

I GEORGOFILI

Quaderni
2013-VII



INNOVAZIONI NELLE PRODUZIONI AGRICOLE
DESTINATE ALL'INDUSTRIA ALIMENTARE
E FARMACEUTICA

Firenze, 31 ottobre 2013



EDIZIONI POLISTAMPA

Con il contributo di



ENTE CASSA DI RISPARMIO DI FIRENZE

Copyright © 2014
Accademia dei Georgofili
Firenze
<http://www.georgofili.it>

Proprietà letteraria riservata

Supplemento a «I Georgofili. Atti della Accademia dei Georgofili»
Anno 2013 - Serie VIII - Vol. 10 (189° dall'inizio)

Direttore responsabile: Paolo Nanni

Edizioni Polistampa
Via Livorno, 8/32 - 50142 Firenze
Tel. 055 737871 (15 linee)
info@polistampa.com - www.polistampa.com
Sede legale: Via Santa Maria, 27/r - 50125 Firenze

ISBN 978-88-596-1400-5

Servizi redazionali, grafica e impaginazione
SOCIETÀ EDITRICE FIORENTINA

INDICE

PAOLO RANALLI, DANIELA TRONO <i>Strategie per l'accumulo nelle piante di metaboliti di interesse nutrizionale e industriale</i>	7
GIUSEPPE MANDOLINO, CHIARA ONOFRI, BRUNO PARISI, MONICA STURARO, GIOVANNI GIULIANO, MARIA SULLI, SARAH FRUSCIANTE, GIANFRANCO DIRETTO, GIUSEPPE REFORGIATO RECUPERO, CONCETTA LICCIARDELLO <i>Sviluppo di piante per produrre alimenti biofortificati: alcuni casi-studio</i>	19
NORBERTO POGNA, LAURA GAZZA <i>Le nuove frontiere delle tecnologie alimentari e la celiachia</i>	39
TIZIANA M.P. CATTANEO, GIOVANNA CORTELLINO, ANNA RIZZOLO <i>Innovazione nei processi di trasformazione, conservazione e packaging di prodotti vegetali destinati all'industria alimentare</i>	55

NOTA DI REDAZIONE

Alla giornata di studio hanno partecipato anche la prof.ssa Antonella Leone e il dott. Francesco Cellini. Gli autori non hanno consegnato il testo per la stampa.

Strategie per l'accumulo nelle piante di metaboliti di interesse nutrizionale e industriale

I metaboliti secondari costituiscono un largo sottoinsieme delle sostanze chimiche vegetali la cui importanza per le piante e per l'uomo è stata riconosciuta solo recentemente. Questo perché, a differenza dei cosiddetti metaboliti primari, carboidrati, lipidi e proteine che svolgono un ruolo importante come intermedi delle vie anaboliche e cataboliche e che sono ubiquitariamente presenti in elevate concentrazioni in tutti i tessuti vegetali, i metaboliti secondari, presenti in concentrazioni molto basse e solo in specifici tessuti della pianta, apparentemente sembravano non avere un ruolo diretto nel metabolismo. E così pure nell'alimentazione umana, l'attenzione dei nutrizionisti è stata per anni focalizzata sul fabbisogno energetico da ottenere mediante una corretta combinazione nella dieta di carboidrati, lipidi e proteine; ancora una volta i metaboliti primari la facevano da padrone.

Solo recentemente è stato compreso il ruolo determinante che i metaboliti secondari svolgono sia per la pianta che per l'uomo (fig. 1). Nella pianta questa classe di composti è coinvolta nella formazione di simbiosi a livello radicale, nei meccanismi di difesa atti a contrastare stress abiotici e biotici, nei processi riproduttivi, giocando un ruolo nell'attrazione degli animali implicati nell'impollinazione o nella dispersione del seme (Verpoorte, 2000). Alla luce di ciò appare evidente che questi metaboliti sono tutt'altro che secondari dato il ruolo cruciale che svolgono per la fitness delle piante.

Inoltre, il riconoscimento delle proprietà biologiche di migliaia di metaboliti secondari ha portato a una rivalutazione di questi composti anche dal punto di vista nutrizionale e del loro impiego nel settore industriale. Sebbene

* Fondazione "Istituto Scienze della Salute"

** CRA-Centro di Ricerca per la Cerealicoltura, Foggia

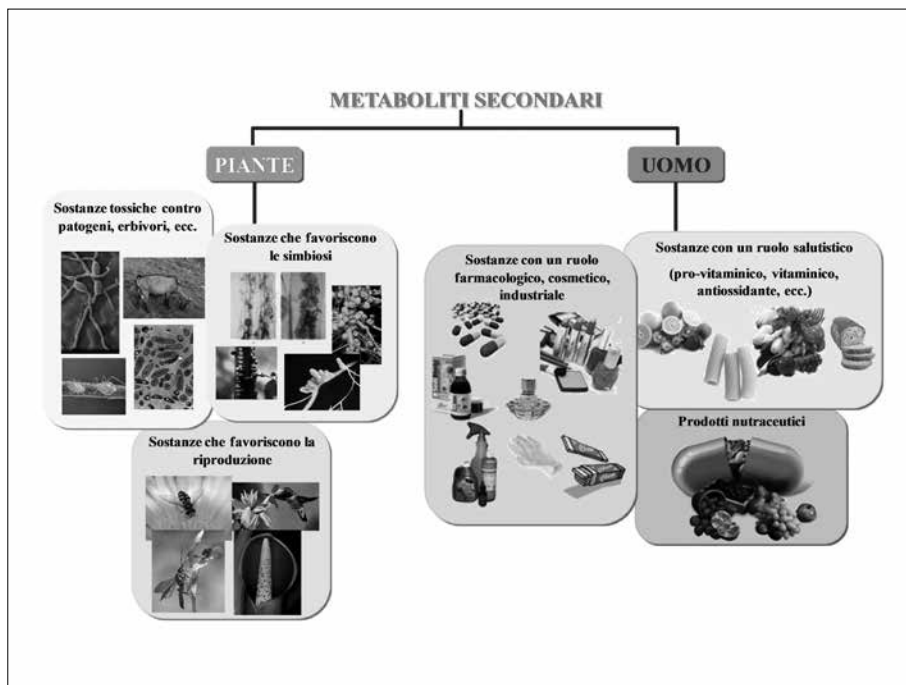


Fig. 1 *Ruolo dei metaboliti secondari nella fisiologia della pianta e nella salute dell'uomo*

non svolgano un ruolo come nutrienti, sempre maggiori evidenze supportano il ruolo di alcuni di questi composti nel ridurre l'incidenza di patologie cronico-degenerative, tra cui le patologie cardio-vascolari, le degenerazioni osteo-articolari e a carico della retina, nonché diverse forme di tumori (Zhao, 2007). Alcune di queste molecole hanno funzione vitaminica o pro-vitaminica, molte altre devono la loro azione benefica alla loro attività antiossidante che si esplica in maniera diversa a seconda delle proprietà chimico-fisiche di ciascuna molecola (fig. 1). Numerosi studi epidemiologici hanno dimostrato che queste molecole, se assunte regolarmente nella dieta e in quantità significative, possono avere considerevoli effetti a lungo termine.

Nei confronti dei metaboliti secondari esiste anche un grosso interesse industriale dal momento che alcune di queste molecole costituiscono i principi attivi di molti prodotti presenti in commercio tra cui farmaci, pesticidi e cosmetici (fig. 1). Infine, a metà strada tra il ruolo nutrizionale e quello farmacologico si colloca la cosiddetta nutraceutica che si propone di realizzare preparazioni farmaceutiche in forma di pillole, capsule o opercoli contenenti i principi attivi presenti negli alimenti funzionali ma in forma purificata e dosata.

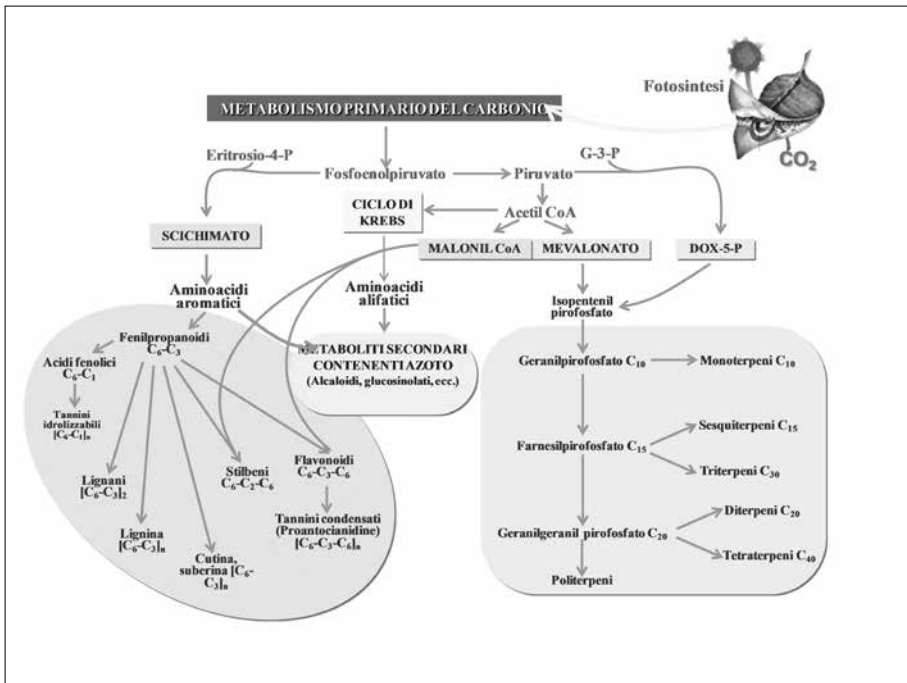










Fig. 2 Rappresentazione schematica delle vie biosintetiche dei metaboliti secondari

I metaboliti secondari vengono tutti prodotti a partire da intermedi del metabolismo primario e possono essere distinti essenzialmente in tre classi principali sulla base della struttura e della via metabolica di sintesi: la classe dei composti fenolici, la classe dei metaboliti secondari contenenti azoto (alcaloidi e glucosinolati) e la classe dei terpenoidi (Herbert, 1989).

I composti fenolici rappresentano una classe molto ampia di metaboliti secondari che si forma a partire dall'aminoacido aromatico fenilalanina e in alcuni casi anche tirosina, attraverso la via dello scichimato (fig. 2). Da questi aminoacidi aromatici si formano i fenilpropanoidi, cosiddetti perché contengono un anello aromatico a cui è legata una catena laterale propenica (C_6-C_3). Il *cleavage* dalla catena laterale di due atomi di carbonio produce i cosiddetti acidi fenolici (C_6-C_1) dalla cui polimerizzazione originano i cosiddetti tannini idrolizzabili (C_6-C_1)_n. La dimerizzazione o polimerizzazione dei fenilpropanoidi porta alla formazione di lignani, lignina, cutina e suberina, mentre l'aggiunta di un secondo anello aromatico, catalizzata dalla stilbene sintasi e dalla calcone sintasi, porta alla formazione di stilbeni e flavonoidi, i composti fenolici più abbondanti nelle piante. La polimerizzazione dei flavonoidi porta alla formazione dei tannini condensati.

SORGENTE	COMPOSTO	QUANTITA' PRESENTE
 Tè verde	Catechine (flavonoidi)	25-30% del peso secco
 Caffè	Acido clorogenico (caffeilchinico)	6-10% del peso secco
 Cacao	Catechine ed epicatechine (flavonoidi) Proantocianidine (tannini condensati)	3-5% di cacao puro 1-2% di cioccolato fondente "Dark"
 Vino rosso	Antocianine, catechine ed epicatechine (flavonoidi)	40-150mg/L
	Proantocianidine (tannini condensati)	1-20 mg/L
	Stilbeni (resveratrolo)	
 Mela Pera	Proantocianidine (tannini condensati)	2300-5000 mg/Kg 1200-2500 mg/Kg
 Arancia rossa	Antocianine (flavonoidi)	
 Fava	Flavanoli (flavonoidi)	150 mg/Kg
 Fagiolo rosso	Proantocianidine (tannini condensati)	5 g/Kg








Tab. 1 *Principali composti fenolici con azione benefica sulla salute umana*

Tra i composti fenolici ad azione benefica sulla salute umana si possono citare le antocianine, composti fenolici presenti in tutti i frutti e ortaggi a colorazione blu-violacea, le catechine presenti nel cacao e nel tè verde e le proantocianidine presenti in alcuni frutti e nei legumi (tab. 1).

Un'altra classe di metaboliti secondari è quella che comprende i composti contenenti azoto, in cui possiamo distinguere gli alcaloidi, composti eterociclici azotati in cui almeno uno degli atomi di azoto presenti deriva da un aminoacido, e i glucosinolati, cosiddetti perché contengono nella loro molecola un gruppo glucosidico solforato (fig. 2). Si tratta di sostanze tossiche, compartimentalizzate nel vacuolo, che vengono utilizzate dalla pianta per difendersi dagli attacchi di patogeni e animali erbivori.

Gli alcaloidi con funzioni narcotiche, stimolanti del sistema nervoso o antitumorali (tab. 2), una volta purificati dalle piante, sono utilizzati come precursori di una serie di molecole di interesse farmaceutico. Nei confronti dei glucosinolati esiste, invece, un interesse legato agli effetti benefici che questa classe di composti esercita sulla salute umana; i glucosinolati sono abbondanti nelle Brassicacee (tab. 2) e numerosi studi epidemiologici hanno dimostrato che una dieta ricca di vegetali appartenenti a questa famiglia riduce il rischio dell'insorgenza di cancro, in particolare del tumore del polmone e di quelli che interessano l'apparato gastro-intestinale.

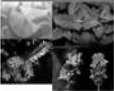





La terza classe di metaboliti secondari è rappresentata dai terpeni, anche

SORGENTE	FAMIGLIA	COMPOSTI	AZIONE
 <i>Atropa belladonna</i>	Solanacee	Atropina	Antispasmodico, midriatico
 <i>Papaver somniferum</i>	Papaveracee	Codeina Morfina	Analgesico, antitussivo Analgesico
 <i>Mucuna deeringiana</i>	Fabacee	L-Dopa	Anti-Parkinson
 <i>Avena sativa</i>	Poacee	Melatonina	Miorilassante
 <i>Cinchona ledgeriana</i>	Rubiacee	Chinino	Antimalarica, tonico
 <i>Catharanthus roseus</i>	Apocynacee	Vinblastina Vincristina	Antitumorale
 <i>Broccoli, cavolini di Bruxell, cavolo cappuccio, cavolo verde, cavolfiore</i>	Brassicacee	Sinigrina, gluconapina, glucobrassicapina, ecc.	Antitumorale

Tab. 2 *Principali alcaloidi e glucosinolati di interesse farmacologico e nutrizionale*

definiti isoprenoidi in quanto l'unità di base di queste molecole è rappresentata dall'isoprene, una molecola a 5 atomi di carbonio. Il precursore dei terpeni è l'isopentenilpirofosfato che si forma o dalla via citosolica del mevalonato o da quella cloroplastica del deossixilulosio 5-fosfato. A seconda del numero di ripetizioni isopreniche si distinguono mono, sesqui, di, tri e tetraterpeni fino ad arrivare a polimeri complessi (fig. 2). A questa classe di composti appartengono molecole che svolgono le funzioni più disparate nella pianta: 1) molecole implicate nella crescita della pianta, tra cui alcuni costituenti dell'apparato fotosintetico (clorofilla e carotenoidi), ormoni (gibberelline), 2) molecole con funzioni ecologiche coinvolte in azioni di difesa, 3) molecole coinvolte nell'attrazione di animali impollinatori. Nei confronti dei composti terpenoidi esiste sia un interesse industriale che nutrizionale (tab. 3); i composti aromatici come alcuni monoterpeni, sesquiterpeni e triterpeni, sono interessanti per l'estrazione di sostanze aromatiche da impiegare nella cosmetica e nel settore alimentare, mentre altri, come l'importante classe di tetraterpeni rappresentata dai carotenoidi e presente in tutti i vegetali di colore giallo-arancio, hanno un importante valore nutrizionale; studi epidemiologici hanno, infatti, dimostrato che un consumo assiduo e abbondante di questi vegetali è associato a un ridotto rischio di malattie cronico-degenerative. Infine, sono interessanti da un punto di vista industriale alcuni politerpeni con proprietà elastiche come la gomma e la guttaperca.

Alla luce di quanto detto appare evidente che qualunque sia l'interesse per uno di questi composti, sia esso un interesse farmacologico, cosmetico

SORGENTE	COMPOSTI	CLASSE
 <p>Limone, aghi di pino, menta, lavanda, fiori e frutti</p>	Limonene, pinene, mentolo, lavandulolo, canfora, geraniolo, ecc	Monoterpeni
 <p>Camomilla, patchouli, vetiver, chiodi di garofano</p>	Bisabololo, patchoulolo, vetivone, cariofillene	Sesquiterpeni
 <p>Rosmarino, caffè, gimnosperme</p>	Cafestolo, cafeolo, carnosolo, acido abietico Gibberelline, fitolo	Diterpeni
 <p>Basilico, origano, timo, mela,</p>	Acido oleanolico, acido ursolico, acido morolico, acido betulico	Triterpeni
 <p>Carote, pomodori, peperoni, mais, pesche, ecc.</p>	Carotenoidi: β -carotene, licopene, luteina, zeaxantina	Tetraterpeni
 <p><i>Hevea brasiliensis</i> <i>Palaquium gutta</i></p>	Gomma Gutta-percha	Politerpeni

Tab. 3 *Principali composti terpenoidi di interesse industriale e nutrizionale*

o nutrizionale, l'innalzamento del contenuto di questo composto nella parte edibile di una coltura in cui esso è naturalmente presente rappresenta un obiettivo valido da perseguire. A questo scopo possono essere messi in atto interventi di *breeding* finalizzati all'ottenimento di nuovi genotipi migliorati relativamente ai livelli del composto di interesse. Uno degli strumenti più all'avanguardia attualmente disponibili nel *breeding* è rappresentato dalla selezione assistita da marcatori molecolari (*Marker Assisted Selection*, MAS). Questo tipo di approccio presuppone l'identificazione delle varianti geniche associate al carattere di interesse, che possono essere utilizzate per identificare e selezionare i genotipi più interessanti per quel dato carattere. Nel caso in cui il carattere di interesse sia rappresentato dall'elevato contenuto di un metabolita secondario, è possibile condurre un'analisi funzionale della via metabolica che determina l'accumulo del composto al fine di identificare l'enzima chiave che regola l'intera via metabolica; di questo è necessario poi identificare la variante, ovvero l'isoforma, associata a un'elevata velocità di accumulo del composto, e, quindi, risalire alla variante genica che la codifica; quest'ultima potrà essere utilmente impiegata per la selezione di genotipi caratterizzati da elevati livelli del composto di interesse.

A titolo di esempio si riporta di seguito uno studio condotto dal nostro gruppo di ricerca in cui questo tipo di approccio è stato utilizzato per iden-

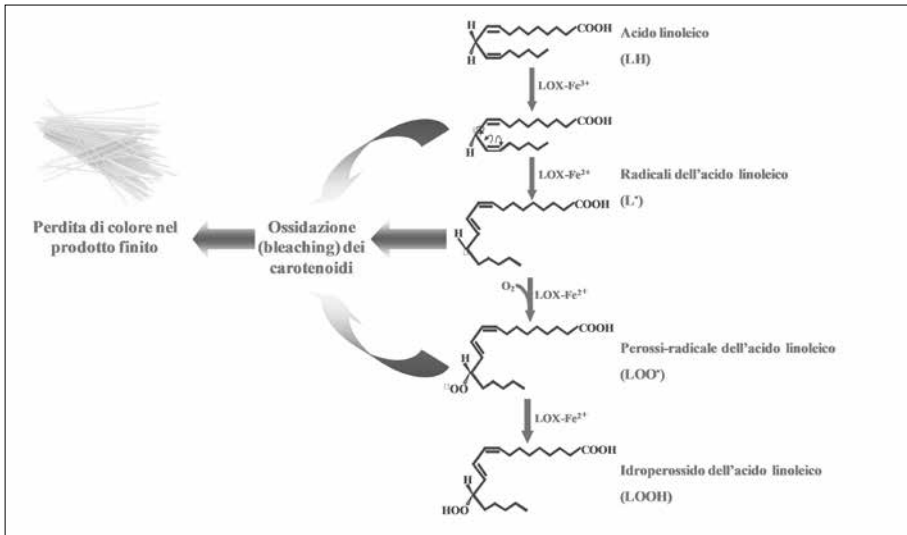



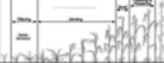
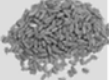




Fig. 3 Reazioni catalizzate dall'enzima Lipossigenasi (LOX)

tificare i determinanti genici responsabili del contenuto in composti carotenoidi, in particolare luteina, nei prodotti derivati dalla semola, come ad esempio la pasta. Si tratta di un carattere importante sia dal punto di vista sensoriale, perché il colore giallo-ambra che caratterizza la pasta a elevato contenuto in carotenoidi è molto apprezzato dal consumatore, sia dal punto di vista salutistico, dal momento che il consumo di luteina è associato a una minore incidenza di patologie degenerative a carico della retina. La pasta, uno dei prodotti trasformati della semola, ha un largo consumo pro-capite e, pertanto, una volta arricchita in luteina, meglio di altri alimenti può contribuire a soddisfare il fabbisogno giornaliero di questo composto che a oggi rimane ancora troppo basso.

