting potential of cereals. *Trends Food Sci. & Techn.* 25: 78-86.

De Stefanis E., Sgrulletta D., Cappelloni M., Corcos Benedetti P., Gentili V. 1990. Technological and nutritional evaluation of pasta fortified with leaf protein. *Ital. J. Food Sci.* 3: 157-162.

De Stefanis E., Sgrulletta D., Pollini C.M. 1993. Chemical and technological characteristics of oat products. *Ital. Food & Bev. Techn.* 1: 25.

Doehlert D.C., McMullen M.S., Hammond J.J. 2001. Genotypic and environmental effects on grain yield and quality of oat grown in North Dakota. *Crop Science* 41, 1066e1072.

Drzikova B., Dongowski G., Gebhardt E., Habel A. 2005. The composition of dietary fibre-rich extrudates from oat affects bile acid binding and fermentation in vitro. *Food Chem.* 90: 181-192.

Silvia Bellato

Edwards C.A., Parrett A.M. 1996. Plant cell wall polysaccharides, gums and hydrocolloids: Nutritional Aspects. Carbohydrates in food. Eliasson A-C (ed.), Marcel Dekker, New York, p. 319-345.

ElKhoury D., Cuda C., Luhovyy B.L., Anderson G.H. 2012. Beta Glucan: Health Benefits in Obesity and Metabolic Syndrome. J. Nutrition Metabolism Vol. 2012, doi:10.1155/2012/851362.

Englyst H.N., Kingman S.M., Cummings J.H. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. Eur.Clin.Nutr. 46: S33.

FDA.1997. FDA allows whole oat foods to make health claim on reducing the risk of heart disease. FDA Talk Paper Jan. 22. 1997. Food and Drug Administration. U.S. Department of Health and Human Services.

Fabriani G. 1988. Perspectives on durum wheat and its products. "Durum: Chem. & Techn.", Fabriani G. and Lintas C. eds. Pages 317-324.

Ferrari B., Finocchiaro F., Stanca A.M., Gianinetti A. 2009. Optimization of air classification for the production of  $\beta$ -glucan-riche barley flours. J. Cereal Sci. 50: 152-158.

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.

Gani A., Wani S.M., Masoodi F.A., Gousia H. 2012. Whole-Grain cereal bioactive compounds and their health benefits. A review. J.Food Process. Techn., 3:3.

Hall R.S., Johnson S.K. 2004. Sensory acceptability of foods containing Australian sweet lupin (*Lupinus angustifolius*) flour. J. Food Sci. 69:SNQ92–SNQ97.

Hallfrisch J., Schofield D.J., Behall K.M. 2003. Physiological responses of men and women to barley and oat extracts (Nu-trimX). II. Comparison of glucose and insulin responses. Cereal Chem. 80: 80-83.

Hanna M.A., Satterlee L.D., Thayer K.W. 1978. Sensory and selected textural properties of pasta fortified with plant proteins and whey. J. Food Sci. 43 (1): 231-235.

Heiniö R.L., Oksman-Caldentey K.M., Latva-Kala K., Lehtinen P., Poutanen K. 2001. Effect of drying treatment conditions on sensory profile of germinated oat. Cereal Chem. 78(6): 707-714.

Silvia Bellato

Hemery Y., Rouau X., Lullien-Pellerin V., Barron C., Abecassis J. 2007. Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. *J. Cereal Sci.* 46: 327-347.

Hidalgo A., Brandolini A., Gazza L. 2008. Influence of steaming treatment on chemical and technological characteristics of einkorn (*Triticum monococcum* L. ssp. *monococcum*) wholemeal flour. *Food Chem.* 111, 549-555.

Himmelsbach D.S., Barton F.E. II, McClung A.M., Champagne E.T. 2001. Protein and apparent amylose content of milled rice by NIR-FT/Raman spectroscopy. *Cereal Chem.* 78(4): 488-492.

Hipsley E.H. 1953. Dietary 'fibre' and pregnancy toxemia. *British Medical J.* 2, 420-422.

Kahlon T.S. 2001. Cholesterol-lowering properties of cereal fibres and fractions. *Advanced Dietary Fibre Techn.* McCleary BV, Prosky L (eds.) Blackwell Science, Oxford: 206-220.

Kays S.E., Barton F.E. II, Windham W.R. 2001. Predicting protein content by near infrared reflectance spectroscopy in diverse cereal food product. *J. Near Infrared Spectrosc.* 8: 35-45.

Kim J.H., Tanhehco E.J, NG P.K.W. 2006. Effect of extrusion conditions on resistant starch formation from pastry wheat flour. *Food Chem.* 99, 718-723.

Lambo A., Öste R., Nyman M. 2005. Dietary fibre in fermented oat and barley rich concentrates. *Food Chem.* 89: 283-293.

Lemons G., Siva F. 2009. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to assess protein and lipid contents in *Avena sativa*. L. CBAB, *Crop Breed. Applied Biotechn.* (2008), 8(2): 127-133.

Lia A., Hallmans G., Sandberg A.S., Sundberg B., Åman P., Andersson H. 1995. Oat  $\beta$ -glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barely fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects. *Am J Clin. Nutr.* 62: 1245-1251.

Liu R.H. 2007. Whole grain phytochemicals and health. *J. Cereal Sci.* 46(3): 207-219.

Liu Y., White P.J. 2011. Molecular Weight and Structure of Water Soluble (1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -Glucans Affect Pasting Properties of Oat Flours *Journal of Food Science* 76 (1), 68-74.

Lucisano M., Casiraghi E.M., Barbieri R. 1984. Use of defatted corn germ flour in pasta products. *J. Food Sci.* 49: 482-484.

Silvia Bellato

Lucisano M., Pagani M.A. 1997. Cereali e derivati. In: Daghetta A. Gli alimenti. Aspetti tecnologici e nutrizionali. Collana ITEMS, Istituto Danone, Milano: 7-68.

Mac Arthur L.A., D'appolonia B.L. 1979. Comparison of oat and wheat carbohydrates. II. Starch. Cereal Chem. 56(5):458-461.

Manley M., Van Zyl L., Osborne B.G. 2002. Using Fourier transform near infrared spectroscopy in determining kernel hardness, protein and moisture content of whole wheat flour. J. Near Infrared Spectrosc. 10: 71-76.

McCleary B.V., Codd R. 1991. Measurement of (1→3),(1→4)-β-D-glucan in barley and oats: A streamlined enzymic procedure. J. Sci. Food Agric. 55: 303-312.

McCleary B.V., Glennie-Holmes M. 1985. Enzymic quantification of (1-3)(1-4)-β-D-glucan in barley and malt. J. Inst. Brew. 91: 285-289.

Meadows F., Barton F.E. 2002. Determination of rapid visco analyser parameters in rice by Near Infrared spectroscopy. Cereal Chem. 79(4): 563-566.

Michalska A., Ceglinska A., Zielinski H. 2007. Bioactive compounds in rye flours with different extraction rates. Eur. Food. Res. Technol. 225: 545-551.

Milatovich L., Mondelli G. 1990. La tecnologia della pasta alimentare. Chiriotti Ed. Pinerolo. Italia.

Miller S.S., Wood P.J., Pietrzak L.N., Fulcher R.G. 1993. Mixed linkage β-glucan, protein content, and kernel weight in Avena species. Cereal Chem. 70 (2), 231e233.

Morrison W.R. 1978. Cereal lipids. In: Adv. Cereal Sci. & Techn. Pomeranz Y. (Ed.), II: 221-348.

Morrison W.R. 1988. Lipids in cereal starches: A review. J. Cereal Sci. 8: 1-15.

Muir J.G., Birkett A., Brown I., Jones G. O'Dea K. 1995. Food processing and maize variety affects amounts of starch escaping digestion in the small intestine. Am.J.Clin.Nutr. 61: 82.