Il contenuto in luteina nell'endosperma di frumento duro e, quindi, nella semola è determinato dalla via biosintetica dei carotenoidi. Tuttavia, un elevato contenuto di luteina nella semola non garantisce un altrettanto elevato contenuto nel prodotto trasformato. Questo perché durante il processo di pastificazione si attivano processi degradativi che possono determinare l'ossidazione dei pigmenti carotenoidi e il conseguente sbiancamento (*bleaching*) del prodotto finito. La classe di enzimi responsabile di questo processo è rappresentata dalle Lipossigenasi (LOX). Le LOX catalizzano, in presenza di ossigeno, l'idroperossidazione di acidi grassi poliinsaturi con struttura 1,4 *cis, cis*-pentadienica, come ad esempio il linoleato, che nella semola è il più abbondante della categoria (fig. 3); i radicali intermedi prodotti nel corso di

ISOFORMA 	GENE 	CROMOSOMA 	STADIO 
LOX-1	Lpx-1	Gruppo 4	Semi maturi 
LOX-2	Lpx-3	Gruppo 4	Semi in germinazione 
LOX-3	Lpx-2	Gruppo 5	Semi in germinazione 

Tab. 4 *Isoforme di LOX e relativi geni presenti nei cereali*

questa reazione possono catalizzare diverse reazioni secondarie tra cui l'ossidazione dei pigmenti carotenoidi che durante il processo di pastificazione determina lo sbiancamento del prodotto finito.

Nei cereali esistono tre diverse isoforme di LOX: la LOX-1, la LOX-2 e la LOX-3 (tab. 4); mentre le isoforme LOX-2 e LOX-3 sono particolarmente abbondanti nei semi in germinazione, la LOX-1 è l'isoforma preponderante nelle cariossidi mature e quiescenti e, quindi, la principale responsabile dell'ossidazione dei pigmenti carotenoidi che si verifica durante la pastificazione (Holtman et al., 1996).

I risultati ottenuti dal nostro gruppo di ricerca hanno evidenziato l'esistenza, in frumento duro, di tre geni presenti sul braccio corto del cromosoma 4B e codificanti per l'isoforma LOX-1: *Lpx-B1.1*, *Lpx-B1.2* e *Lpx-B1.3* (fig. 4). Il gene *Lpx-B1.1* presenta, a sua volta, tre varianti alleliche denominate *Lpx-B1.1a*, *Lpx-B1.1b* e *Lpx-B1.1c* (tab. 5). Di queste tre varianti, l'allele *Lpx-B1.1c* presenta una grossa delezione della porzione centrale; ne consegue che, anche qualora la relativa proteina venisse sintetizzata, questa non sarebbe funzionale (Verlotta et al., 2010).

Lo studio di un'ampia collezione di genotipi (85) di frumento duro ha evidenziato la presenza, in ciascun genotipo, del gene *Lpx-B1.2* o *Lpx-B1.3* associato con uno degli alleli del gene *Lpx-B1.1*. La determinazione, nelle cariossidi degli stessi genotipi, dell'attività LOX, ha consentito di distinguere tre diversi gruppi: il gruppo di genotipi ad alta attività LOX, ad attività intermedia e a bassa attività; di questi è riportato un campione rappresentativo in figura 5. È interessante osservare come ognuno di questi gruppi possieda un allele diverso del gene *Lpx-B1.1* (fig. 5); in particolare, il gruppo a bassa attività possiede l'allele deleto *Lpx-B1.1c*, il quale, non generando una isoforma

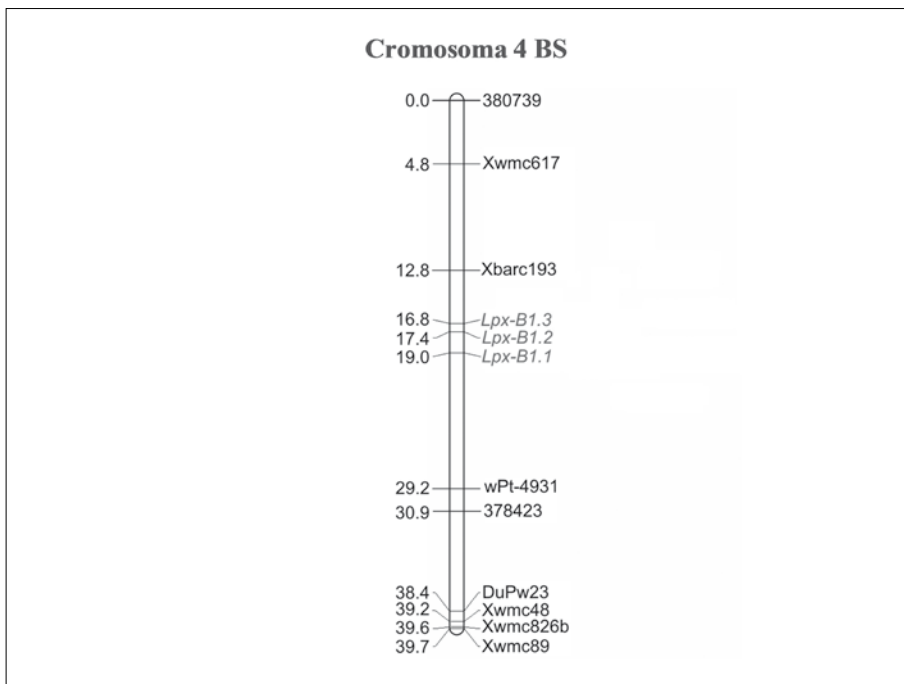


Fig. 4 Localizzazione dei tre geni codificanti per la LOX-1 in frumento duro sul cromosoma 4B

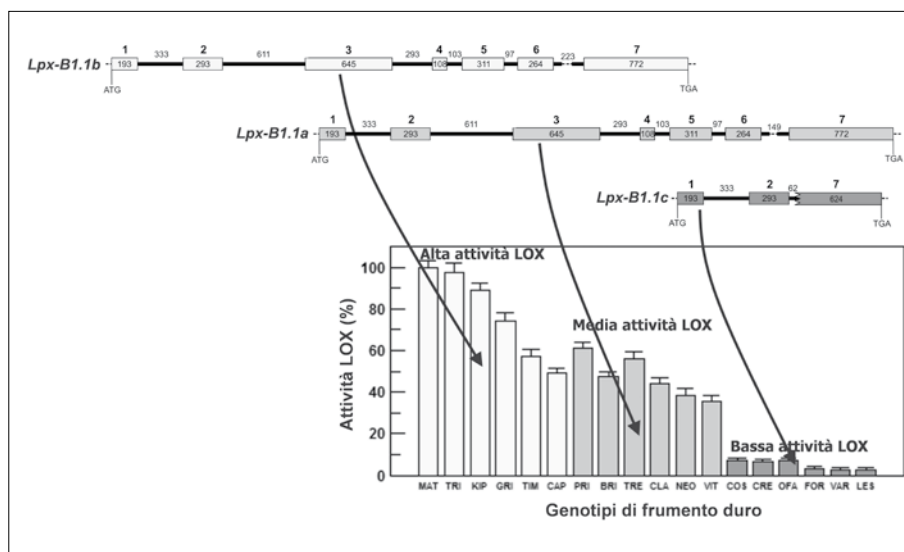


Fig. 5 Attività LOX nelle cariossidi e distribuzione dei tre alleli del gene *Lpx-B1.1* in diversi genotipi di frumento duro

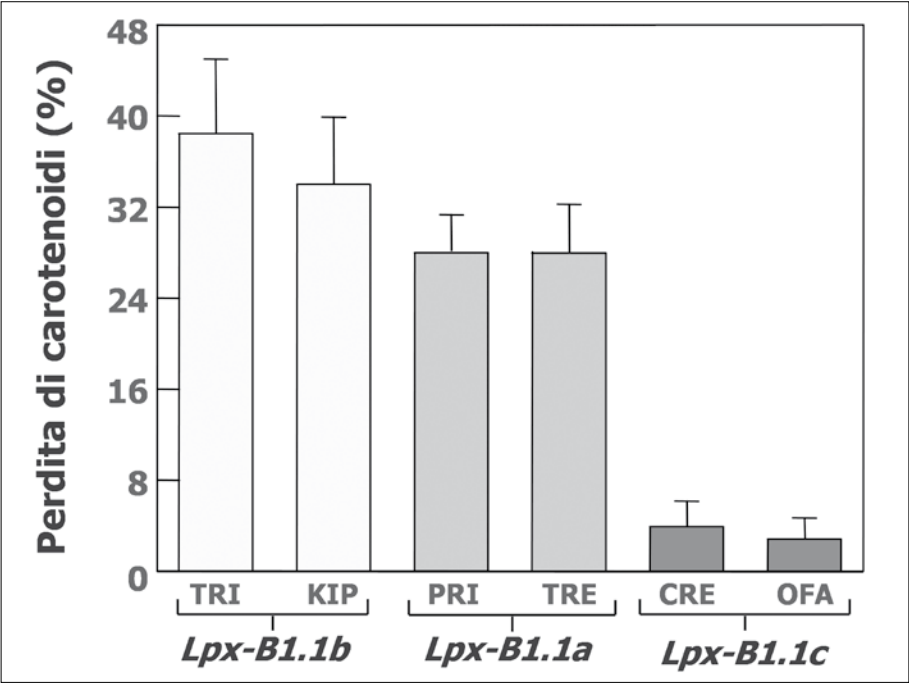


Fig. 6 Perdita percentuale di composti carotenoidi durante il processo di pastificazione in genotipi di frumento duro ad alta, intermedia e bassa attività LOX nelle cariossidi

ISOFORMA	GENE	ALLELE	CROMOSOMA	STADIO
LOX-1	Lpx-B1.1	Lpx-B1.1a	4BS	Semi maturi
		Lpx-B1.1b		
		Lpx-B1.1c		
	Lpx-B1.2	Lpx-B1.2		
	Lpx-B1.3	Lpx-B1.3		

Tab. 5 Diverse isoforme di LOX-1 e relativi geni e alleli in frumento duro

LOX-1 funzionale, è probabilmente responsabile dei bassi livelli di attività che caratterizzano questo gruppo.

Ciò ha delle ricadute importanti sulle proprietà del prodotto finito; infatti, la perdita percentuale di carotenoidi che si verifica durante il processo di

pastificazione è minima nei genotipi che presentano l'allele *Lpx-B1.1c* e una bassa attività LOX nelle cariossidi (fig. 6).

Alla luce di ciò è possibile concludere che nel miglioramento genetico del frumento duro è necessario selezionare genotipi portatori dell'allele *Lpx-B1.1c* al fine di ottenere paste caratterizzate da un elevato contenuto in composti carotenoidi.

BIBLIOGRAFIA

- HERBERT R.B. (1989): *The biosynthesis of secondary metabolites*, Chapman & Hall, London, UK.
- HOLTMAN W.L., VAN DUIJN G., SEDEE N.J.A., DOUMA A.C. (1996): *Differential expression of lipoxygenase isoenzymes in embryos of germinating barley*, «Plant Physiology», 111, pp. 569-576.
- VERLOTTA A., DE SIMONE V., MASTRANGELO A.M., CATTIVELLI L., PAPA R., TRONO D. (2010): *Insight into durum wheat Lpx-B1: a small gene family coding for the lipoxygenase responsible for carotenoid bleaching in mature grains*, «BMC Plant Biology», 10:263, <http://www.biomedcentral.com/1471-2229/10/263>.
- VERPOORTE R. (2000): *Secondary metabolism*, in *Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism*, Verpoorte R. and Alfermann A.W. eds, Kluwer Academic Publishers, pp. 1-29.
- ZHAO J. (2007) *Nutraceuticals, nutritional therapy, phytonutrients, and phytotherapy for improvement of human health: A perspective on plant biotechnology application*, «Recent Patents on Biotechnology», 1, pp. 75-97.

GIUSEPPE MANDOLINO*, CHIARA ONOFRI*, BRUNO PARISI*,
MONICA STURARO*, GIOVANNI GIULIANO**, MARIA SULLI**,
SARAH FRUSCIANTE**, GIANFRANCO DIRETTO**,
GIUSEPPE REFORGIATO RECUPERO***, CONCETTA LICCIARDELLO***

Sviluppo di piante per produrre alimenti biofortificati: alcuni casi-studio

INTRODUZIONE

I vegetali che sono alla base dell'alimentazione umana contengono praticamente tutti i composti nutritivi di cui l'uomo ha bisogno per la sua sopravvivenza; oltre a queste esigenze di base, molti cibi di origine vegetale che sono comunemente presenti sulla nostra tavola, sono anche preziose riserve di molte molecole dotate di un'accertata attività benefica sulla salute e un'azione di prevenzione di diverse malattie.

Nelle società sviluppate, infatti, sono sempre più diffuse l'obesità, il diabete, i disturbi cardio-vascolari, mentre nei paesi in via di sviluppo sono ancora presenti drammatiche carenze di vitamine, di minerali, quando non si deve affrontare l'assoluta carenza di cibo (Everitt et al., 2010).

È quindi un notevole interesse dei consumatori avere consapevolezza di quali cibi sono più adatti a proteggere o mantenere un buono stato di salute, ed è un obiettivo importante del miglioramento genetico lo sviluppo delle potenzialità presenti in molti cibi tipici della nostra tavola, a partire dalla loro caratterizzazione nutrizionale, biochimica e molecolare. Il breeding è oggi un'attività sempre più "assistita" dalle conoscenze di genomica e metabolomica che si stanno accumulando con la ricerca (Saxena e Cramer, 2013; Gibney et al., 2005).

Si stima che i metaboliti presenti in natura nel regno vegetale siano oltre 200.000 (Fiehn, 2002); questa grande varietà di composti presenti nelle

* *Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per le Colture Industriali, Bologna*

** *ENEA, Centro Ricerche La Casaccia, Roma*

*** *Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Agricoltura e le Colture mediterranee, Acireale (CT)*

piante viene di solito suddivisa in metaboliti primari, assolutamente necessari alla sopravvivenza della pianta (es. zuccheri, aminoacidi, acidi grassi, ecc.) e metaboliti secondari che svolgono importanti ruoli nella difesa dai patogeni e dagli stress, nell'attrarre insetti impollinatori, o nel favorire la dispersione del seme, e in generale contribuiscono ad aumentare la *fitness* della pianta. Il metabolita può avere, in tessuti diversi, un ruolo primario o secondario. Ad esempio, nelle foglie il β -carotene è necessario per la fotosintesi, e quindi per la sopravvivenza della pianta e può essere quindi considerato un metabolita primario, mentre in alcuni organi di riserva della pianta, come le radici delle carote, è un metabolita secondario. Sono proprio i metaboliti secondari, a volte molto diffusi nel regno vegetale, a volte strettamente specie- o famiglia-specifici, che spesso posseggono le maggiori proprietà nutritive, farmacologicamente rilevanti, o a volte tossiche (Hounscome et al., 2008; Balandrin et al., 1985).

I metaboliti secondari vengono suddivisi in quattro grandi famiglie di composti (Goldberg, 2003):

- i fenilpropanoidi, che oltre a essere coinvolti nella difesa contro insetti e microbi e in molte caratteristiche legate al colore e al sapore, partecipano anche alla biosintesi della lignina e dei tessuti suberificati; un gruppo di fenilpropanoidi, i flavonoidi, accumulati nei vacuoli, includono gli antociani, importanti pigmenti che contribuiscono alla colorazione rossa, porpora o blu di molti fiori e frutti;
- i terpenoidi, il gruppo più comune nelle piante, costituiti da “blocchi” di unità terpeniche a cinque atomi di carbonio, e che contribuiscono all'aroma, al sapore, al colore dei frutti, e a diversi meccanismi di difesa. Fra questi vi sono oli essenziali, fitoalessine, antibiotici, ormoni come l'acido gibberellico, i brassinosteroidi, i chinoni e – particolarmente importanti sia dal punto di vista della funzione fotosintetica che da quello nutrizionale – i carotenoidi, costituiti da 40 atomi di carbonio;
- gli alcaloidi, che hanno spesso notevoli proprietà farmacologiche ma possono essere anche estremamente tossici (codeina, morfina, nicotina, ecc.);
- i glucosinolati, composti secondari contenenti zolfo, che in seguito a rottura dei tessuti, producono gli isotiocianati, potenti insetticidi naturali con notevoli possibilità applicative industriali e in agricoltura.

I vegetali sono praticamente l'unica fonte accessibile di molti di questi composti, che hanno effetti non solo nutritivi, ma di tutela della salute umana e del benessere generale; di conseguenza, la dieta dev'essere sufficientemente ricca di questi metaboliti da assicurare un corretto apporto nutrizionale.

Può valere come esempio quello dei carotenoidi: nei vertebrati i carotenoidi contenenti un gruppo β -iononico non sostituito, come α - e β -carotene e β -criptoxantina, assunti tramite la dieta, sono convertiti a retinale (vitamina A), la cui deficienza può portare a una serie di sindromi molto gravi, fra cui la cecità. L'attività di questi carotenoidi come precursori della vitamina A è stata anche alla base dei programmi di "biofortificazione" di piante alimentari molto diffuse per il β -carotene, miranti a combattere la grave carenza di questa vitamina che tuttora si registra in molti paesi in via di sviluppo. Tali programmi sono stati condotti sia tramite "breeding" classico (mais, cassava, patata dolce) o, dove non esistevano genotipi abbastanza ricchi di β -carotene (patata, riso), per via transgenica (come il "*Golden rice*" a elevato contenuto di β -carotene) (www.goldenrice.org). Altri carotenoidi, come il licopene, la luteina e la zeaxantina agiscono come antiossidanti e agenti fotoprotettori, e contribuiscono a ritardare o evitare l'insorgenza di malattie come il tumore alla prostata o la degenerazione maculare.

L'importanza nutrizionale di molti metaboliti secondari ha stimolato la ricerca genetica a identificare e sequenziare le caratteristiche dei geni chiave delle rispettive vie biosintetiche, a caratterizzarne dal punto di vista strutturale e funzionale le varianti alleliche che possono dar luogo a nuovi fenotipi di interesse salutistico e nutrizionale, e a esplorare il germoplasma, anche selvatico, delle specie di interesse agrario, alla ricerca di mutanti e genotipi di possibile valore e interesse sia scientifico che commerciale. In queste ricerche hanno svolto un ruolo fondamentale le nuove conoscenze sulle sequenze di interi genomi di specie di interesse agrario, fra cui quelle di pomodoro e patata (The Potato Genome Sequencing Consortium, 2011; The Tomato Genome Consortium, 2012), la cui elevata sentinella ha permesso di trasferire da una specie all'altra le conoscenze via via acquisite, o di specie arboree di notevole importanza per la nostra alimentazione, come l'arancio dolce (Xu et al., 2013). Le strette relazioni filogenetiche esistenti fra specie, per le quali era nota l'intera sequenza genomica e specie di interesse agrario non ancora sequenziate, ha permesso di individuare in queste ultime i geni coinvolti nelle vie metaboliche di sintesi dei composti secondari, sulla base della loro omologia con quelli già individuati nell'altra specie (Peters et al., 2012).

In questa rassegna, si porrà l'accento su due gruppi di composti secondari particolarmente diffusi e importanti per la produzione alimentare, e in particolare per quella tipica italiana: i carotenoidi presenti nelle bacche di pomodoro e nei tuberi di patata, e gli antociani, accumulati in quantità particolarmente elevata nei frutti dell'arancio rosso di Sicilia.

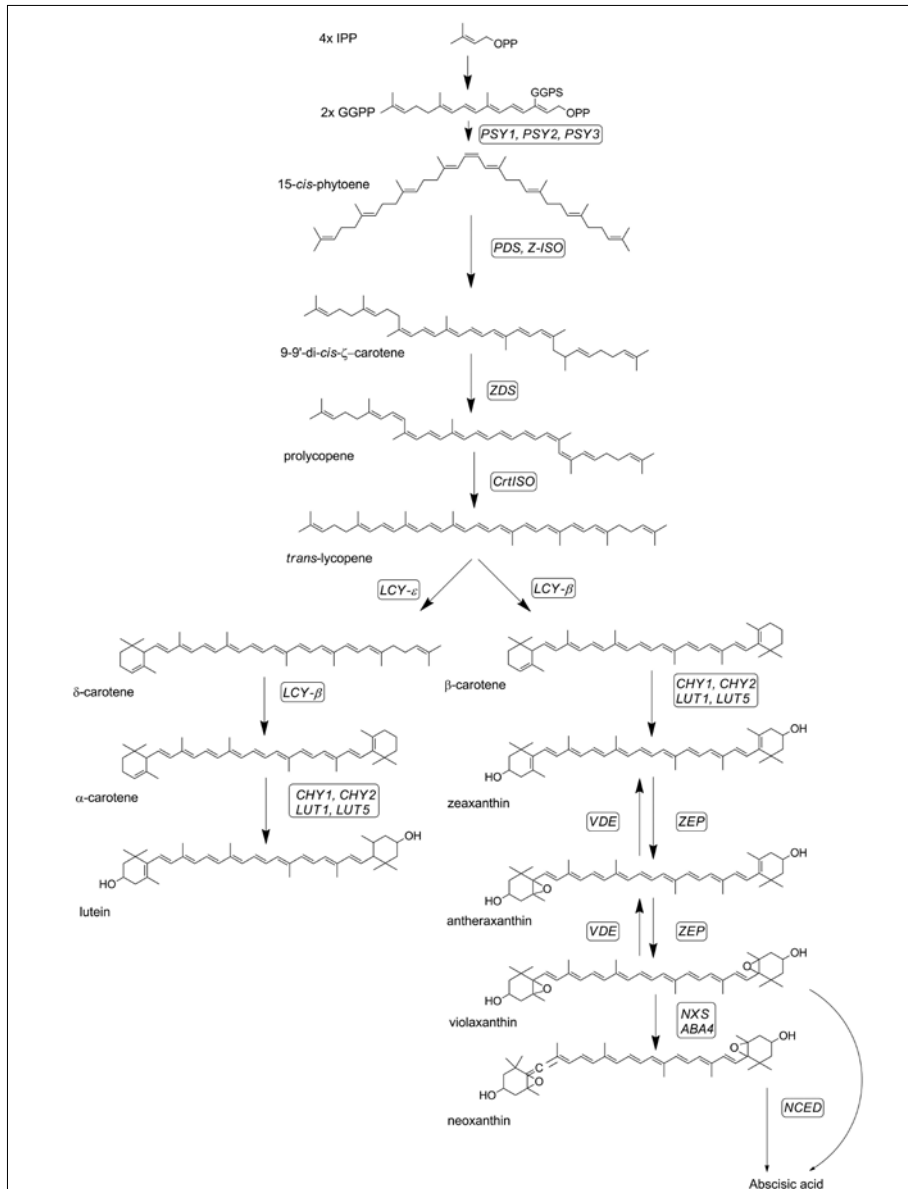


Fig. 1 Schema della via biosintetica dei carotenoidi nelle piante. IPP, isopentenilpirofosfato; GGPP, geranilgeranil pirofosfato. Nei riquadri, gli enzimi che catalizzano i vari passaggi: PSY, fitoene sintasi; PDS, fitoene desaturasi; Z-ISO, 9,15,9'-tri-cis- ζ-carotene isomerasi; ZDS, ζ-carotene desaturasi; CrtISO, prolicopene isomerasi; LCY-ε, licopene ε-ciclasti; LCY-β, licopene β-ciclasti; LUT, e-carotene idrossilasi; CHY, β-carotene idrossilasi; ZEP, zeaxantina epossidasi; VDE, violaxantina deepossidasi; NXS, neoxantina sintasi, NCED, 9-cis-epossicarotenoide diossigenasi

POMODORO: I MUTANTI DELLA VIA BIOSINTETICA DEI CAROTENOIDI

La bacca del pomodoro, uno degli alimenti-simbolo della dieta mediterranea, è particolarmente ricca di composti di elevato valore nutrizionale quali zuccheri semplici, diversi chinoni (terpenoidi precursori della vitamina K), aminoacidi importanti, vitamine B e C, e carotenoidi (Rick, 1978). In particolare nelle bacche di pomodoro è elevato il contenuto di licopene e β -carotene, due carotenoidi importanti per la loro attività antiossidante, ma anche, come già discusso, perché il β -carotene è un diretto precursore nella sintesi della vitamina A.

La via della biosintesi dei carotenoidi (fig. 1) nelle bacche di pomodoro è oggetto di studi da molti anni (Bartley et al., 1996), dato il forte interesse economico di questo prodotto; il pomodoro è diventata una pianta modello per questo tipo di studi (Giuliano et al., 1993; Fray et al., 1993), che negli anni precedenti venivano effettuati solo su organismi batterici. L'identificazione di una serie di mutanti con una pigmentazione alterata della bacca matura ha permesso la ricostruzione precisa dei vari *step* metabolici, e in seguito il clonaggio e il sequenziamento di quasi tutti i geni della via biosintetica, e di molte varianti alleliche ai diversi *loci* genici. Alcuni di questi mutanti, e gli effetti di singole mutazioni nella determinazione del fenotipo finale, sono illustrati nella figura 2a, nella quale sono indicate con una croce o con una freccia le mutazioni a carico di determinati passaggi della via biosintetica, a seconda che il loro effetto consista in una specifica perdita o guadagno di funzione enzimatica.

Come atteso, a molti di questi mutanti corrispondono fenotipi differenti nei colori della bacca, ma soprattutto nell'accumulo differenziale di specifici precursori o carotenoidi; le tecniche di metabolomica a elevata processività consentono oggi la caratterizzazione fine di questi mutanti ed è possibile quindi non solo confermare gli effetti previsti sulla base della natura delle mutazioni, ma anche identificare eventuali effetti pleiotropici. Una delle tecniche utilizzate presso il Laboratorio di Biotecnologie Verdi del Centro Ricerche Casaccia dell'ENEA, è la LC-PDA-MS (Liquid Chromatography – Photodiode Array – Mass Spectrometry), mediante la quale sono stati caratterizzati i livelli dei diversi carotenoidi sia nei mutanti di pomodoro, sia nel germoplasma di patata (vedi oltre). La LC-PDA-MS aggiunge alla capacità di risoluzione dell'HPLC e all'ottenimento di spettri accurati on line, la possibilità di determinare le masse molecolari dei composti. Costituisce pertanto uno degli strumenti più potenti a disposizione oggi per analisi metaboliche, che è stato in grado di identificare 47 carotenoidi diversi nella bacca

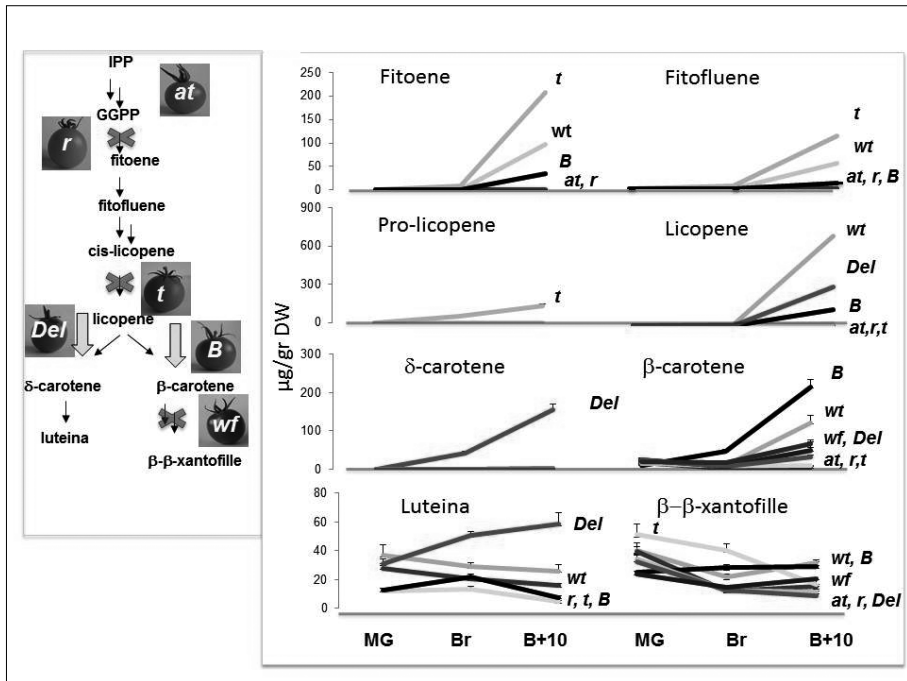


Fig. 2 Localizzazione schematica dei siti di alcune mutazioni della via biosintetica dei carotenoidi in pomodoro e analisi metabolomica delle bacche. Nel pannello 2a, schema della via biosintetica; le croci e le frecce indicano le localizzazioni di alcune mutazioni a perdita o guadagno di funzione rispettivamente: at, mutante apricot (dati non pubblicati); r, mutante yellow flesh (Fray et al., 1993); t, mutante tangerine (Isaacson et al., 2002); Del, mutante Delta (Ronen et al., 1999); B, mutante Beta (Ronen et al., 2000); wf, mutante white flower (Galpaz et al., 2006). Nel pannello 2b, esempi del profiling metabolico di alcuni mutanti mediante LC-DAD-MS a diversi stati di sviluppo della bacca.

del pomodoro (Fantini et al., 2013). I carotenoidi accumulati nella bacca di vari mutanti di pomodoro e nei genotipi *wild-type* sono stati quantificati durante la maturazione, nelle fasi “Mature Green”, “Breaker” e “Post-breaker”, verificando gli effetti della perdita o guadagno di funzione di cui i diversi mutanti sono portatori (fig. 2b). I singoli carotenoidi si accumulano in misura maggiore o minore a seconda di dove sia la perdita o il guadagno di funzione lungo la via biosintetica; nel mutante *tangerine* (t; Isaacson et al., 2002), ad esempio, che ha perso la funzione di isomerizzazione del *cis*-licopene a *trans*-licopene, a partire dalla fase di *breaker* (bacca in cui il verde comincia a virare al giallo-rosa nel 10% della superficie), si nota un maggior accumulo di tutti i metaboliti a monte della perdita di funzione (fitoene, fitofluene, *cis*-licopene),

e una carenza invece di tutti i metaboliti a valle. Da notare che il licopene è il carotenoide predominante nella bacca di pomodoro (e quello di maggior interesse salutistico); le analisi mostrano che nelle bacche dei genotipi *wild-type* il licopene è presente nella sua forma *all-trans*, mentre nel siero e nei tessuti umani, è sempre presente prevalentemente nella forma *cis*, fatto questo che suggerisce una maggiore biodisponibilità dell'isomero *cis* (Boileau et al., 2002), e quindi uno specifico valore del mutante *tangerine*, la cui mutazione porta appunto ad accumulare l'isomero *cis*, più biodisponibile. Va comunque notato che un'estensiva isomerizzazione del licopene dalla forma *all-trans* alla forma *cis* avviene nelle cellule intestinali (Richelle et al., 2010).

Altri mutanti caratterizzati per perdita o guadagno di funzione in specifici *step* della via dei carotenoidi accumulano specifici carotenoidi; il mutante *Delta* (*Del*), ad esempio, sovraesprime la licopene- ϵ -ciclasi (Ronen et al., 2002), che converte il *trans*-licopene in δ -carotene, e mostra a maturità elevati livelli di questo carotenoide e di luteina, il carotenoide immediatamente più a valle, mentre ha livelli bassi delle altre xantofille, che vengono formate nella seconda diramazione del tratto finale della via biosintetica (fig. 1 e 2a). Il mutante *Beta* (*B*, fig. 2a) sovraesprime invece una licopene- β -ciclasi (Ronen et al., 2000) e questo guadagno di funzione porta alla situazione opposta a quella discussa per il mutante *Del*, con un forte accumulo soprattutto di β -carotene (fig. 2b).

Questi esempi evidenziano come negli ultimi 20 anni siano stati individuati nel pomodoro tutti i principali mutanti della via biosintetica dei carotenoidi, e come questi siano stati caratterizzati dal punto di vista del livello e tipo dei carotenoidi accumulati (e quindi potenzialmente interessanti dal punto di vista nutrizionale). L'analisi genetica ha portato poi a individuare i geni responsabili e a studiarne le caratteristiche strutturali e funzionali. Le sequenze dei geni responsabili dei fenotipi mutanti in pomodoro hanno consentito successivamente di identificare i geni omologhi in altre specie di Solanacee, infine utilizzate come *markers* nella selezione assistita.

ARANCIO ROSSO: BIOLOGIA MOLECOLARE DI UN PRODOTTO IGP

L'arancio rosso di Sicilia (*Citrus sinensis*), coltivato esclusivamente in alcune zone delle province di Siracusa e Catania, riconducibile a un gruppo di selezioni derivate dalle varietà Tarocco, Moro e Sanguinello, ha ricevuto nel 1997, con circolare del Ministero delle Politiche Agricole, lo status di "IGP" (Indicazione Geografica Protetta). Ciò che caratterizza i frutti dell'arancio rosso di Sicilia è un marcato accumulo di pigmenti rossi nella buccia,

nella polpa, o in entrambi i tessuti. Tali pigmenti rientrano nel gruppo degli antociani, composti fenilpropanoidi accumulati nei vacuoli delle cellule dei frutti.

La ricerca genetica ha studiato in grande dettaglio i fattori che contribuiscono alla comparsa di questo prezioso fenotipo; in particolare, nel caso dei frutti dell'arancio rosso i fattori che intervengono sono sia genetici che ambientali, fatto quest'ultimo che giustifica pienamente l'adozione e il significato dell'IGP. In particolare, il CRA-ACM, con la collaborazione di alcune istituzioni italiane (Università cattolica, Fondazione di Ricerca e Cura "Giovanni Paolo II", Campobasso; Istituto Europeo di Oncologia (IEO), Milano; DISTAM, Divisione di nutrizione umana, Milano; Congenia Srl, Milano; Dipartimento di Scienze biomolecolari e biotecnologia, Università di Milano) ed estere (John Innes Center di Norwich), ha svolto negli anni una intensa attività di caratterizzazione sia del valore salutistico dei composti contenuti nel germoplasma dell'arancio pigmentato, sia dei suoi determinanti fattori genetici. Infatti, se le antocianine da un lato determinano particolari qualità attrattive del frutto per il loro colore rosso brillante, dall'altro esercitano un ruolo ancora più importante per le loro proprietà farmacologiche e antiossidanti, ancora attivamente studiate sia in modelli animali che nell'uomo. È stato evidenziato, nella letteratura medica specialistica, il ruolo di una dieta ricca in antociani dal punto di vista del controllo dell'obesità e del diabete, della prevenzione delle malattie cardiovascolari, del miglioramento delle funzioni visive e cerebrali, e di altri possibili effetti benefici ancora (Tsuda, 2012). Alcune ricerche recenti, condotte sui topi associando a una dieta particolarmente ipercalorica succo di arancio rosso, biondo o acqua, hanno messo in evidenza un interessante effetto dimagrante da ascrivere al gruppo di antociani specificamente presenti nelle arance di Sicilia (cianidine, delphinidine e peonidine) e assenti nel germoplasma biondo; l'attività antiossidante ORAC del succo proveniente dalle arance Moro, Tarocco e Sanguinello varia infatti da 1700 a 2800 μmol di Trolox-equivalenti/100 mL di succo, mentre l'attività nel succo di arance bionde (es. cvs. Navel, Valencia e Vaniglia) resta sotto i 1400 μmol di TE/100 mL. Alla forte attività antiossidante del succo dell'arancia rossa si aggiungono evidenze sperimentali su modelli animali della sua azione anti-obesità (Titta et al., 2010), mentre eventuali effetti sinergici con altri composti presenti nei frutti e il meccanismo di azione nell'organismo umano, sono ancora oggetto di studio (Titta et al., 2010; Tsuda, 2012).

Quali sono i geni che determinano l'accumulo di questi antociani nei frutti dell'arancio rosso di Sicilia e quindi così forti effetti salutistici? La ricerca genetica ha preso in considerazione sia i geni strutturali e le loro eventuali va-

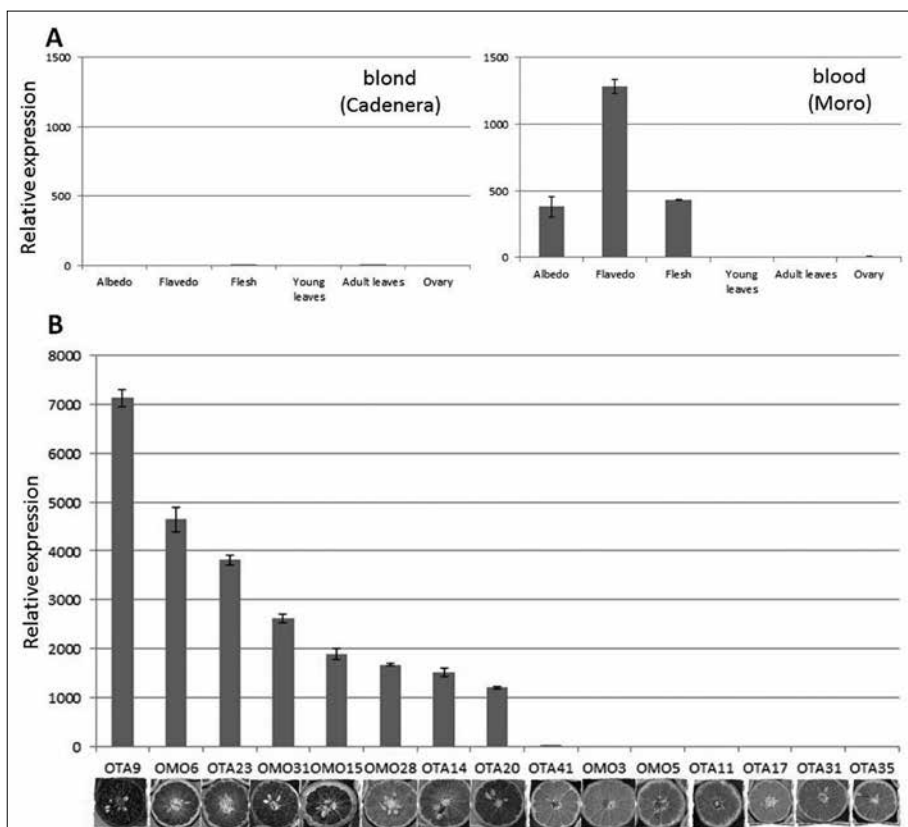


Fig. 3 A, trascrizione tessuto-specifica del gene *Ruby* nei frutti di arancio rosso; B, livelli di trascrizione del gene *Ruby* nei frutti di germoplasma di *Citrus* a diverso grado di pigmentazione.

rianti, sia i geni regolatori la cui attività potrebbe influenzare l'azione dei geni strutturali. In particolare, i livelli di trascrizione di un gene codificante per uno specifico fattore di trascrizione, chiamato *Ruby*, sono risultati correlare con l'accumulo di antocianine nelle arance rosse. Per arrivare a questo risultato, il trascritto di *Ruby* è stato verificato essere presente nei tessuti variamente pigmentati di arancio Moro, e comparato con la totale assenza nei corrispondenti tessuti delle varietà non pigmentate (fig. 3b). Inoltre, una collezione di germoplasma di *Citrus* a varie gradazioni di pigmentazione nella polpa è stata esaminata, verificando la presenza del trascritto di *Ruby* in relazione al contenuto di antociani (fig. 3b) (Butelli et al., 2012).