Nielsen J.P., Bertrand D., Micklander E., Corcoux P., Munck L. 2001. Study of NIR spectra particle size distribution and chemical parameters of wheat flours: a multi way approach. J. Near Infrared Spectrosc. 9: 275-285.

Osborne B.G. 1996. Near infrared spectroscopic studies of starch and water in some processed cereal foods. J. Near Infrared Spectrosc. 4: 195-200.

*Silvia Bellato*

Osborne B.G. 2006. Applications of near infrared spectroscopy in quality screening of early generation material in cereal breeding. *J. Near Infrared Spectrosc.* 14 (2), 93-101.

Panfili G., Fratianni A., Irano M. 2003. Normal phase high-performance liquid chromatography method for the determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. *J. Agric. Food Chem.* 51(14): 3940-3944.

Peterson D.M. 1991. Genotype and environment effects on oat  $\beta$ -glucan concentration. *Crop Science* 31, 1517e1520.

Peterson D.M. 1995. Oat tocols: concentration and stability in oat products and distribution within the kernel. *Cereal Chem.* 72: 21-24.

Peterson D.M. 1998. Malting oats: Effects on chemical composition of hull-less and hulled genotypes. *Cereal Chem.* 75(2): 230-234.

Peterson D.M. 2001. Oat antioxidants. *J. Cereal Sci.* 33: 115-129.

Peterson D.M. 2002. Oat lipids: composition, separation and applications. *Lipid Techn.* 14(3): 56-59.

Peterson D.M. 2004. Oat – a multifunctional grain. *Proceedings of 7th International Oat Conference*, Peltonen-Sainio P. and Topi-Hulmi M. (Eds): 21-26.

Pick M.E., Hawrysh Z.J., Gee M.I. 1996. Oat bran concentrate bread products improve long-term control of diabetes: a pilot study. *J. Am. Dieticians Association.* 96: 1254–1261.

Pogna N., Nocente F., Gazza L. 2004. La celiachia, patologia di rilevanza sociale. *L'Inform. Agrario.* 26: 27.

Ranhotra G. 2001. Resistant starch: health aspects and food uses. In “Advanced dietary fibre technology”, B.V. Mc Cleary and L. Prosky (Eds.), Blackwell Sci. Ltd: 424.

Redaelli R., Del Frate V., Bellato S., Terracciano G., Ciccoritti R., Germeier G.U., De Stefanis E., Sgrulletta D. 2012. Genetic and environmental variability in total and soluble  $\beta$ -glucan in European oat genotypes. *J. Cereal Sci.* In press.

Redaelli R., Notario T., Boggini G. 1999. Caratteristiche agronomiche e merceologiche di genotipi “nudi” di avena (*Avena sativa* var. *nuda* L.). *Sementi Elette.* 1: 5-9.

Silvia Bellato

Redaelli R., Sgrulletta D., Scalfati G., De Stefanis E. 2006. Development of naked-oat products with suitable nutritional properties for improving health. *Tecn. Mol. Intern.* 1-7.

Redaelli R., Sgrulletta D., Scalfati G., De Stefanis E., Pollini C.M., Conciatori A., Cammerata A. 2005. L'avena per un prodotto alimentare ricco di proprietà salutari. Risultati della ricerca in Italia. *Tecn Mol.* 3: 257-267.

Saastamoinen M., Plaami S., Kumpulainen J. 1992. Genetic and environmental variation in  $\beta$ -glucan content of oats cultivated or tested in Finland. *J. Cereal Sci.* 16: 279-290.

Sahasrabudhe M.R. 1979. Lipid composition of oats (*Avena sativa* L.) *J. Am. Oil Chem. Soc.* 56: 80-84.

Sayar S., Jannink J.L., White P.J. 2005. In vitro binding of flours from oat lines varying in percentage and molecular weight distribution of  $\beta$ -glucan. *J. Agric. Food Chem.* 53: 8798-8803.

Schmidt J., Gergely S., Schbnlechner R., Grausgruber H., Tömösközi S., Salgo A., Berghofer E. 2009. Comparison of different types of NIR instruments in ability to measure  $\beta$ -glucan content in naked barley. *Cereal Chem.* 86: 398-404.

Serpen A., Gokmen V., Pellegrini N., Fogliano V. 2008. Direct measurement of the total antioxidant capacity of cereal products. *J. Cereal Sci.* 48, 816-820.

Sgrulletta D., Scalfati G., De Stefanis E., Conciatori A. 2005. Dietary fibre components of high-fibre commercial products. Effect of cooking process. *Ital. J. Food Sci.* XIII (3), 285-294.

Sgrulletta D., De Stefanis E., Alessandroni A., Pollini C.M., 1994. Oat fibre. Evaluation of cultivar variability and innovative oat products. *Ital. Food & Bev. Techn.* 3: 15.

Sgrulletta D., De Stefanis E., Conciatori A., Longoni C., Redaelli R. 2004. Characterisation for functional compounds of Italian oat genotypes. *Proc. 7th Intern. Oat Conference*, Peltonen-Sainio P. and Topi-Hulmi M. (Eds.): 151-156.

Sgrulletta D., De Stefanis E., Pollini C.M. 1995. Chemical and technological characteristics of oat products. 2nd. *Ital. Food & Bev. Techn.* 6: 16.

Sgrulletta D., De Stefanis E., Pollini C.M. 2001(a). Durum wheat and oat: a good association for innovative alimentary pasta at high nutritional value. *Italian Food & Bever. Techn.* XXIII: 1.

Silvia Bellato

Sgrulletta D., De Stefanis E., Redaelli R. 2001(b). Oats, a source of raw material suitable for innovative human food. In "Proceedings of 11th Intern. ICC Cereal & Bread Congress and of the 50th Australian Cereal Chemistry Conference", Wootton M., Batey I.L. and Wrigley C.W. (Eds.): 224.

Shewry P.R., Halford N.G. 2002. Cereal seed storage proteins: structures, properties and role in grain utilization. *J. Experimental Botany*. 53(370): 947-958.

Shogren R.L., Hareland G.A., Wu Y.V. 2006. Sensory evaluation and composition of spaghetti fortified with soy flour. *J. Food Sci.* 71(6): 428S-432S.

Sides A., Robards K., Helliwell S., An M. 2001. Changes in the volatile profile of oats induced by processing, *Journal of Agricultural and Food Chem.* 49(5): 2125-2130.

Sireix A., Downey G. 1993. Commercial wheat flour authentication by discriminant analysis of near infrared reflectance spectra. *J. Near Infrared Spectrosc.* 181-197.

Skendi A., Biliaderis C.G., Lazaridou A., Izydorczyk M.S. 2003. Structure and rheological properties of water soluble  $\beta$ -glucans from oat cultivars of *Avena sativa* and *Avena bysantina*. *J. Cereal Sci.* 38, 15-31.

Tappy L., Gügolz E., Würsch P. 1996. Effects of breakfast cereals containing various amounts of  $\beta$ -glucan fibers on plasma glucose and insulin responses in NIDDM subjects. *Diabetes Care.* 19: 831-834.

Temelli F., Bansema C., Stobbe K. 2004. Development of an orange-flavoured barley  $\beta$ -glucan beverage. *Cereal Chem.* 81, 499-503.

Tiwari U., Cummins E. 2009. Factors influencing  $\beta$ -glucan levels and molecular weight in cereal-based products. *Cereal Chem.* 86 (3), 290e301.

Torres A., Frias J., Granito M., Guerra M., Vidal-Valverde C. 2007. Chemical, biological and sensory evaluation of pasta products supplemented with  $\alpha$ -galactoside-free lupin flours. *J. Sci. Food Agric.* 87:74-81.

Trowel H.C. 1974. Definitions of Fibre. *Lancet* 1: 503.