Per comprendere i dettagli strutturali del gene coinvolto nella determinazione della pigmentazione, il gene candidato *Ruby* è stato sequenziato in un ampio germoplasma del genere *Citrus*, comprendente il pummelo (*C. ma-*

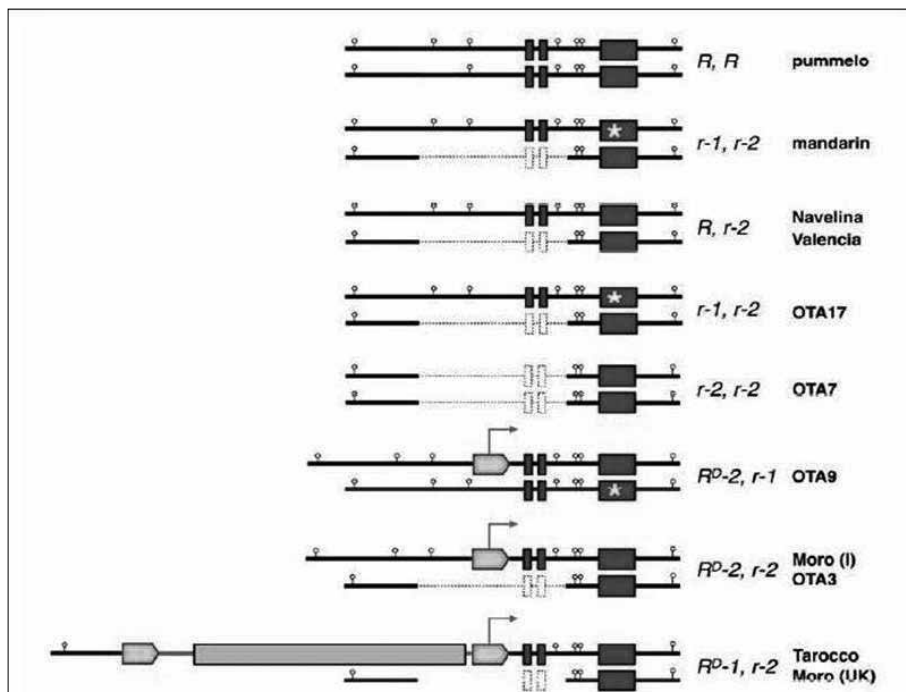


Fig. 4 Struttura fine del gene Ruby (in grigio scuro) nel germoplasma di Citrus. Gli asterischi indicano mutazioni nonsense, le parti punteggiate le delezioni, (vedi testo), le frecce rappresentano gli elementi LTR del retrotrasposone Tcs1 (in grigio chiaro). Le frecce rivolte in alto e a destra indicano il sito di inizio di trascrizione di Ruby. Figura tratta da Butelli et al. (2012)

xima) e il mandarino (*C. reticulata*), oltre che numerose varietà di arancio biondo e rosso, e le sequenze sono state confrontate. Nella regione codificante del gene *Ruby*, il lavoro di sequenziamento ha in effetti messo in luce una notevole quantità di “varianti” del gene, ma in nessun caso si poteva mettere in diretta relazione una specifica variante con il fenotipo pigmentato. Ad esempio, una variante integra del gene, priva sia di mutazioni *non senso* che di delezioni, è presente sia nel pummelo che nella varietà non pigmentata Navelina, oltre che nelle varietà Moro e Tarocco. Si è quindi ipotizzato che le forti differenze di trascrizione nel gene Ruby fossero dovute alle regioni regolatrici del gene. In effetti, il sequenziamento di queste regioni ha evidenziato un’inserzione di 5413 bp a monte del sito di inizio di trascrizione di Ruby, la cui sequenza mostra le caratteristiche di un retrotrasposone (Tcs1) *copialike*, fiancheggiato da due sequenze ripetute in tandem (LTR, *long tandem repeats*) di 501 bp alle estremità, e codificante, come tutti i retrotrasposoni attivi, proteine *Gag* e *Pol* complete e funzionanti, necessarie per la trascrizione

inversa e l'integrazione nel genoma ospite. Questo retrotrasposone (o almeno una delle sequenze LTR fiancheggianti, e per l'esattezza la 3' LTR) è sempre presente nel germoplasma pigmentato, e assente nel germoplasma biondo (fig. 4), tanto che questa particolare sequenza non è stata trovata nel recente sequenziamento dell'arancio biondo (<http://phytozome.net>). Inoltre, dal momento che le sequenze di Tcs1 identificate nel germoplasma pigmentato risultano identiche, si deve supporre che l'inserzione nel genoma dell'arancio, che ha dato origine alla linea pigmentata, sia relativamente recente (Butelli et al., 2012). In ogni caso, il sito di inizio della trascrizione del gene *Ruby* è stato individuato in una adenina 551 bp a monte del codone di inizio ATG, cadendo quindi in corrispondenza di uno degli elementi LTR del retrotrasposone Tcs1. In assenza di questo elemento, il gene *Ruby* non può essere trascritto, e il frutto risulta non accumulare antocianine, mentre in presenza delle 3' LTR, il gene *Ruby* può essere trascritto e il frutto sarà pigmentato.

Normalmente, la trascrizione dei retroelementi attivi come Tcs1 è repressa dal genoma dell'ospite, ma gli stress abiotici possono innescarla. È quello che accade anche nel caso di Tcs1 nel germoplasma pigmentato, nel quale le basse temperature (o meglio, la forte escursione termica fra giorno e notte) rappresentano l'elemento finale in grado di indurre il fenotipo tipico delle arance rosse di Sicilia (Butelli et al., 2012). Quello di questi frutti è pertanto un caso di una complessa interazione fra elementi genetici della pianta, elementi retrotrasponibili di origine virale, e specifiche condizioni climatiche, che concorrono a produrre l'accumulo degli antociani nel frutto, con tutte le potenzialità per la salute umana che ne derivano.

PATATA: BIOCHIMICA DEL COLORE DELLA PASTA

Solo recentemente le proprietà nutrizionali e salutistiche del tubero di patata (*Solanum tuberosum*) sono state pienamente riconosciute (Ezekiel et al., 2013). Oltre a una ben nota e ricca fonte di vitamina C e di sali minerali, negli ultimi anni i tuberi di patata sono stati al centro dell'attenzione anche per la loro capacità di accumulare carotenoidi e antociani. Esistono infatti nel germoplasma selvatico e coltivato di patata tutte le tonalità del colore della pasta, dal bianco quasi perfetto delle cv. Federica o Daifla e della specie selvatica *Solanum chacoense*, fino al giallo intenso delle cv. Regina e Melrose, e addirittura al giallo arancione di molte varietà diploidi di origine andina e della specie *Solanum phureja* da cui originano. Queste ultime varietà sono state riscoperte e rilanciate recentemente nella nicchia di mercato dei prodotti

“etnici” e si è assistito in anni recenti alla registrazione da parte di alcune fra le maggiori aziende sementiere di varietà diploidi, in verità poco produttive data la loro origine dalla specie selvatica *Solanum phureja*, ma dotate di caratteristiche nutrizionali interessanti, quali la capacità di accumulare nel tubero maturo elevate quantità di carotenoidi, composti la cui natura di anti-ossidanti, di precursori della vitamina A e di protettori da alcune malattie degenerative è stata discussa precedentemente (Brown et al., 2007). Nella tabella 1 sono riassunte le quantità di carotenoidi totali accumulate nei tuberi di alcune varietà di *Solanum*, rappresentative del germoplasma a pasta bianca, gialla o arancio rispettivamente; si noti come quantità particolarmente basse di carotenoidi vengano sintetizzate dalla specie selvatica *Solanum chacoense*, che produce piccoli tuberi a pasta bianca non commestibili a causa dell’elevato contenuto di glicoalcaloidi tossici.

L’interesse all’ottenimento di tuberi di patata a elevato contenuto di carotenoidi ha focalizzato l’attenzione di *breeders* e genetisti sulla possibilità di “biofortificare” i tuberi di patata (la terza coltura nel mondo come produzione) sia attraverso interventi di miglioramento genetico tradizionale, che mediante lo sviluppo di varietà transgeniche (Rosati et al., 2009).

Le patate transgeniche biofortificate sono state ottenute presso vari laboratori, fra cui il Centro Ricerche Casaccia dell’ENEA, o mediante trasformazione con geni batterici del *pathway* della biosintesi dei carotenoidi (Diretto et al., 2007a) o attraverso il silenziamento di geni come quello codificante per la licopene- ϵ -ciclasi, che favorisce l’accumulo di β -carotene e xantofille a scapito della luteina (Diretto et al., 2007b).

Tuttavia, la scarsa accettazione di prodotti transgenici da parte del consumatore, pur a fronte di una forte richiesta di cibi con caratteristiche nutrizionali e salutistiche elevate, ha indotto molti selezionatori a sviluppare varietà di patata ricche di carotenoidi mediante metodi tradizionali, e a studiare in dettaglio il germoplasma di *Solanum*, cercando di identificare gli effetti fenotipici delle varianti alleliche presenti ai diversi loci genici coinvolti, sequenziando tali varianti e associandole mediante analisi genetica all’accumulo di specifici profili di carotenoidi nei tuberi.

In questo tipo di ricerche, come già visto per il pomodoro, la determinazione del profilo di carotenoidi, mediante LC-PDA-MS, svolta presso il Laboratorio di biotecnologie verdi del Centro Ricerche Casaccia dell’ENEA, è risultata la tecnica di *metabolic profiling* d’elezione da affiancare all’analisi genetica e del germoplasma svolta presso il Centro di Ricerca per le Colture Industriali; in quest’ultimo Centro del CRA è infatti presente un’ampia collezione di varietà di patata, e vengono inoltre sviluppati nuovi cloni bioforti-

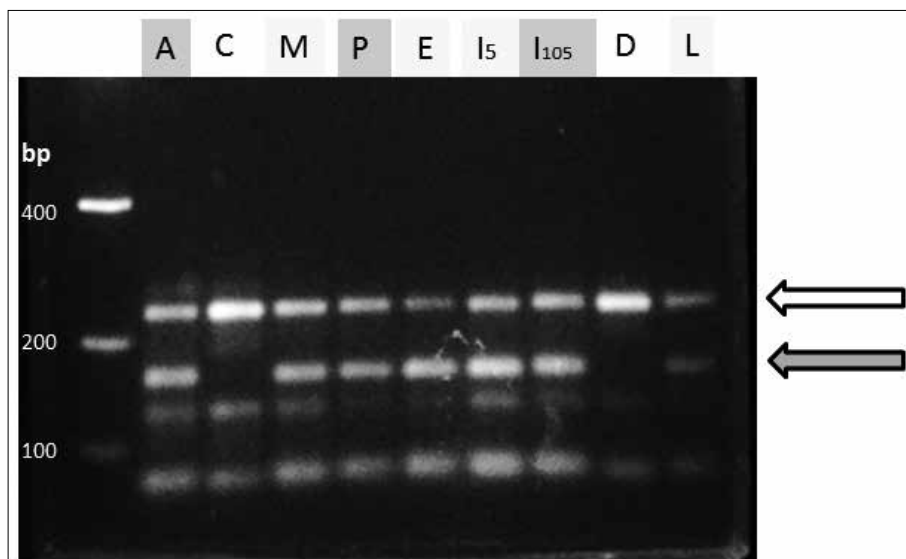


Fig. 5 Il gene *Chy2* per la β -carotene idrossilasi. Pannello A, il marcatore PCR che identifica il frammento da 163 bp specifico dell'allele 3 (anche denominato allele B) dominante, che determina l'accumulo di carotenoidi nei tuberi (freccia grigia); il frammento da 237 (freccia bianca) è diagnostico della versione recessiva del gene *Chy2* (alleli 2 o 5). Le lettere sopra l'immagine del saggio PCR si riferiscono ad alcuni genotipi a pasta bianca (C, S. chacoense; D, cv. Daifla), arancio (A, cv. Andean Sunrise; P, cv. Papa Pura, I₁₀₅, clone ISCI105/7-08) o gialla (M, cv. Mayan Gold; E, clone E60/1; I₅, cv. Melrose, L, cv. Laura).

ficati mediante miglioramento genetico tradizionale.

Il primo gene identificato come strettamente associato alla capacità di accumulare carotenoidi nei tuberi è stato il gene per la β -carotene idrossilasi 2 (*Chy2*). Questo enzima è responsabile della conversione del β -carotene in zeaxantina (fig. 1), è presente in molte varianti alleliche di cui solo una, dominante (allele 3), è sempre associata alla pasta del tubero color giallo o arancio, e quindi a un significativo accumulo di carotenoidi (Brown et al., 2006). Gli alleli recessivi finora identificati sono invece ben 10 (Wolters et al., 2010; Sturaro et al., 2012), e le varietà a pasta bianca sono omozigoti o eterozigoti per una qualsiasi combinazione di questi ultimi (gli alleli recessivi più comuni nel germoplasma bianco sono il 2 ed il 5), ma sono sempre prive dell'allele 3. La correlazione fra il livello di trascrizione del gene *Chy2* e l'accumulo di carotenoidi è stata in seguito dimostrata e confermata anche in tutte le varietà elencate in tabella 1 (Wolters et al., 2010; Sturaro et al., 2012), e sono stati sviluppati marcatori basati su saggi PCR in grado di "screenare" rapidamente materiale di *breeding* per identificare, in programmi di selezione assistita, i

	Genotipo	Specie	Ploidia	Contenuto di carotenoidi ($\mu\text{g/g DW}$)
varietà a pasta arancio	Yema de Huevo	<i>S. phureja</i>	2 n	n.d.
	Andean Sunrise	„	„	21.26 \pm 1.84
	Papa Pura	„	„	29.68 \pm 2.21
	ISCI 105/7-8	„	„	17.06 \pm 1.29
varietà a Pasta gialla	Mayan Gold	„	„	35.25 \pm 2.67
	E60	<i>S. tuberosum</i>	4 n	16.24 \pm 1.81
	Fontane	„	„	15.50 \pm 2.34
	Laura	„	„	30.12 \pm 1.98
varietà a pasta bianca	ISCI 5/03-1	„	„	25.06 \pm 1.52
	Daifla	„	„	4.74 \pm 0.36
	<i>S. chacoense</i>	<i>S. chacoense</i>	2 n	1.74 \pm 1.07

Tab. 1 Confronto del contenuto totale di carotenoidi in alcune varietà e specie di *Solanum* a diverso colore della pasta.

portatori delle varianti dominanti e recessive di questo gene-chiave per l'accumulo di carotenoidi (fig. 5).

Tuttavia il carattere dell'accumulo di carotenoidi nei tuberi è complesso e certamente diversi geni concorrono al fenotipo finale. Il *profiling* metabolico dei tuberi maturi identifica chiaramente, nel germoplasma che reca almeno una copia dell'allele dominante per la β -carotene idrossilasi 2, due diversi gruppi che si differenziano non per il contenuto di carotenoidi totali, che è piuttosto simile (tab. 1), ma per il tipo di carotenoide accumulato.

Il primo gruppo di varietà e cloni corrisponde alle varietà a pasta gialla, colore che può essere anche molto intenso. Tale colorazione è data da un accumulo di diversi carotenoidi, fra i quali la proporzione maggiore è sempre data dall'antexantina, con proporzioni minori ma significative di luteina, violaxantina, e infine zeaxantina e neoxantina. I carotenoidi in forma esterificata pure sono presenti in queste varietà in percentuali molto elevate, fino al

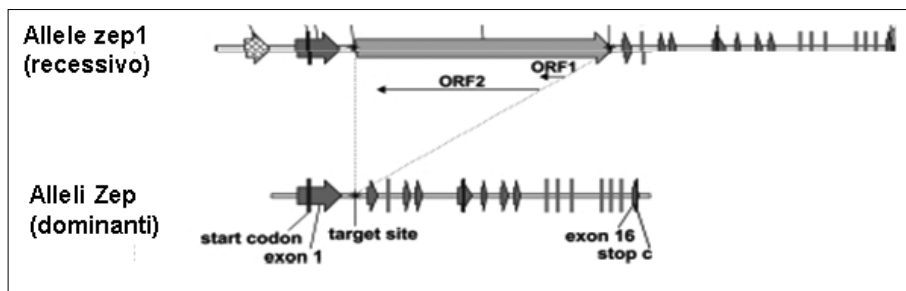


Fig. 6 Confronto fra la struttura in introni (linee orizzontali) ed esoni (frecche orientate a destra) dell'allele recessivo *zep1* caratteristico delle varietà a pasta arancio (in alto) e quella degli alleli dominanti *Zep* presenti nelle varietà a pasta gialla (in basso). Si noti la presenza di un trasposone da 4100 bp inserito nel primo introne (barra grigia spessa), e di una delezione da 49 bp nel 4° introne dell'allele *zep1*

40% dei carotenoidi totali. Il secondo gruppo, che include le varietà diploidi di origine andina derivanti dalla specie selvatica *Solanum phureja*, invece, accumulano la zeaxantina in quantità nettamente superiore a tutti gli altri carotenoidi (oltre il 75%), ed è questa caratteristica che conferisce loro il colore della pasta arancione. Oltre alla zeaxantina, sono presenti piccole quantità di luteina e anteraxantina, e pochi esteri.

Quali sono i determinanti genetici che provocano questa netta differenziazione? Abbiamo visto che il gene *Chy2* è responsabile solo della capacità di accumulare carotenoidi o meno, ma non determina lo specifico profilo di carotenoidi accumulati.

Recenti ricerche indicano che il gene che maggiormente determina la proporzione di zeaxantina sul totale dei carotenoidi (che differenzia il gruppo di varietà a pasta gialla da quelle a pasta arancio) è *ZEP*, che codifica la zeaxantina epossidasi, l'enzima che converte la zeaxantina nelle altre xantofille (violaxantina, neoxantina, ecc.). Anche in questo caso, la presenza di un allele "difettivo" per questo enzima, denominato *zep1*, è sufficiente, se presente allo stato omozigote, a provocare un accumulo di zeaxantina e quindi una carenza di tutti i carotenoidi a valle (Wolters et al., 2010). È interessante notare che anche nella determinazione del fenotipo "arancio" nella pasta dei tuberi (alta zeaxantina) è coinvolto un trasposone (fig. 6). Le analisi di sequenza sull'allele *zep1* infatti hanno messo in luce la presenza di un elemento trasponibile di 4.102 bp inserito nel primo introne e di una delezione di 49 bp nel quarto introne del gene *Zep*. Le ipotesi correnti suggeriscono che il trasposone alteri il "processamento" (splicing) e quindi la maturazione del trascritto primario (Wolters

et al., 2010). Tutte le varietà di colore arancio appartenenti al gruppo dei genotipi andini diploidi, sono omozigoti per l'allele *zep1*, e questo spiega il forte accumulo di zeaxantina in questi genotipi, mentre tutte le varietà a pasta gialla hanno almeno una copia delle varianti dominanti *Zep*, prive di trasposone, che vengono correttamente trascritte, consentendo così all'enzima di "smaltire" la zeaxantina nei carotenoidi a valle. È anche da notare che la elevata proporzione di zeaxantina, se è un carattere interessante dal punto di vista nutrizionale, è però associata anche a un grosso difetto tecnologico dei tuberi: una scarsissima dormienza, che fa sì che i tuberi delle varietà a pasta arancio siano del tutto inadatti a una prolungata conservazione, dal momento che germogliano molto rapidamente. Questa caratteristica negativa è dovuta al fatto che fra i prodotti finali di degradazione dei carotenoidi c'è anche l'acido abscissico (ABA, fig. 1), responsabile della dormienza delle gemme, e il blocco metabolico a livello della zeaxantina nei tuberi a pasta arancio ha come conseguenza, oltre alla scarsità dei carotenoidi a valle della zeaxantina, anche bassissimi livelli di ABA nei tuberi (Rosati et al., 2009).

Recenti ricerche sembrano anche indicare che non tutti gli alleli *Zep* dominanti (ne esistono almeno una dozzina) siano ugualmente associabili a una zeaxantina epossidasi perfettamente funzionale. La varietà che il Centro di Ricerca per le Colture Industriali del CRA ha recentemente iscritto al registro, Melrose, ha infatti 4 diversi alleli *Zep* dominanti (*Zep2/Zep3/Zep4/Zep5*), ma l'analisi genetica e il *profiling metabolico* della sua progenie da autofecondazione indicano che, associata alla segregazione degli alleli in diverse combinazioni, viene modulata anche la proporzione di zeaxantina accumulata, suggerendo che l'effetto fenotipico dei diversi alleli non sia, come ritenuto fino a oggi, del tutto equivalente, e indicando nuove strade per il *breeding* di varietà ad alta proporzione di zeaxantina, ma comunque capaci di produrre tuberi con un buon grado di dormienza.