Wang L.Z., White P.J. 1994. Structure and physicochemical properties of starches from oat with different lipid contents. *Cereal Chem.* 71: 443-450.

Silvia Bellato

Welch R.W., Brown J.C.W., Legget J.M. 2000. Interspecific and intraspecific variation in grain and groat characteristics of wild oat (*Avena*) species: very high groat (1-3), (1-4)- $\beta$ -D-glucan in an *Avena atlantica* genotype. *J. Cereal Science*. 31, 273-279.

Wesley I.J., Blakeney A.B. 2001. Investigation of starch-protein-water mixtures using dynamic near infrared spectroscopy. *J. Near Infrared Spectrosc.* 9: 211-220.

Wood P.J. 1986. Oat  $\beta$ -glucan: Structure, location and properties. In: *Oats: Chemistry and Technology*. F. H. Webster (ed.). Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc.: 121-152.

Wood P.J. 2001. Cereal  $\beta$ -glucans: structure, properties and health claims. In: *Advanced Dietary Fibre Technology*. McCleary BV, Prosky L (eds.) Blackwell Science, Oxford: 315-327.

Wood P.J., Beer M.U. 1998. Functional Oat Products. In: Mazza, G. (ed.). *Functional Foods, Biochemical and Processing Aspects*. Lancaster: Technomic Publishing Company. Inc.: 1-37.

Wood P.J., Beer M.U., Butler G. 2000. Evaluation of role of concentration and molecular weight of oat  $\beta$ -glucan in determining effect of viscosity on plasma glucose and insulin following an oral glucose load. *Br. J. Nutr.* 84: 19-23.

Wood P.J., Braaten J.T., Scott F.W., Riedel K.D., Poste L.M. 1990. Comparisons of viscous properties of oat and guar gum and the effects of these and oat bran on glycemic index. *J. Agric. Food Chem.* 38: 753-757.

Wood P.J., Fulcher R.G., Stone B.A. 1983. Studies on the specificity of interaction of cereal cell wall components with Congo Red and Calcofluor. Specific detection and histochemistry of (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)-  $\beta$ -D-glucan. *J. Cereal Sci.* 1: 95-110.

Wood P.J., Weisz J., Mahn W. 1991. Molecular characterization of Cereal  $\beta$ -glucans. II. Size-exclusion chromatography for comparison of molecular weight. *Cereal Chem.* 68: 530-536.

Youngs V.L. 1986. Oat lipids and lipid related-enzymes. In "Oats: Chemistry and Technology" Webster F.H.(Ed.): 205-226.

Zhu S., Rosnagel B.C., Kaeppler H.F. 2004. Genetic analysis of quantitative trait loci for groat protein and oil content in oat. *Crop Sci.* 44: 254-260.

Zhou M., Robards K., Glennie-Holmes M., Helliwell S. 1998. Structure and pasting properties of oat starch. *Cereal Chem.* 75(3): 273-281.

Silvia Bellato



## **LAVORI PRODOTTI NELL'AMBITO DEL DOTTORATO**

I risultati ottenuti dal lavoro di Dottorato qui presentato sono stati riportati in poster e abstracts di diversi Convegni e pubblicati sotto forma di articoli in riviste specifiche del settore.

*Silvia Bellato*

-V. Del Frate, **S. Bellato**, A. Conciatori, A. Cammerata, D. Sgrulletta, F. Marini, A. D. Magri. Analisi nel vicino infrarosso del  $\beta$ -glucano di avena nuda. Presentato al congresso NIRITALIA 2010 13-14 Maggio 2010 Sestri Levante, Italia.

-R. Redaelli, V. Del Frate, **S. Bellato**, G. Terracciano, E. De Stefanis and D. Sgrulletta. Genetic and environmental variability of total and soluble  $\beta$ -glucan in oat European genotypes. Presentato al Convegno EuroCereal 2011, 6-7 December 2011, Campden BRI, ChippingCampden, UK. [O14].