CONCLUSIONE

I casi-studio sopra descritti mostrano come la ricerca genetica, supportata dall'avanzamento delle conoscenze sulle sequenze genomiche delle specie di interesse nutrizionale, e dallo sviluppo delle tecnologie di analisi dei composti in essi contenuti, abbia potuto negli ultimi anni arrivare a una comprensione dei determinanti genetici e ambientali e delle caratteristiche nutrizionali di molte specie che entrano nella nostra dieta quotidiana. Ab-

biamo anche cercato di descrivere come alcune importanti caratteristiche di questi prodotti siano associabili a specifiche mutazioni o varianti alleliche in pochi geni, e infine che alcuni elementi trasponibili giocano un ruolo importantissimo nel modellare il genoma delle specie agrarie, generando variabilità per caratteristiche legate al valore nutrizionale e alle proprietà salutistiche del prodotto finale.

RIASSUNTO

Negli ultimi decenni lo sviluppo di nuove varietà di piante coltivate si è sempre più basato sull'accumularsi di conoscenze riguardanti i geni responsabili dei caratteri che conferiscono alle colture un elevato valore aggiunto, nutrizionale, salutistico o industriale.

I casi-studio che vengono presentati riguardano tre importanti colture: il pomodoro, l'arancio e la patata.

Nel pomodoro, sono noti da tempo numerosi mutanti con perdita o guadagno di funzione in diversi passaggi enzimatici della via biosintetica dei carotenoidi, composti a elevato valore nutrizionale e salutistico presenti in abbondanza nella bacca (ad esempio il licopene). Tali mutanti hanno fenotipi specifici, determinati dall'accumulo dei carotenoidi a valle e/o a monte del punto in cui si trova la funzione enzimatica mutata. Oltre ad aver costituito un importante strumento per la comprensione della via di sintesi dei carotenoidi, questi mutanti hanno un potenziale valore nutrizionale e costituiscono la base per molte innovazioni varietali.

L'arancio rosso, un importante prodotto IGP italiano, è tale essenzialmente perché un gene regolatore-chiave della biosintesi degli antociani (i composti che accumulandosi nel frutto conferiscono il caratteristico colore rosso) è presente in tutto il germoplasma dell'arancio, ma solo nella varietà rosse reca un elemento genetico trasponibile "aggiuntivo"; tale elemento conferisce al gene la possibilità di essere trascritto (anche con il concorso di basse temperature notturne), attivando così i geni strutturali per la biosintesi delle antocianine.

Infine, la varietà di colore della pasta dei tuberi di patata, già da tempo sfruttata dai *breeder*, e dovuta anche in questo caso all'accumulo di alcuni carotenoidi nei tuberi, è stata studiata a livello genetico, consentendo di capire che alcuni geni-chiave che controllano la via biosintetica dei carotenoidi sono presenti nel germoplasma in numerose varianti alleliche, e che la presenza o combinazione di alcuni di questi alleli in specifici *loci* genici, determina l'accumulo (pasta gialla o giallo-arancio) o la mancanza (pasta bianca) di carotenoidi nel tubero.

I casi studio presentati evidenziano quindi sia l'importanza della ricerca genetica per la comprensione dei tratti che conferiscono valore nutrizionale a un alimento, sia la necessità del mantenimento e dello studio del più ampio germoplasma possibile, allo scopo di introgredire caratteri e alleli utili nel corso del miglioramento genetico.

ABSTRACT

Development of plants for the production of biofortified food. Three cases. The increasing knowledge of the structure and function of the genes conferring to cultivated plants a high nutritional, health and qualitative value, is strongly influencing the development of new varieties. The cases of tomato, blood orange and potato are presented here.

In tomato, several genotypes have been identified as gain- or loss-of-function mutants at different enzymatic steps of the carotenoid biosynthetic pathway; carotenoids, such as lycopene, have a high nutritional and health value, and tomato berries are particularly rich in these compounds, especially lycopene. The identified mutants have often specific phenotypes, determined by the accumulation of carotenoids down- or upstream of the point where the mutated function is located. The analysis of these mutants not only represented an important tool for the understanding of the biosynthetic pathway of carotenoids, but also have the potential for the development of new varieties nutritionally improved.

Blood orange, an important Italian IGP product, has this specific phenotype due to a key regulator gene in the anthocyanins biosynthetic pathway. This gene is always present in orange germplasm, but only in blood orange is also present a portion of a transposable genetic element, conferring to the gene the possibility to be effectively transcribed, activating the downstream structural genes for the biosynthesis of anthocyanins and leading to the "blood" phenotype.

The variability in the color of potato tubers, already well known and exploited by breeders, is due to accumulation of carotenoids in the tuber flesh. This variability has been studied from the genetical point of view, leading to the discovery in potato germplasm of several allelic variants for some key genes involved in carotenoid biosynthesis; the presence or combination of these alleles at specific loci determines the accumulation in the yellow or orange flesh of the tubers of selected carotenoids, and therefore its potential nutritional value.

The cases presented here highlight the importance of genetic research for understanding the traits conferring nutritional and health value to the food; besides, it is underlined the importance of the maintenance and thorough analysis of as wide as possible germplasm, with the aim to discover and introgress useful alleles in the cultivated plants.

BIBLIOGRAFIA

- BALANDRIN M.F., KLOCKE J.A., WURTELE E.S., BOLLINGER W.H. (1985): *Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials*, «Science», 228, pp. 1154-1160.
- BARTLEY G.E., SCOLNIK P.A., GIULIANO G. (1996): *Molecular biology of carotenoid biosynthesis in plants*, «Ann. Rev. Plant Physiol. and Plant Mol. Biology», 45, pp. 287-301.
- BOILEAU T.W.M., BOILEAU A.C., ERDMAN Jr. J.W. (2002): *Bioavailability of all-trans and cis-isomers of lycopene*, «Exp. Biol. Med.», 227, pp. 914-919.
- BROWN C.R., KIM T.S., GANGA Z., HAYNES K., DE JONG D., JAHN M., PARAN I., DE JONG W. (2006): *Segregation of total carotenoid in high level potato germplasm and its relationship to beta-carotene hydroxylase polymorphism*, «Am. J. Potato Res.», 83, pp. 365-372.

- BROWN C.R., CULLEY D., BONIERBALE M., AMORÓS W. (2007): *Anthocyanin, carotenoid content, and antioxidant values in native South American potato cultivars*, «Hort Science», 42, pp. 1733-1736.
- BUTELLI E., LICCIARDELLO C., ZHANG Y., LIU J., MACKAY S., BAILEY P., REFORGIATO-RECUPERO G., MARTIN C. (2012): *Retrotransposons control fruit-specific, cold-dependent accumulation of anthocyanins in blood oranges*, «The Plant Cell», 24, pp. 1242-1255.
- DIRETTO G., AL-BABILI S., TAVAZZA R., PAPACCHIOLI V., BEYER P., GIULIANO G. (2007a): *Metabolic engineering of potato carotenoid content through tuber-specific overexpression of a bacterial mini-pathway*, «PLoS ONE», 2, pp. e350.
- DIRETTO G., WELSCH R., TAVAZZA R., MOURGUES F., PIZZICHINI D., BEYER P., GIULIANO G. (2007b): *Silencing of beta-carotene hydroxylase increases total carotenoid and beta-carotene levels in potato tubers*, «BMC Plant Biol.», 7, pp. 11.
- EVERITT A.V., HEILBRONN L.K., LE COUTEUR D.G. (2010): *Food intake, life style aging and human longevity*, in: *Calorie restriction, aging and longevity*, Everitt, Rattan, Le Couteur and Cabo (eds.), Springer, Netherlands, pp. 15-42.
- EZEKIEL R., SINGH N.K., SHARMA S.K., KAUR A. (2013): *Beneficial phytochemicals in potato: A review*, «Food Research International», 50, pp. 487-496.
- FANTINI E., FALCONE G., FRUSCIANTE S., GILIBERTO L., GIULIANO G. (2013): *Dissection of Tomato Lycopene Biosynthesis through Virus-Induced Gene Silencing*, «Plant Physiol.», 163, pp. 986-998.
- FIGHN O. (2002): *Metabolomics – the link between genotypes and phenotypes*, «Plant Mol. Biol.», 48, pp. 155-171.
- FRAY R.G., GRIERSON D. (1993): *Identification and genetic analysis of normal and mutant phytoene synthase genes of tomato by sequencing, complementation and co-suppression*, «Plant Mol. Biology», 22, pp. 589-602.
- GALPAZ N., RONEN G., KHALFA Z., ZAMIR D., HIRSCHBERG J. (2006): *A chromoplast-specific carotenoid biosynthesis pathway is revealed by cloning of the tomato white-flower locus*, «The Plant Cell», 18, pp. 1947-1960.
- GIBNEY M.J., WALSH M., BRENNAN L., ROCHE H.M., GERMAN B. et al. (2005): *Metabolomics in human nutrition: opportunities and challenges*, «Am. J. Clin. Nutr.», 82, pp. 497-503.
- GIULIANO G., BARTLEY G.E., SCOLNIK P.A. (1993): *Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato development*, «The Plant Cell», 5, pp. 379-387.
- GOLDBERG G. (2003): *Plants: diet and health. The report of a British nutrition foundation task force*, Blackwell Publishing Ltd., Oxford, 347 p.
- HIRSCHBERG, J. (2001): *Carotenoid biosynthesis in flowering plants*, «Curr Opin Plant Biol.», 4, pp. 210-218.
- HOUNSOME N., HOUNSOME B., TOMOS D., EDWARD-JONES G. (2008): *Plant metabolites and nutritional quality of vegetables*, «J. of Food Science», 73, pp. R48-R65.
- ISAACSON T., RONEN G., ZAMIR D., HIRSCHBERG J. (2002): *Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of β -carotene and xanthophylls in plants*, «The Plant Cell», 14, pp. 333-342.
- KRINSKY N.I., JOHNSON E.J. (2005): *Carotenoid actions and their relation to health and disease*, «Molecular Aspects of Medicine», 26, pp. 459-516.
- PETERS S.A., BARGSTEN J.W., SZINAY D., VAN DE BELT J., VISSER R.G., BAI Y., DE JONG H. (2012): *Structural homology in the Solanaceae: analysis of genomic regions in support of synteny studies in tomato, potato and pepper*, «Plant J.», 71, pp. 602-614.
- RICHILLE M., SANCHEZ B., TAVAZZI I., LAMBELET P., BORTLIK K., WILLIAMSON G.

- (2010): *Lycopene isomerisation takes place within enterocytes during absorption in human subjects*, «British Journal of Nutrition», 103, pp. 1800-1807.
- RICK CM (1978): *The Tomato*, «Sci. Amer.», 239, pp. 76-87.
- RONEN G., COHEN M., ZAMIR D., HIRSCHBERG J. (1999): *Regulation of carotenoid biosynthesis during tomato fruit development: expression of the gene for lycopene epsilon-cyclase is down-regulated during ripening and is elevated in the mutant Delta*, «Plant J.», 17, pp. 341-351.
- RONEN G., CARMEL-GOREN L., ZAMIR D., HIRSHBERG J. (2000): *An alternative pathway to β -carotene formation in plant chromoplasts discovered by map-based cloning of Beta and old-gold color mutations in tomato*, «Proc. Natl. Acad. Sci. USA», 97, pp. 11102-11107.
- ROSATI C., DIRETTO G., GIULIANO G. (2009): *Biosynthesis and engineering of carotenoids and apocarotenoids in plants: state of the art and future prospects*, «Biotechnology and Genetic Engineering Reviews», 26, pp. 151-174.
- SAXENA A., CRAMER C.S. (2013): *Metabolomics. A potential tool for breeding nutraceutical vegetables*, «Adv. in Crop Sci. and Technol.», 1, pp. e106.
- STURARO M., ONOFRI C., DIRETTO G., SULLI M., GIULIANO G., PARISI B., MANDOLINO G. (2012): *Genetic analysis of tuber flesh colour in potato*, Abstracts of the SOL2012 – 9th Solanaceae Conference, Neuchâtel (CH), August 26-30, p. 134.
- THE POTATO GENOME SEQUENCING CONSORTIUM (2011): *Genome sequence and analysis of the tuber crop potato*, «Nature», 475, pp. 189-197.
- THE TOMATO GENOME CONSORTIUM (2012): *The tomato genome sequence provides insights into fleshy fruit evolution*, «Nature», 485, pp. 635-641.
- TITTA L., TRINEI M., STENDARDO M., BERNIAKOVICH I., PETRONI K., TONELLI C., RISO P., PORRINI M., MINUCCI S., PELICCI P.G., RAPISARDA P., REFORGIATO RECUPERO G., GIORGIO M. (2010): *Blood orange juice inhibits fat accumulation in mice*, «Int. J. Of Obesity», 34, pp. 578-588.
- TSUDA T. (2012): *Dietary anthocyanin-rich plants: biochemical basis and recent progress in health benefits studies*, «Mol. Nutrition & Food Research», 56, pp. 159-170.
- XU Q., CHEN L.-L., RUAN X., CHEN D., ZHU A., CHEN C., BERTRAND D., JIAO W.-B., HAO B.-H. ET AL. (2013): *The draft genome of sweet orange (Citrus sinensis)*, «Nature Genetics», 45, pp. 59-66.
- WOLTERS A-M.A., UITDEWILLIGEN J.G.A.M.L., KLOOSTERMAN B.A., HUTTEN R.C.B., VISSER R.G.F., VAN ECK H.J. (2010): *Identification of alleles of carotenoid pathway genes important for zeaxanthin accumulation in potato tubers*, «Plant Mol. Biol.», 73, pp. 659-671.

Le nuove frontiere delle tecnologie alimentari e la celiachia

IL GRANO E IL GLUTINE

Oltre la metà delle proteine alimentari deriva dai cereali, più di quanto forniscono gli alimenti di origine animale (17%). In Italia e nei paesi del bacino mediterraneo il grano soddisfa per circa un terzo il fabbisogno medio giornaliero di energia (2400 kcal). Questa energia (mediamente 320 kcal per 100 g di grano) proviene per l'80% dall'amido e da zuccheri semplici come glucosio, fruttosio o saccarosio e per il 15% dalle proteine, presenti nella granella in una percentuale media dell'11-13%. In effetti il grano costituisce la principale fonte di proteine alimentari nella dieta umana (19% circa) e fornisce altri fattori nutritivi importanti come vitamine (tiamina, niacina, riboflavina, vitamina B6, acido folico, vitamina E) e minerali (potassio, magnesio, ferro, fosforo, rame, zinco, selenio) e numerose altre sostanze bioattive come fibre alimentari, polifenoli e fitoestrogeni (soprattutto isoflavoni e lignani). La quota principale (oltre il 75%) delle proteine della cariosside di grano è costituita da proteine di riserva note come *gliadine* e *glutenine* (collettivamente denominate *prolamine*) le quali, in presenza di acqua, ossigeno ed energia (fornita dalle operazioni di impastamento) formano il *glutine*, il più grande e complesso polimero proteico naturale responsabile delle peculiari proprietà visco-elastiche delle farine, cioè della qualità panificatoria o pastificatoria del grano (fig. 1).

La rete tridimensionale del glutine consente all'impasto di trattenere il gas prodotto dal lievito durante la fase di fermentazione-lievitazione. Questa proprietà dell'impasto può essere misurata sperimentalmente soffiando aria

* *Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura - Unità di Ricerca per la Valorizzazione Qualitativa dei Cereali (CRA-QCE), Roma*

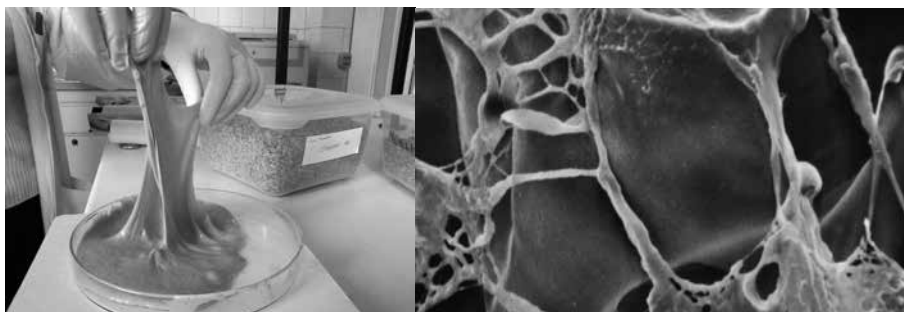


Fig. 1 *Glutine (a sinistra) e sua struttura al microscopio elettronico a scansione (a destra)*

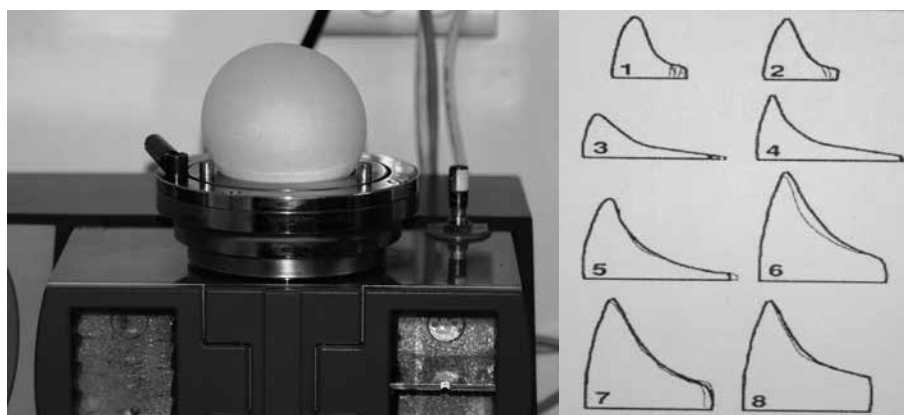


Fig. 2 *Valutazione dell'impasto di grano tenero mediante alveografo (a sinistra). Gli alveogrammi (a destra) stimano la "forza" (area, W), la tenacità (altezza, P) e la estensibilità (lunghezza, L) di otto diversi impasti di grano tenero*

dentro l'impasto stesso per formare una bolla le cui dimensioni variano in funzione delle proprietà visco-elastiche del glutine. La resistenza al rigonfiamento e il diametro della bolla misurate con l'Alveografo (fig. 2) stimano rispettivamente la tenacità (elasticità) e l'estensibilità dell'impasto.

Dall'andamento di queste due variabili durante la formazione della bolla si ottiene un grafico (alveogramma) la cui area corrisponde all'energia (parametro W) spesa per gonfiare la bolla stessa ("forza" del glutine), mentre i parametri P (altezza massima dell'alveogramma) e L (lunghezza massima dell'alveogramma) stimano rispettivamente la resistenza massima al rigonfiamento (o *tenacità*) e il diametro massimo della bolla (*estensibilità*). Nello scorso secolo, il passaggio dalla panificazione/pastificazione artigianale a quella industriale è stato accompagnato dalla coltivazione di varietà di grano con valori crescenti dei parametri alveografici W e P . Le varietà di grano tenero

VARIETÀ	CONTENUTO PROTEICO (%)	W ALVEOGRAFICO	INDICE DI GLUTINE (%)
<i>Grano tenero</i>			
Ardito*	12,7	125	88
Mentana*	11,7	76	40
Roma*	12,5	59	47
Villa Glori*	12,1	90	50
Bologna	13,1	301	98
Etecho	11,8	199	93
Eureka	11,8	116	97
Guadalupe	10,2	213	96
<i>Grano duro</i>			
Cappelli*	14,4	95	11
Simeto	13,2	310	79
*Varietà di N. Strampelli			

Tab. 1 *W alveografico e indice di glutine di varietà di grano prodotte da N. Strampelli a confronto con varietà moderne*

attualmente coltivate hanno un valore medio di *W* più che doppio rispetto a quello delle varietà messe a punto da Nazareno Strampelli nel primo trentennio del '900 (tab. 1). Anche “*l'indice di glutine*”, un parametro che misura la “qualità” (livello di polimerizzazione) del glutine in una scala da 0 (scadente) a 100 (ottimo), è molto più basso nelle varietà di Strampelli rispetto a quelle di recente costituzione.

Lo stesso vale per le varietà di grano duro. Ad esempio, la varietà Cappelli prodotta nel 1915 da Strampelli ha un valore medio di *W* tre volte più piccolo di quello della più recente varietà Simeto, tuttora coltivata su migliaia di ettari. È interessante notare che il glutine “debole” della varietà Cappelli si accompagna a elevato contenuto proteico delle cariossidi (>14%), a dimostrazione che la “forza” del glutine è dovuta soprattutto alla struttura delle proteine piuttosto che alla loro quantità. Infatti, l'incremento dell'indice *W* negli ultimi decenni è stato ottenuto selezionando nuove varietà con proteine particolarmente elastiche, con un elevato valore di *P* alveografico.

Il glutine rappresenta circa l'80% della porzione proteica del frumento ed è composto principalmente da un gruppo di proteine denominate *prolamine*, a loro volta suddivise in gliadine e glutenine. Le *gliadine* sono proteine monomeriche e sono rappresentate in ogni varietà di grano da circa 50 molecole diverse per dimensione e sequenza, distinte in 4 gruppi noti come α -, β -, γ - e ω -gliadine. Esse costituiscono il 40% delle proteine totali (fig. 3).

Le *glutenine* sono proteine polimeriche composte da subunità HMW ad alto peso molecolare (High Molecular Weight, 3-5 molecole diverse per ogni

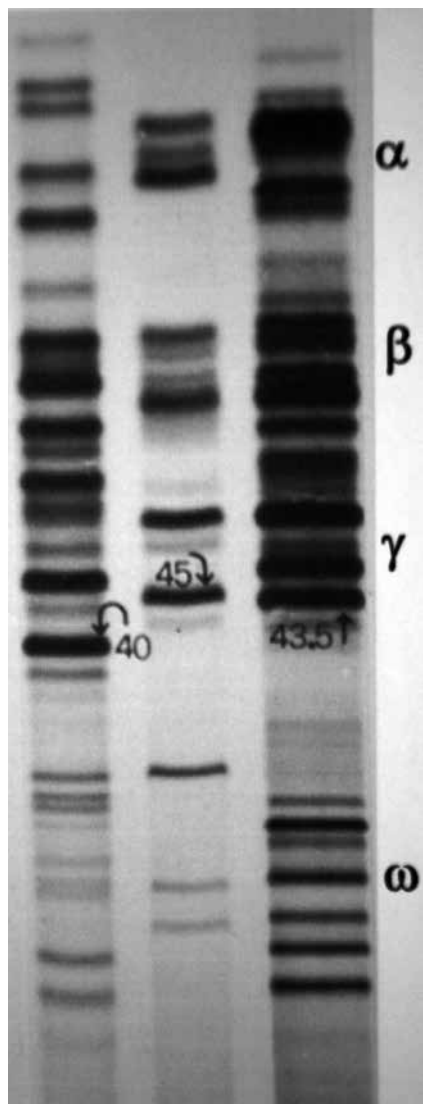


Fig. 3 Separazione elettroforetica di gliadine di due varietà di grano tenero e, al centro, una varietà di grano duro. Le frecce indicano tre gliadine associate alla qualità del glutine

varietà) e da subunità LMW a basso peso molecolare (Low Molecular Weight, da 16 a 25 molecole diverse). Le subunità HMW costituiscono il 10% delle proteine totali, hanno 4-7 residui di cisteina di cui 2-3 localizzati alle estremità della molecola e in grado di formare legami covalenti inter-molecolari (ponti disolfuro) responsabili dell'estrema polimerizzazione del glutine. Le subunità LMW hanno 8 residui di cisteina di cui almeno 2 impegnati in legami inter-molecolari. Le subunità gluteniniche durante le operazioni di im-

pasto si legano tra loro (polimerizzazione) a formare una rete tridimensionale responsabile dell'*elasticità* (tenacità) del glutine. Le gliadine si legano a questo "scheletro" proteico attraverso legami deboli che conferiscono *estensibilità* (viscosità) al complesso molecolare del glutine.

Grazie a queste particolari proprietà visco-elastiche del grano è possibile ottenere pane e prodotti da forno con caratteristiche qualitative (volume, sofficità) che altri cereali come riso, mais, orzo, avena o segale non sono in grado di fornire. Anche la superiore tenuta alla cottura e la ridotta collosità della pasta di grano duro rispetto a quella di altri cereali sono dovute in larga parte al glutine.

INTOLLERANZA ALIMENTARE AL GRANO

Tuttavia il glutine è anche il principale responsabile di due sindromi patologiche alimentari, *celiachia* e "*gluten sensitivity*", che stanno mettendo in discussione la sicurezza d'uso del grano.

La celiachia è la forma più grave di intolleranza alimentare. Essa compare in individui predisposti geneticamente quando ingeriscono alimenti o bevande a base di frumento, orzo o segale. È indotta da frammenti indigeriti di *prolamine* quando questi vengono a contatto con l'epitelio dell'intestino tenue e con le cellule del sistema immunitario (macrofagi, cellule dendritiche, linfociti) presenti nelle mucose sottostanti, inducendo la produzione di anticorpi anti-gliadinici e una serie di auto-anticorpi (anti-tranglutaminasi tessutale, anti-endomisio) che aggrediscono la mucosa intestinale. Si instaura così una reazione infiammatoria che distrugge i villi intestinali, strutture implicate nell'assorbimento dei cibi digeriti, e porta a una sindrome clinica nota come "malassorbimento". Fino a pochi anni fa la celiachia era considerata tipica dell'infanzia ma tale convinzione è stata rivista perché a partire dai primi anni '90 si è assistito a un forte incremento del numero di diagnosi a carico di soggetti in età adulta. I soggetti affetti dalla forma classica della celiachia presentano le caratteristiche manifestazioni cliniche e di laboratorio del malassorbimento intestinale e lamentano sintomi importanti quali diarrea cronica o stipsi, addome globoso, vomito, inappetenza, arresto della crescita, calo ponderale e irritabilità, spesso associati ad anemia sideropenica, deficit vitaminici e osteoporosi. Nella forma atipica, la più frequente, i sintomi intestinali sono aspecifici (dolore addominale ricorrente, stipsi, dispepsia) o del tutto assenti; prevalgono invece le manifestazioni extraintestinali isolate, caratterizzate da ritardo puberale, bassa statura, osteopenia, osteoporosi, po-

liabortività, infertilità, associazione a disordini autoimmuni. Anche in questo caso i soggetti affetti possono presentare le tipiche alterazioni istologiche intestinali, ma spesso sono paucisintomatici o asintomatici, e sfuggono a una diagnosi corretta.

Tra le forme atipiche della celiachia sono comprese la cosiddetta forma latente, caratterizzata dalla presenza nel siero di anticorpi anti-endomisio e anti-transglutaminasi tissutale e da assenza di atrofia dei villi, sia quella silente (asintomatica), caratterizzata dall'assenza di sintomi clinici in presenza di atrofia dei villi e auto-anticorpi. La celiachia può essere considerata come un fattore di predisposizione allo sviluppo di altre patologie autoimmuni, quali il diabete mellito insulino-dipendente di tipo I, la tiroidite di Hashimoto e la sclerosi multipla (De Block et al., 2001; Not et al., 2001; Valentino et al., 1999). La prevalenza di malattie autoimmuni nei celiaci è significativamente più alta rispetto alla popolazione generale. La associazione tra celiachia e altre patologie autoimmuni lascia pensare a un comune substrato genetico (Ventura et al., 1999; Kristiansen et al., 2000).

La celiachia può comparire a qualunque età ed è irreversibile. La recente introduzione di marcatori diagnostici di tipo sierologico altamente specifici e sensibili (anticorpi anti-gliadina deamidata, anti-endomisio e anti-transglutaminasi tissutale) e di test genetici (tipizzazione dell'HLA) ha portato a stimare che la celiachia interessa attualmente circa l'1% della popolazione mondiale e tende a raddoppiare la sua prevalenza ogni 15 anni circa. La malattia è presente in tutto il mondo con una distribuzione piuttosto eterogenea (ad esempio non supera lo 0,3% in Germania, mentre si avvicina al 3% in Finlandia). Nel 1992 Richard Logan ha proposto un modello a iceberg della celiachia. In questo modello, la prevalenza globale della malattia è rappresentata dall'intera mole dell'iceberg, la quale è a sua volta influenzata dalla frequenza di soggetti predisposti geneticamente. I casi diagnosticati di celiachia rappresentano la parte "emersa" e visibile dell'iceberg, mentre la porzione "sommersa" (circa il 90% dell'intero volume dell'iceberg) corrisponde ai casi che sfuggono alla diagnosi, rappresentati in grandissima maggioranza dalle forme atipiche succitate. Ad esempio, in Italia i celiaci diagnosticati nel 2010 ammontavano a poco più di 122.000 (0,2% della popolazione totale) a fronte dei circa 600.000 attesi in base alla prevalenza dell'1% stimata dalle analisi sierologiche condotte su campioni rappresentativi della popolazione (tab. 2).

Il notevole aumento della prevalenza della celiachia negli ultimi anni è verosimilmente associato a nuove abitudini alimentari come la diminuzione dell'allattamento al seno, l'aumento delle quantità di glutine ingerito durante

ANNO	NUMERO	%	INCREMENTO
2007	64.398	0,11	
2008	81.923	0,14	17.525
2009	110.480	0,18	28.557
2010	122.482	0,20	12.002

Tab. 2 *Celiaci registrati in Italia*

lo svezzamento e la *qualità* del glutine stesso, in particolare il forte aumento della tenacità del glutine.

La celiachia può essere superata con una dieta priva di grano, orzo e segale (dieta *gluten-free*). I celiaci non diagnosticati e quelli che mantengono una dieta libera nonostante la diagnosi sono esposti a una serie di danni per la salute quali bassa statura, anemia, stomatite, difetti dello smalto dentario, osteoporosi e quadri patologici a livello delle articolazioni, del fegato, del cuore e del sistema nervoso centrale. La gravità di queste complicanze è legata all'esposizione prolungata alle proteine tossiche; talora può instaurarsi un linfoma. Il celiaco ha difficoltà ad alimentarsi al di fuori delle mura domestiche ed è esposto al rischio di assunzione involontaria di prolamine a causa dell'uso assai diffuso delle farine di frumento e dei suoi derivati nell'industria alimentare e cartaria o a causa della contaminazione di prodotti naturalmente privi di glutine.

LE BASI IMMUNOLOGICHE DELLA CELIACHIA

Nella celiachia si riconoscono due livelli d'azione delle prolamine: (i) un'*attività citotossica innata* e (ii) un'*attività immunitaria adattativa*. L'attività citotossica si manifesta pochi minuti dopo l'esposizione dell'epitelio intestinale alle prolamine e coinvolge l'*immunità innata*. La risposta innata è particolarmente importante perché rappresenta la prima linea di difesa contro gli antigeni patogeni esterni. Le cellule dell'epitelio intestinale, le cellule dendritiche e quelle con capacità fagocitaria (macrofagi) della sottostante mucosa sono caratterizzate dalla presenza sulle loro superfici di specifici recettori definiti "pattern recognition receptors" (PRR), i quali, dopo aver riconosciuto e legato i peptidi prolamini, innescano il rilascio di citochine e chemochine proinfiammatorie, tra le quali la proteina nota come interleuchina-15 (IL-15). Quest'ultima proteina attiva le cellule "natural killer" (NK) e i linfociti T CD8+, che aggrediscono le cellule dell'epitelio intestinale. La morte degli enterociti si accompagna alla liberazione di transglutaminasi tessutale (tTG)

nella mucosa intestinale (Mention et al., 2003). Inoltre il rilascio di IL-15 induce le cellule dendritiche e i macrofagi a legare con altri specifici recettori (HLA-DQ2/8) i frammenti di prolamine deamidate dall'azione della transglutaminasi tissutale (tTG) e a presentarli ai linfociti T-helper (Th1 e Th2), che iniziano a produrre interferone γ (IFN- γ) e stimolano i linfociti B a produrre anticorpi sia contro i peptidi prolamini che contro la tTG, innescando la risposta *immunitaria adattativa*. Le due branche della risposta immunitaria, l'innata e l'adattativa, seppure con differenti funzioni, sembrano essere attivate da frammenti prolamini (epitopi) diversi, quelli non-immunodominanti e quelli immunodominanti, capaci di indurre rispettivamente la risposta immunitaria innata e quella adattativa. Attualmente conosciamo solo un paio di peptidi non-immunodominanti, mentre quelli immunodominanti sono numerosi (oltre 20) e diversi tra loro, e i pazienti celiaci reagiscono in modo diverso a questi epitopi. La situazione è ulteriormente complicata dal fatto che ogni varietà di grano ha una propria composizione in prolamine e contiene centinaia di molecole diverse di queste proteine. Inoltre è stato dimostrato che deve essere superata una soglia affinché nell'individuo con predisposizione genetica alla celiachia si instauri una risposta immunitaria patologica alle prolamine (Vader et al., 2003). Questa soglia è determinata dalla quantità di epitopi immunodominanti che interagiscono con le cellule T-helper e dall'intensità della risposta indotta nei linfociti dal loro legame con le sequenze prolamine. Pertanto, lo sviluppo di varietà di grano a bassa citotossicità e immunogenicità o l'uso di particolari specie di grano naturalmente povere di prolamine immunodominanti potrebbe portare alla produzione di farine e semole in cui sono assenti o rare le sequenze prolamine in grado di attivare le cellule T intestinali oltre la soglia patologica.

TOSSICITÀ E IMMUNOGENICITÀ DEL GRANO

Sono state ottenute prove sperimentali di una certa variabilità nel livello di citotossicità innata e immunogenicità adattativa tra le diverse specie e varietà di grano. In particolare, è stato dimostrato (van den Broeck et al., 2010) che le varietà più recenti di grano tenero sono molto ricche di sequenze fortemente immunogeniche rispetto alle varietà coltivate nella prima metà dello scorso secolo, varietà di N. Strampelli incluse. Inoltre è stato dimostrato che la rimozione di alcune specifiche prolamine può ridurre l'*attività citotossica* del grano tenero e che le prolamine estratte da numerose varietà di frumento monococco non hanno citotossicità immediata *in vitro* verso gli espianti inte-

stinali di pazienti celiaci. Lo stesso comportamento è stato osservato in alcune varietà di farro (Vincentini et al., 2007; Pogna et al., 2008). Inoltre nelle farine di grano monococco e di alcune varietà di farro sono presenti molecole proteiche in grado di contrastare gli effetti tossici delle farine di frumento tenero e frumento duro (Pogna et al., 2008; Gazza et al., 2010).

Il grano monococco (*Triticum monococcum* ssp *monococcum*) è un frumento diploide ($2n=2x=14$) a cariosside vestita; introdotto in coltura circa 10.000 anni fa nel Vicino Oriente, è una delle specie che hanno fondato l'agricoltura. Per migliaia di anni (fino all'età del Bronzo), insieme a farro e orzo, ha costituito la base della dieta delle popolazioni agricole europee. L'introduzione in agricoltura dei frumenti poliploidi (farro, grano duro, grano tenero e grano spelta), più produttivi e di facile trebbiatura, ha ridotto drasticamente la coltivazione del grano monococco il quale è attualmente coltivato su piccole superfici in Italia, Germania, Francia, Turchia, Grecia e Penisola balcanica.

Il grano monococco è strettamente imparentato con frumento tenero e frumento duro. Adattabile ai più diversi ambienti di coltura, è particolarmente indicato per un'agricoltura a basso impatto ambientale, in quanto naturalmente resistente a stress e patogeni vari.

IL GRANO MONOCOCCO

Il rinnovato interesse per il grano monococco è legato alla crescente sensibilità dell'opinione pubblica per le caratteristiche dietetico-nutrizionali degli alimenti ed è giustificato dall'ottima composizione della sua farina. Il contenuto proteico del grano monococco, in media 15-18%, è superiore a quello degli altri cereali coltivati e presenta un valore nutrizionale superiore a quello di frumento tenero e frumento duro. Gli studi condotti presso l'Unità di Ricerca per la Valorizzazione Qualitativa dei Cereali del Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura (CRA-QCE) negli ultimi dieci anni hanno permesso di identificare numerosi aspetti peculiari e nutrizionalmente interessanti del grano monococco (tab. 3). Tra le caratteristiche che lo rendono unico nell'ambito dei cereali a paglia abbiamo (i) l'elevato contenuto in carotenoidi, precursori della vitamina A e antiossidanti naturali, che è circa 5 volte quello del frumento tenero; (ii) l'ottima disponibilità di tocoli (vitamina E), che è circa 50% maggiore rispetto a frumento duro e tenero; (iii) l'alto contenuto in lipidi (circa 50% in più rispetto al frumento tenero), con una netta prevalenza di acidi grassi insaturi; (iv) l'alta percentuale in ceneri e l'elevato contenuto in minerali (particolarmente interessanti sono zinco, ferro

SPECIE	PROTEINE (%)	LIPIDI INSATURI (%)	LUTEINA (PPM)	VITAMINA E (PPM)	ZINCO (PPM)	FERRO (PPM)	FOSFORO (PPM)
Grano monococco	18,3±1,2	3,4±0,7	7,5±0,4	75,5±2,1	62,0±3,5	57,3±7,1	4800±570
Grano tenero	11,2±1,1	1,9±0,5	1,1±0,2	50,2±3,3	31,1±2,0	32,2±6,9	2800±699
Differenza (%)	+63	+79	+582	+50,4	+99,3	+77,3	+71,4

Tab. 3 *Contenuto medio (± ES) di proteine, lipidi insaturi e altre sostanze bioattive in grano monococco e grano tenero*

e fosforo) e (v) un contenuto in fruttani circa 50-70% maggiore rispetto al grano tenero (Hidalgo e Brandolini, 2008).

La farina di grano monococco, quasi impalpabile, presenta un caratteristico colore giallo ed è ottima per la produzione di biscotti, *snakes*, fiocchi (*flakes*) e altri prodotti da forno (Brandolini et al., 2008; Pollini et al., 2013); esistono anche genotipi con un'ottima attitudine alla panificazione (Saponaro et al., 1995; Borghi et al., 1996). Anche la qualità pastificatoria è molto elevata, sia in termini di lavorabilità della materia prima che di qualità del prodotto finito: gli spaghetti e i maccheroni di grano monococco hanno una buona tenuta alla cottura e una ridotta perdita di amido rispetto a quelli a base di semole commerciali di grano duro (Brandolini et al., 2008). Inoltre *T. monococcum* possiede granuli di amido di piccole dimensioni (cosiddetti *B-type*) in proporzione maggiore rispetto ai frumenti coltivati.

Una caratteristica peculiare di questo cereale è l'elevata tollerabilità alimentare. Negli ultimi anni sono state ottenute numerose evidenze sperimentali della ridotta tossicità delle prolamine di grano monococco. In particolare, le prolamine di questo cereale non sono in grado di indurre lesioni nella mucosa intestinale di pazienti celiaci (Auricchio et al., 1982; De Vincenzi et al., 1995; 1996) e di agglutinare le cellule K562(S), un test *in vitro* fortemente correlato con la "tossicità" dei peptidi prolamini. Inoltre sono state individuate accessioni di *T. monococcum* povere di sequenze immuno-dominanti in grado di stimolare i linfociti T (Molberg et al., 2005; Spaenij-Dekking et al., 2005; Zanini et al., 2013). Recentemente, Gianfrani et al. (2012) hanno riportato i risultati di uno studio condotto su due genotipi di grano monococco, Monlis e ID331, a confronto con la varietà di grano tenero Sagittario. Orbene, mentre le prolamine di Sagittario e Monlis, una varietà di grano monococco priva di ω -gliadine, sono in grado di promuovere la proliferazione degli enterociti nelle cripte delle mucose di pazienti celiaci e di indurre la sintesi di interleuchina 15 (IL-15) negli enterociti dei villi intestinali, le prolamine di ID331, una linea di grano monococco contenente una sola ω -gliadina, non mostrano

alcun effetto. I risultati suggeriscono che Monlis è in grado di attivare l'immunità innata e promuovere la sintesi di interleuchina 15 (IL-15), molecola chiave nell'induzione dell'immunità adattativa, mentre ID331 non sembra capace di elicitare questo tipo di risposta immunitaria. Tutto ciò è in accordo con l'osservazione che le prolamine della varietà Monlis e di altri genotipi di grano monococco privi di ω -gliadine si comportano come le prolamine di frumento tenero nella loro capacità di agglutinare le cellule K562(S) e alterare l'epitelio intestinale. Questi rari genotipi tossici di grano monococco (< 2%) differiscono dagli altri per la particolarità di non produrre ω -gliadine, nelle quali sembrano essere presenti sequenze in grado di contrastare la tossicità delle altre prolamine. Nonostante le proteine di grano monococco mostrino ridotta citotossicità verso le cellule intestinali, la presenza di epitopi immunodominanti ne preclude l'uso nella dieta dei celiaci. D'altra parte, tenuto conto che l'incidenza e la gravità della celiachia dipende dalla quantità e dalla nocività delle prolamine e che alcuni genotipi di grano monococco hanno una elevata qualità panificatoria accoppiata con assenza di citotossicità e ridotta immunogenicità, è atteso che l'uso delle farine di monococco nella dieta della popolazione generale, all'interno della quale si trova una elevata percentuale di individui predisposti geneticamente alla celiachia ma non ancora celiaci, possa contribuire a contenere la diffusione di questa forma di intolleranza alimentare. Ciò lascia pensare che il grano monococco, riportato recentemente in coltivazione in Italia dai ricercatori del Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura (CRA) di Roma e San Angelo Lodigiano, potrà svolgere un ruolo importante nella prevenzione della celiachia, sia direttamente sotto forma di pane e pasta sia indirettamente come specie modello per lo studio del ruolo dell'immunità innata nell'insorgenza della celiachia.