-**S. Bellato**, R. Redaelli, V. Del Frate, A. Cammerata, P. Cacciatori, D. Sgrulletta and R. Ciccoritti. Variations in content and physical properties of naked oat  $\beta$ -glucan associated with genotypic and technological factors. Presentato al 5th International Dietary Fibre conference 2010. 7-9 May 2012, Centro Congressi Fontana di Trevi, Rome, Italy. Book of abstracts pag.87.

-**S. Bellato**, V. Del Frate, A. Conciatori, A. Cammerata, D. Sgrulletta, E. De Stefanis and F. Marini. (2010). Comparison of NIT and NIR Spectroscopy to select high nutritional value naked oats. Proceedings of NIR conference 2009, Bangkok November 2009 pp. 415-420.

-**S. Bellato**, R. Ciccoritti, G. Scalfati, V. Del Frate, A. Cammerata, L. Gazza e D. Sgrulletta. (2011). Effetto del trattamento di parbolizzazione sui composti bioattivi della granella dei cereali. VIII Congresso Nazionale di Chimica degli Alimenti "Qualità e Tipicità degli Alimenti Mediterranei: Alimentazione e Salute", 20-24 Settembre 2010, Marsala (TP), Italia. Atti del Congresso pp. 183-186.

-**S. Bellato**, V. Del Frate, R. Redaelli, D. Sgrulletta, R. Bucci, A. D. Magri, and F. Marini. (2011). Use of Near Infrared Reflectance and Transmittance Coupled to Robust Calibration for the Evaluation of Nutritional Value in Naked Oats. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59(9), pp.4349-4360.

-**S. Bellato**, V. Del Frate, D. Sgrulletta, E. De Stefanis e R. Redaelli. (2011). Studio della variabilità genetica per il contenuto in  $\beta$ -glucano in accessioni europee di avena. 8° Convegno AISTEC "Evoluzione e rilancio della filiera dei cereali: biodiversità, sostenibilità, tecnologia e nutrizione", 11-13 Maggio 2011, Aci Castello – Cannizzaro CT. Atti del Convegno pp.195-198.

-R. Redaelli; V. Del Frate; **S. Bellato**; G. Terracciano; R. Ciccoritti; C. U. Germeier; E. De Stefanis; D. Sgrulletta. Genetic and Environmental Variability of Total and soluble  $\beta$ -Glucan in Oat European Genotypes. Journal of Cereal Science. In press.

## RINGRAZIAMENTI

I miei più affettuosi ringraziamenti vanno alla Dottoressa Daniela Sgrulletta, guida preziosa, sempre presente, sempre attenta e premurosa sia sul piano lavorativo che su quello personale, che ammiro e a cui sono profondamente affezionata.

*Silvia Bellato*

Ringrazio la Dottoressa Maria Grazia D'Egidio, che mi ha permesso di svolgere al CRA-QCE di Roma il lavoro di dottorato, e che nonostante i suoi mille impegni trova sempre un momento per tutti.

Ringrazio il mio collega, ma soprattutto amico, Roberto Ciccoritti, che da sempre mi affianca nel mio percorso lavorativo e personale, pronto a sostenermi e consigliarmi in ogni momento.

Ringrazio tutti i colleghi del CRA-QCE di Roma, che rendono questo ambiente una valida scuola per il lavoro e per la vita, in particolare Stefano e Andrea.

Ringrazio i miei compagni di viaggio, che allietano l'inizio delle mie giornate, aiutandomi a partire ogni giorno con il piede giusto.

Ringrazio la mia Famiglia, che mi aiuta in ogni momento, ogni giorno, a superare i momenti difficili, e con cui amo condividere i momenti felici, senza di loro non sarei arrivata qui, non avrei fatto ciò che mi piace, non avrei prodotto questo lavoro.

Ringrazio il mio compagno, Cristian, che in poco tempo è diventato fondamentale per me e mi ha aiutato a migliorarmi come persona e ad essere felice.

Grazie! Grazie! Grazie!

*Silvia Bellato*