LA GLUTEN SENSITIVITY O INTOLLERANZA NON-CELIACA AL GRANO

Nel 2011 la comunità medica internazionale ha preso atto dell'esistenza di una nuova sindrome associata al consumo di grano, la "*gluten sensitivity*" o intolleranza non-celiaca al grano. Come i pazienti celiaci, quelli affetti da *gluten sensitivity* (GS) mostrano sintomi sistemici di gonfiore addominale, nausea, dolori addominali, spasmi, vomito, diarrea, mancanza di lucidità, depressione quando mangiano prodotti a base di farina o semola di grano. Talora compaiono anche sintomi meno tipici come debolezza muscolare, dolori ossei, tendenza alle fratture, alterazioni cutanee. Diversamente dalla celiachia, i sintomi compaiono poche ore dopo l'ingestione di grano, mancano altera-

zioni significative della mucosa intestinale e non compaiono auto-anticorpi anti-tTG o anti-endomisio. I sintomi scompaiono rapidamente (dopo poche ore) se si toglie il grano dalla dieta, ma ricompaiono nuovamente se si reintroduce questo alimento. Inoltre, mentre i celiaci tendono ad acquisire peso sotto una dieta *gluten-free*, i pazienti affetti da GS tendono a perdere peso nelle prime settimane di questa dieta. La stima di prevalenza di questa forma di intolleranza alimentare nella popolazione italiana ammonta a circa 4%, vale a dire 2-2,5 milioni di persone. Non è noto se la frequenza della GS tenda a crescere con la stessa velocità della celiachia. Inoltre sono tuttora ignoti o poco definiti molti aspetti eziologici, diagnostici e terapeutici della GS. In particolare, non sono ben noti i componenti chimici del grano che causano la sindrome, la variabilità naturale per questi componenti né il grado di tossicità di cereali diversi dal grano tenero (grano duro, farro, grano monococco, orzo, segale, avena). Tuttavia è stato osservato che alcuni pazienti tollerano alimenti a base di grano Kamut® (*Triticum turgidum* ssp *polonicum*), farro (*T. turgidum* ssp *dicoccum*) e monococco (*T. monococcum*). A questo riguardo, può essere interessante rilevare che diversamente dal glutine di grano tenero, quello di grano monococco può essere quasi completamente digerito dai nostri enzimi gastrici e pancreatici (Mamone et al., 2013). Questa recentissima osservazione è particolarmente importante perché alla base della celiachia e della *gluten sensitivity* c'è l'incapacità di digerire completamente il glutine. In effetti, il nostro corredo di enzimi digestivi non risulta in grado di demolire completamente il glutine, macro-molecola particolarmente ricca di prolina e caratterizzata da un peso molecolare molto elevato. Le dimensioni molecolari del glutine tendono a crescere nelle varietà di frumento con alti valori di W e queste varietà, come abbiamo sottolineato precedentemente, sono cresciute di numero negli anni più recenti.

ALTRE STRATEGIE CONTRO L'INTOLLERANZA AL GLUTINE

A livello internazionale sono in corso diversi *trial* clinici per trovare alternative alla dieta *gluten-free* nella terapia della celiachia e della GS. Ad esempio alcuni enzimi fungini, resistenti al pH acido dello stomaco umano, sono in grado di digerire *in vivo* i peptidi tossici del glutine. Una volta somministrati al paziente celiaco, quest'ultimo è in grado di tollerare la presenza nella propria dieta di quantità di glutine pari a 2 grammi/die (Spelniak et al., 2006). Poiché il consumo medio giornaliero di glutine ammonta a 13-15 g, la somministrazione di questi enzimi sotto forma di pillole da ingerire con i pasti (la

commercializzazione delle pillole avverrà entro un paio di anni) consentirà al paziente celiaco di evitare gli effetti negativi dell'ingestione di alimenti inquinati da tracce di glutine, ma non potrà sostituire la dieta *gluten-free*.

Un altro *trial* clinico riguarda una prolil-endopeptidasi batterica somministrata sotto forma di pillole in grado di ridurre il glutine in piccoli frammenti non tossici, a titolo di protezione dalle contaminazioni accidentali in alimenti *gluten-free* (Lindorfs et al., 2012). In Italia Gobetti et al. (2007) propongono di aggiungere alle farine di riso o mais usate nella preparazione di pane, pasta e prodotti da forno per celiaci, le farine di grano trattate con ceppi di lattobacilli a elevata attività proteolitica (*Lactobacillus alimentarius* 15M, *Lb. brevis* 14G, *Lb. sanfranciscensis* 7A e *Lb. hilgardii* 51B) in grado di degradare i peptidi del glutine. Sempre in Italia, presso il CNR di Avellino sono in corso degli studi per detossificare il glutine pre-trattando le farine di grano con l'enzima transglutaminasi di *Streptoverticillium mobaraense* in presenza di alte dosi aggiunte di lisina. In questo modo, i residui glutaminici delle prolamine formano legami chimici con la lisina e non sono più disponibili alla deamidazione da parte della tTG, passaggio chiave dell'immunità adattativa (Mazzeo et al., 2013).

In conclusione, nei prossimi anni vedremo crescere le nostre conoscenze sulle cause dell'intolleranza al grano e della sua crescente diffusione nei paesi occidentali, e verranno delineate le strategie più adeguate per arrestare o rallentare la crescita esponenziale della celiachia e della "gluten sensitivity". In particolare, si potrà verificare se l'uso alimentare di farro, grano monococco e altri cereali minori è un valido approccio nella prevenzione della celiachia e nell'alimentazione dei soggetti affetti da GS. Infine potranno essere messe a punto strategie di selezione da applicare nei programmi di miglioramento genetico per lo sviluppo di varietà di grano tenero e grano duro a elevata tolleranza alimentare.

RIASSUNTO

L'ampia diffusione sugli scaffali dei nostri supermercati di alcuni prodotti alternativi a quelli a base di grano testimonia il crescente disagio alimentare di una parte consistente della popolazione (in USA la dieta senza glutine riguarda circa il 19% della popolazione!) verso questo cereale. In questo contesto si spiega anche la nascita di nuove filiere agro-alimentari che partono dalla coltivazione di vecchie varietà di grano tenero o grano duro a basso *indice di glutine*. La *celiachia* è una forma di intolleranza al glutine relativamente rara (1% della popolazione) che colpisce individui geneticamente predisposti danneggiando anche gravemente la loro mucosa intestinale attraverso meccanismi immunitari e autoimmunitari. Un'altra forma di intolleranza molto più frequente

(6-10% della popolazione) è nota come *sensibilità al glutine* e si manifesta con gli stessi sintomi della celiachia (gonfiore intestinale, dolori addominali, sonnolenza, annebbiamento mentale, cefalea ecc.) ma non provoca danni intestinali né manifestazioni autoimmunitarie. Alla base della celiachia e della sensibilità al glutine c'è la nostra difficoltà a digerire completamente il glutine perché il nostro bagaglio di enzimi digestivi non comprende le prolil-endoropeptidasi, con il risultato che i frammenti indigeriti di glutine una volta arrivati nell'intestino possono scatenare il quadro sintomatologico succitato. Per contenere la diffusione di queste intolleranze sono state proposte diverse soluzioni quali la somministrazione di prolil-endoropeptidasi di origine batterica o fungina, il consumo di pane e pasta prodotti con farine/semole pre-digerite con lattobacilli oppure detossificate mediante trattamento con l'enzima transglutaminasi. Recentemente è stato dimostrato che il grano monococco (*Triticum monococcum*), una specie coltivata per oltre 6000 anni nell'area mediterranea e poi abbandonata nell'Età del bronzo, è incapace in alcuni casi di scatenare le reazioni immunitarie più precoci della celiachia. Inoltre, diversamente dal glutine di grano tenero, quello di grano monococco può essere completamente demolito dai nostri enzimi digestivi, come recentemente dimostrato in laboratori italiani. Sulla base di queste osservazioni, si ritiene che le farine di grano monococco possano essere particolarmente utili per la prevenzione delle intolleranze al glutine e nella formulazione di prodotti per il divezzamento. D'altra parte, l'osservazione che i frumenti teneri coltivati nella prima metà dello scorso secolo sono meno ricchi di proteine particolarmente aggressive per i pazienti celiaci e possiedono un *indice di glutine* molto più basso delle varietà attuali è stata associata alla crescita delle intolleranze e ha suggerito un diverso approccio nel processo di costituzione delle future varietà di grano.

BIBLIOGRAFIA

- AURICCHIO S., DE RITIS G., DE VINCENZI M., OCCORSIO P., SILANO V. (1982): *Effects of gliadin-derived peptides from bread and durum wheats on small intestine cultures from rat fetus and celiac children*, «Pediatric Research», 16, pp. 1004-1010.
- BORGHİ B., CASTAGNA R., CORBELLINI M., HEUN M., SALAMINI F. (1996): *Breadmaking quality of einkorn wheat (Triticum monococcum ssp monococcum)*, «Cereal Chemistry», 73, pp. 208-214.
- BRANDOLINI A., HIDALGO A., MOSCARITOLO S. (2008): *Chemical composition and pasting properties of einkorn (Triticum monococcum L. subsp monococcum) whole meal flour*, «Journal of Cereal Science», 47, pp. 599-609.
- DE BLOCK C.E.M., DE LEEUW I.H., VERTOMMEN J.J.F., ROOMAN R.P.A., DU CAJU M.V.L., VAN CAMPENHOUT C.M., WEYLER J.J., WINNOCK F., VAN AUTREVE J., GORUS F.K. (2001): *Beta-cell, thyroid, gastric, adrenal and coeliac autoimmunity and HLA-DQ types in type I diabetes*, «Clin Exp Immunol», 126, pp. 236-241.
- DE VINCENZI M., DESSÌ M.R., GIOVANNINI C., MAIALETTI F. AND MANCINI E. (1995): *Agglutinating activity of gliadin peptide fractions in coeliac disease*, «Toxicology», 96, pp. 29-35.
- DE VINCENZI M., LUCHETTI R., PERUFFO A.D.B., CURIONI A., POGNA N.E., GASBARRINI G. (1996): *In vitro assessment of acetic-acid-soluble proteins (glutenin) toxicity in celiac disease*, «Journal of Biochemical Toxicology», 11, pp. 205-210.

- HIDALGO A., BRANDOLINI A. (2008): *Protein, ash, lutein and tocopherols distribution in einkorn (Triticum monococcum L. subsp. monococcum) seed fractions*, «Food Chemistry», 107, pp. 444-448.
- GAZZA L., VINCENTINI O., DE VINCENZI M., PICCININI M., PETRANGELI V., NG P.K.W. AND POGNA N.E. (2010): *Variation in toxicity of monococcum and dicoccum wheat plants for celiac patients*, Atti del 10° International Gluten Workshop, 7-9 settembre 2009, pp. 298-303.
- GIANFRANI C., MAGLIO M., ROTONDI AUFIERO V., CAMARCA A., VOCCA I., IAQUINTO G., GIARDULLO N., POGNA N., TRONCONE R., AURICCHIO S., MAZZARELLA G. (2012): *Immunogenicity of monococcum wheat in celiac patients*, «American Journal of Clinical Nutrition», 96, pp. 1339-1345.
- GOBBETTI M., RIZZELLO C.G., DI CAGNO R., DE ANGELIS M. (2007): *Sourdough lactobacilli and celiac disease*, «Food Microbiology», 24, pp. 187-196.
- KRISTIANSEN O.P., LARSEN Z.M., POCIOT F. (2000): *CTLA-4 in autoimmune diseases: a general susceptibility gene to autoimmunity?*, «Genes Immun.», 1, pp. 170-184.
- LINDFORS K., LÄHDEAHO M.L., KALLIOKOSKI S., KURPPA K., COLLIN P., MÄKI M., KAUKINEN K. (2012): *Future treatment strategies for celiac disease*, «Expert Opinion on Therapeutics Targets», 16, pp. 665-675.
- LOGAN R.F.A. (1992): *Problems and pitfalls in epidemiological studies of celiac disease*, «Din Nutr. Res.», 2, pp. 14-24.
- MAMONE G., CAMARCA A., DI STASIO L., FERRANTI P., POGNA N., TRONCONE R., AURICCHIO S., GIANFRANI C. (2013): *Comparative analysis of digestibility of wheat bread protein (T. vulgare) and einkorn protein (T. monococcum) by immunological and proteomic approaches*, International Celiac Disease Symposium, Chicago 22-25 September 2013.
- MAZZEO M.F., BONAVITA R., MAURANO F., BERGAMO P., SICILIANO R. A., ROSSI M. (2013): *Biochemical modifications of gliadins induced by microbial transglutaminase on wheat flour*, «AutorizyBBA -General subjects», 11, pp. 5166-5174.
- MENTION J.J., BEN AHMED M., BÈGUE B., BARBE U., VERKARRE V., ASNAFI V., COLOMBEL J.F., CUGNENC P.H., RUEMMELE F.M., MCINTYRE E., BROUSSE N., CELLIER C., CERF-BENSUSSAN N. (2003): *Interleukin 15: a key to disrupted intraepithelial lymphocyte homeostasis and lymphomagenesis in celiac disease*, «Gastroenterology», 125, pp. 730-745.
- MOLBERG Ø., UHLEN A.K., JENSEN T., FLÆTE N.S., FLECKENSTEIN B., ARENTZ-HANSEN H., RAKI M., LUNDIN K.E.A., SOLLID L.M. (2005): *Mapping of gluten T-cell epitopes in the bread wheat ancestors: implications for celiac disease*, «Gastroenterology», 128, pp. 393.
- NOT T., TOMMASINI A., TONINI G., BURATTI E., POCECCO M., TORTUL C., VALUSSI M., CRICHIUTTI G., TREVISIOL C., AZZONI E., NERI E., TORRE G., MARTELOSSI S., SOBAN M., LENHARDT A., CATTIN L., VENTURA A. (2001): *Undiagnosed coeliac disease and risk of autoimmune disorders in subjects with type I diabetes mellitus*. «Diabetologia», 44, pp. 151-155.
- POGNA N.E., GAZZA L., VINCENTINI O., DE VINCENZI M. (2008): *Variation in noxiousness of different wheat species for celiac patients*, «Journal of Plant Interactions», 3, pp. 57-67.
- POLLINI C.M., MIZZAU R., PERESSINI D., D'EGIDIO M.G., POGNA N. (2013): *Cereali da colazione e snack salutistici prodotti con granella di Triticum monococcum*, in Atti 9° convegno AISTEC, pp. 220-223.
- SAPONARO C., POGNA N.E., CASTAGNA R., PASQUINI M., CACCIATORI P. AND REDAELLI R. (1995): *Allelic variation at the Gli-A^m1, Gli-A^m2 and Glu-A^m1 loci and bread-making*

- quality in diploid wheat* Triticum monococcum, «Genetics Research Camb», 66, pp. 127-137.
- SPAENIJ-DEKKING E.H.A., KOOY-WINKELAAR E.M.C., NIEUWENHUIZEN W.F., DRIJFHOUT J.W., KONING F. (2004): *A novel and sensitive method for the detection of T cell stimulatory epitopes of α/β - and γ -gliadin*, «Gut», 53, pp. 1267-1273.
- STEPNIAK D., SPAENIJ-DEKKING L., MITEA C., MOESTER M., DE RU A., BAAK-PABLO R., VAN VEELEN P., EDENS L., KONING F. (2006): *Highly efficient gluten degradation with a newly identified prolyl endoprotease: implications for celiac disease*, «American Journal of Physiology- Gastrointestinal and Liver Physiology», 291, pp. G621-G629.
- VADER W., STEPNIAK D., KOOY Y., MEARIN L., THOMPSON A., VAN ROOD J.J., SPAENIJ L., KONING F. (2003): *The HLA-DQ2 gene dose effect in celiac disease is directly related to the magnitude and breadth of gluten-specific T cell responses*, «Proceedings of the National Academy of Sciences», 100, pp. 12390-12395.
- ZANINI B., PETROBONI B., NOT T., DI TORO N., VILLANACCI V., LANZAROTTO F., POGNA N., RICCI C AND LANZINI A. (2013): *Search for atoxic cereals: a single blind, cross-over study on the safety of a single dose of Triticum monococcum, in patient with celiac disease*, «BMC Gastroenterology», 13, pp. 92.
- VALENTINO R., SAVASTANO S., TOMMASELLI A.P., DORATO M., SCARPITTA M.T., GIGANTE M., MICILLO M., PAPARO F., PETRONE E., LOMBARDI G., TRONCONE R. (1999): *Prevalence of coeliac disease in patients with thyroid autoimmunity*, «Horm Res», 51, pp. 124-127.
- VAN DEN BROECK H.C., DE JONG H. C., SALENTIJN E. M. J., DEKKING L., BOSCH D., HAMER R. J., GILISSEN L. J. W. J., VAN DER MEER I. M., AND SMULDERS M. J. M. (2010): *Presence of celiac disease epitopes in modern and old hexaploid wheat varieties: wheat breeding may have contributed to increased prevalence of celiac disease*, «Theoretical and Applied Genetics», 121, pp. 1527-1539.
- VENTURA A., MAGAZZÙ G., GRECO L. (1999): *Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease*, «Gastroenterology», 117, pp. 297-303.
- VINCENTINI O., MAIALETTI F., GAZZA L., SILANO M., DE VINCENZI M. AND POGNA N.E. (2007): *The environmental factors of celiac disease: cytotoxicity of hulled wheat species Triticum monococcum, T. turgidum ssp dicoccum and T. aestivum ssp spelta*, «Journal of Gastroenterology and Hepatology», 22, pp. 1816-1822.

Innovazione nei processi di trasformazione, conservazione e packaging di prodotti vegetali destinati all'industria alimentare

PREMESSA

Nell'ultimo decennio il settore alimentare ha subito una forte evoluzione concettuale in risposta alla forte crisi economica, alle nuove richieste del consumatore volte alla ricerca di prodotti igienicamente sicuri ma nel contempo "naturali", ai cambiamenti nello stile di vita sempre più pressante.

Inoltre, i fabbisogni tecnologici delle piccole aziende agrarie che scelgono di offrire prodotti destinati alla vendita diretta e che rappresentano una parte consistente dell'industria alimentare italiana, si fanno sempre più difficili da soddisfare. Gli impianti di trasformazione e di confezionamento disponibili sul mercato, sono quasi sempre calibrati per volumi e numeri decisamente più grandi.

Lungo tutta la filiera alimentare aumentano di conseguenza le necessità di innovazione a fronte di un quadro di tendenze di mercato che ha visto nel 2013 un bilancio in chiaroscuro per l'agroalimentare italiano. Non si può prescindere quindi da una attenta analisi anche economica del settore per individuare i comparti dove l'Italia può avere ancora buone possibilità di intervento competitivo.

L'INDUSTRIA ALIMENTARE ITALIANA

Il settore alimentare italiano annovera circa 60.000 imprese attive. Nel Centro-Nord si concentrano circa il 70% degli occupati e il 75% del valore aggiunto.

* *Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura; Unità di Ricerca per i processi dell'industria agro-alimentare, CRA-IAA, Milano*



Fig. 1 *Esempi di prodotti di IV gamma*

A suo favore, l'industria alimentare italiana può vantare una qualità di filiera universalmente riconosciuta, e utilizza il 70% circa di materie prime provenienti dall'agricoltura italiana, non facilmente sostituibili da produzioni di importazione.

Nonostante non sia facile competere sul mercato mondiale in condizioni obiettivamente critiche, e nonostante lavorare in Italia ed esportare sia di per sé faticoso – dal peso della burocrazia ai costi dell'energia, dai congestionamenti delle infrastrutture alla difficoltà di accesso al credito, e così via – le mille nicchie del «made in Italy» non sono state travolte dalla crisi globale e sono ancora oggi un grande punto di forza della nostra economia.

Anche per quanto riguarda l'industria di trasformazione, il «made in Italy» riscuote un indubbio successo, legato soprattutto a tre fattori:

- apprezzamento della materia prima;
- capacità di lavorazione del settore industriale;
- valore intrinseco dell'intera filiera.

Per quanto concerne nel dettaglio il settore orto-frutticolo, la tipologia di prodotti a contenuto di servizio che ha riscosso il maggior successo è quella degli ortaggi di IV gamma (fig. 1): interessano più di 500 aziende agricole, per una superficie di 6.500 ettari e hanno visto nel 2012 un consumo pari al

380% in più rispetto all'anno precedente, in controtendenza con il mercato degli ortofrutticoli freschi (dati ISMEA 2012).

Altra categoria di prodotti in forte crescita è quella dei «piatti pronti»: questi prodotti fanno parte di un segmento in grande sviluppo, dove l'Italia ha saputo coniugare cultura e tradizioni con l'innovazione, dando spessore economico al cosiddetto comparto del «tradizionale-evoluto», che copre il 16% del totale del fatturato alimentare.

Punto di forza di questi segmenti è la stretta integrazione verticale tra la fase agricola e quella industriale, che permette una più equa distribuzione del valore lungo l'intera filiera produttiva e che ha riflessi anche sulle performance economico-finanziarie delle aziende.

La crisi sembra non toccare il mondo del biologico, di cui l'Italia è protagonista a livello mondiale, tra i primi Paesi al mondo per superficie coltivata «bio», ai vertici per numero di aziende votate al «bio», particolarmente per la produzione di orto-frutticoli.

Nel dettaglio (dati ISMEA 2012), l'orto-frutta fresca e trasformata rappresenta il 22% del valore degli acquisti biologici. A livello nazionale, le maggiori crescite si riscontrano nel Sud e in Sicilia (+23,5%), e nel Nord-Est (+15,4%). Il consumo di prodotti biologici è molto elevato nelle Regioni settentrionali, dove l'incidenza sugli acquisti totali supera il 70%.

Rispetto al tema della crisi economica e dei suoi riflessi in agricoltura, l'attenzione deve essere anche rivolta ad approfondire aspetti specifici ma di grande impatto economico e sociale, come l'evoluzione strutturale dei consumi alimentari delle famiglie italiane, le tendenze emergenti e i comportamenti adattivi con cui i consumatori hanno risposto alla congiuntura della grande recessione dell'ultimo quadriennio.

I consumi sono una componente importante del benessere individuale e della crescita economica. D'altro canto, consistenza e qualità dei consumi alimentari sono stati e sono tuttora fattori determinanti del progresso umano e indicatori pregnanti del tenore di vita di singoli e comunità. I flussi di reddito sono un indicatore importante per la valutazione dello standard di vita, ma in ultima analisi ciò che conta sono il consumo e le possibilità di consumo nel tempo.

La concentrazione metropolitana e urbana della popolazione e i connessi cambiamenti nella struttura demografica delle aree rurali comporteranno, secondo le proiezioni della Fao per il 2050, una contrazione di circa il 30 per cento della popolazione attiva in agricoltura. Tendenzialmente, dunque, la domanda futura di alimenti aggiuntivi si polarizzerà, da un lato sul soddisfacimento dei fabbisogni nutritivi di base di nuove popolazioni povere e a basso

reddito e, dall'altro, sui beni più sofisticati in termini di servizi incorporati (trasformazione, packaging ecc.) degli abitanti urbanizzati.

Con il cambiamento delle abitudini alimentari, cambiano anche gli acquisti della spesa alimentare degli italiani; causate da tutte le variabili elencate precedentemente.

Le imprese alimentari di conseguenza si vedono costrette a modificare o quantomeno aggiornare il loro modello di produzione per esempio per i consumatori attenti alla qualità dei prodotti, all'inquinamento ambientale, all'etica delle produzioni salvaguardando il benessere degli animali; fanno sì che molte aziende si concentrino, per esempio, su innovazioni di tipo eco-sostenibili, in risposta quindi ai bisogni dei clienti, sempre più in aumento riguardo a tali richieste.

L'accezione dell'innovazione quale indirizzo privilegiato per lo sviluppo sostenibile dei settori economici rappresenta così un tema cruciale nelle moderne economie dell'informazione e della conoscenza.

Il settore agroalimentare negli ultimi anni ha promosso azioni sempre più spinte verso un processo innovatore che interessa prodotto, fasi di elaborazione e sistemi di conservazione.

Importante inoltre considerare, come i modelli innovativi trovino maggior riscontro positivo se affiancati a certificazioni e sistemi di qualità. Anche se la disponibilità reddituale delle famiglie, o meglio, la propensione al consumo sta diminuendo negli ultimi anni, si prospettano orizzonti positivi per quegli alimenti che sanno intrecciare più nicchie di mercato.

L'innovazione ha sempre rappresentato tema di accesi dibattiti, tanto che non si è ancora pervenuti a una definizione univocamente utilizzata, in funzione alla crescente importanza che l'innovazione e il cambiamento tecnologico hanno acquisito nella storia del pensiero economico.

Nel libro verde del 1995, la Commissione Europea definiva l'innovazione come «il rinnovo e l'ampliamento della gamma dei prodotti e dei servizi, nonché, dei mercati a esse associati; l'attuazione di nuovi metodi di produzione, di approvvigionamenti e di distribuzione e nelle condizioni lavoro, nonché nelle qualifiche dei lavoratori».

Il processo evolutivo che attualmente sta interessando il settore alimentare e particolarmente l'agro-alimentare, vede l'innovazione come la principale leva per garantire uno sviluppo sostenibile del settore e nel suo sistema di riferimento.

Le introduzioni di innovazioni tecnologiche nel settore agro-alimentare incrementano le risorse alimentari per i consumatori offrendo però ai produttori sia un'opportunità di protezione sia un miglioramento dei raccolti congiuntamente a un uso più efficiente delle risorse naturali.

Le innovazioni permettono in particolare di realizzare alimenti o imballaggi che mettendo insieme i fattori per cui le famiglie italiane scelgono un determinato alimento, creano, per le industrie alimentari un maggior vantaggio competitivo.

L'intensificarsi dei cosiddetti «convenience food» (prodotti che consentano un notevole risparmio di tempo nelle fasi di acquisto, preparazione e consumo), ha favorito l'intensificarsi di investimenti in ricerca e innovazione anche da parte dell'industria privata.

I RISULTATI DELLA RICERCA

È a questo punto d'obbligo porsi una domanda: quanto contano la ricerca e l'innovazione nel futuro del comparto agroalimentare? A nostro avviso, contano molto, soprattutto in questa fase di profonda crisi economica e mentre le multinazionali hanno dei reparti di ricerca e sviluppo interni che hanno la possibilità di studiare l'andamento di mercato e individuare gli obiettivi futuri non è così per le micro e piccole realtà che caratterizzano l'Italia ma anche Paesi del Centro e Sud d'Europa dove c'è una varietà di prodotti artigianali decisamente abbondante. Non siamo competitivi se non garantiamo la qualità di questi prodotti artigianali. Si sottolinea inoltre come debba esserci «uno stretto connubio» fra industria e ricerca pubblica, cosa che invece in Italia è ancora carente.

La piccola industria è quella che ha molte domande ma spesso non ha chi le sa rispondere, per questo è fondamentale rafforzare gli interscambi con la ricerca applicata sul campo, «mission» prioritaria proprio del Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura, Ente pubblico dedicato alla ricerca applicata e trasferibile. Si riportano di seguito alcuni dei principali progetti realizzati quasi esclusivamente in sinergia tra industria e ricerca pubblica, con partenariato misto, che hanno affrontato e affrontano tematiche prioritarie del settore e i cui risultati sono in parte già pronti per un trasferimento immediato, altri saranno a disposizione nel corso del 2015.

1. *Conservazione*

A differenza di altri prodotti «inerti» che vengono imballati, gli alimenti in genere e gli ortofrutticoli in particolare sono sistemi dinamici con una shelf-life molto limitata e con delle richieste in termini di conservazione molto specifiche.

Per riuscire a comprendere e descrivere i requisiti richiesti agli imballaggi utilizzati per materie prime e prodotti conservati in termini di mantenimento della qualità, bisogna prima capire come viene definito il concetto stesso di “qualità”. Esistono infatti concetti di qualità diversi a seconda del soggetto della filiera: qualità agronomica per il produttore, qualità tecnologica per l’industria di trasformazione, qualità commerciale per il rivenditore. Per il consumatore la qualità è un insieme di caratteristiche organolettiche, igienico-sanitarie, nutrizionali, etiche e di servizio. Le caratteristiche igienico-sanitarie, nutrizionali e organolettiche possono essere modificate a causa di alterazioni fisiche e chimiche che avvengono durante la conservazione del prodotto.

Alterazioni chimiche che portano a perdita di qualità sono: imbrunimento enzimatico e non enzimatico, idrolisi e ossidazione dei lipidi e delle proteine, denaturazione delle proteine, idrolisi dei mono e polisaccaridi, degradazione dei pigmenti. Per limitare queste reazioni chimiche l’imballaggio deve essere in grado di controllare uno o più dei seguenti fattori: la composizione in termini di gas attorno all’alimento (ossigeno, anidride carbonica, azoto), l’attività dell’acqua, la luce e la temperatura.

Alterazioni fisiche che portano a perdita di qualità sono: perdita di consistenza, perdita di solubilità, perdita d’acqua, ecc.

Quei cambiamenti che sono direttamente correlati con la perdita d’acqua possono essere minimizzati controllando le migrazioni del vapore acqueo (principalmente dall’alimento all’ambiente, ma anche tra differenti componenti dell’alimento stesso) grazie a proprietà di barriera più o meno elevate. Invece, la perdita di qualità dovuta alla crescita microbica può essere ridotta grazie alla capacità dell’imballaggio di controllare la variazione di fattori come a_w , pH e la migrazione di nutrienti. Dal momento che le alterazioni chimiche e fisiche non avvengono indipendentemente le une dalle altre, controllando le reazioni chimiche e la crescita microbica si può favorire anche la stabilità fisica (Vanoli et al., 2010).

Importante in questo senso l’attenzione per l’utilizzo di imballaggi ad atmosfera modificata attiva e passiva. Risulta fondamentale non distogliere mai l’attenzione dalle caratteristiche dell’atmosfera “modificata” selezionata, in funzione della specie ortofrutticola da confezionare.

L’influenza del confezionamento in atmosfere modificate convenzionali e alternative sulla shelf life di mele di IV gamma è recentemente stata studiata all’interno di un progetto triennale finanziato da AGER (Fondazioni in rete per la ricerca agroalimentare “AGER – Agroalimentare e ricerca”, progetto STAYFRESH – Novel strategies meeting the needs of the fresh-cut vegetable sector” (N° 20102370), coordinato dall’Università di Udine, che vede il

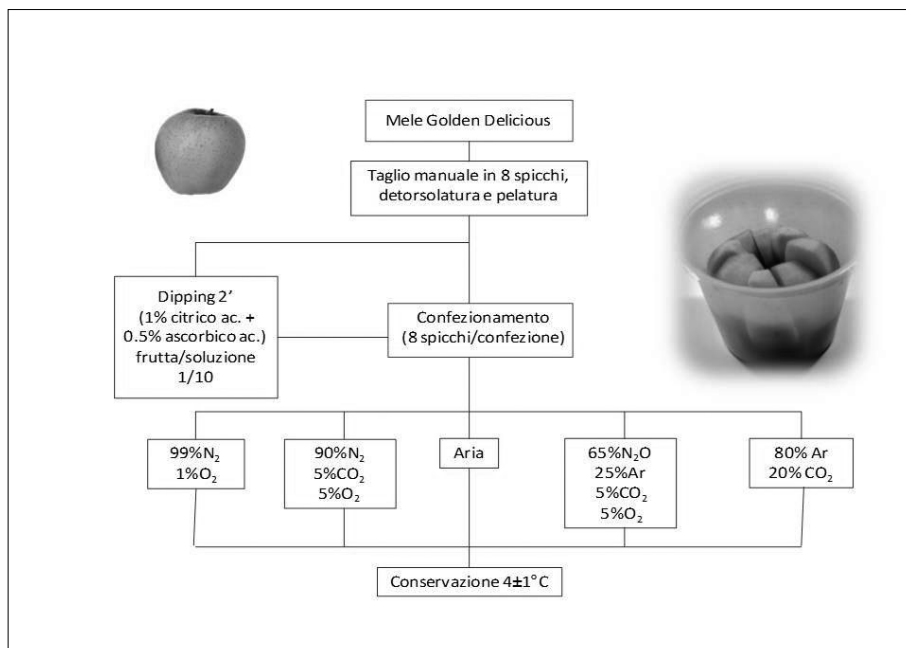


Fig. 2 Processo di preparazione di mele di IV gamma

Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura (CRA), coinvolto in qualità di partner con l'Unità di ricerca per i processi dell'industria agro-alimentare di Milano (CRA-IAA) proprio per approfondire gli aspetti legati alla conservazione di prodotti di IV gamma (mele e valerianella).

Lo stress causato dai processi tecnologici, come la pelatura e il taglio, produce una risposta fisiologica con conseguente incremento della produzione di etilene, dell'attività respiratoria e del metabolismo generale, che possono modificare importanti aspetti della qualità, come colore e consistenza. L'uso di atmosfere modificate con una concentrazione limitata di O_2 ed elevata di CO_2 possono migliorare il mantenimento della qualità di mele di quarta gamma e prolungarne la shelf life. In questo studio è stata valutata l'influenza del confezionamento in atmosfere modificate convenzionali (O_2 , CO_2 , N_2) e alternative (Ar e N_2O) sulle caratteristiche qualitative, come colore e consistenza, e sui parametri sensoriali, approfondendo l'aspetto legato alle interazioni tra Packaging in Atmosfera Modificata (MAP) e trattamento anti-imbrunimento (Corbellino et al., 2013). In figura 2 si riporta il flow-sheet di processo per l'ottenimento dei prodotti di IV gamma.

Gli Autori hanno verificato che l'utilizzo di entrambe le atmosfere convenzionali con bassi livelli di O_2 (1% e 5%) e della miscela Ar+ CO_2 consente

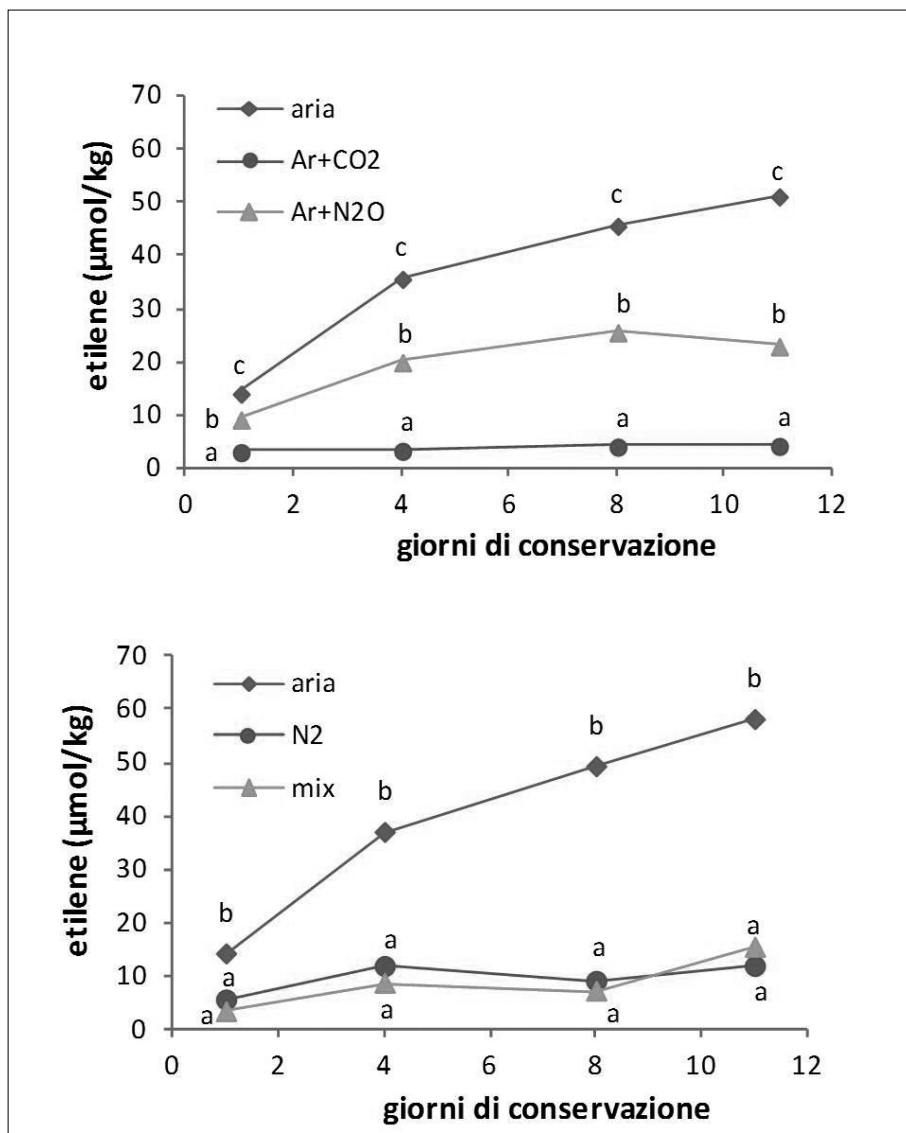


Fig. 3a-b Produzione di etilene in spicchi di mela confezionati con diverse MAP

di preservare con successo la consistenza degli spicchi non trattati con acido citrico e acido ascorbico (dipping), limitando la produzione di etilene (fig. 3).

Infatti, i campioni confezionati in aria producono una quantità di etilene elevata mentre quelli in azoto e nel mix convenzionale, ne producono piccole quantità. Un comportamento intermedio è evidenziato dagli spicchi

conservati nella miscela $\text{Ar}+\text{N}_2\text{O}$, che producono una quantità moderata ma non trascurabile di etilene. La miscela $\text{Ar}+\text{CO}_2$ è risultata in grado di inibire completamente la produzione di etilene per tutta la conservazione. I dati sperimentali confermano l'inibizione della produzione di etilene in condizioni di anaerobiosi o di limitata concentrazione di O_2 .

Tuttavia questo effetto positivo risulta quasi completamente neutralizzato quando si imbibiscano gli spicchi nella soluzione di dipping. Poiché tutte le atmosfere valutate, convenzionali e alternative, non sono in grado di prevenire l'imbrunimento enzimatico risulta necessario applicare un trattamento anti-imbrunimento. Conseguentemente al fine di sfruttare le potenzialità del confezionamento in atmosfera modificata sarebbe opportuno combinarlo con un diverso trattamento anti-imbrunimento meno invasivo.

2. Trasformazione

L'industria alimentare nel contesto europeo si presenta oggi fortemente polverizzata, con tante piccole imprese che vivono di mercati locali e produzioni tradizionali tipiche e con la presenza storica di alcuni grandi gruppi che nei rispettivi comparti occupano posizioni di leadership.

Le aziende di grandi dimensioni possono materialmente e finanziariamente adeguarsi alle condizioni dettate dal mercato globale, ma le realtà produttive medio-piccole si trovano in una situazione molto più critica. Per queste ultime una delle prospettive più interessanti consiste nell'accedere e sviluppare mercati alternativi, quali quelli generalmente, ma anche riduttivamente, detti "di nicchia". Si è soliti assegnare a questo termine un significato di posizione insignificante o marginale, quindi trascurabile, quando invece nei mercati "di nicchia" sono collocati anche prodotti di alta qualità, di alto valore aggiunto e redditività. Quindi il mercato dei prodotti "di nicchia", seppur ciascuno di piccole dimensioni, può costituire un mercato complessivamente in grado di fornire grandi numeri ed elevata redditività. È prevedibile e auspicabile che in un periodo non lungo saranno in numero considerevole le aziende medio-piccole che faranno riferimento a questi mercati.

Tra i fattori che meglio possono incrementare la collocazione della produzione sui mercati locali e attraverso le filiere dirette produttore-consumatore, vi è la commercializzazione di prodotti trasformati, in aggiunta alla vendita stagionale dei prodotti freschi già ampiamente diffusa. La trasformazione consente inoltre di destagionalizzare la produzione vendibile.

Inoltre, da più parti si segnala la necessità di adattare tecniche tradizionali

a mutate condizioni ambientali e/o nuove materie prime (es. più alte temperature invernali nella stagionatura dei salumi, impiego di varietà autoctone nell'ortofrutta, reintroduzione di razze animali locali, ecc.). Adattamenti di questa natura richiedono professionalità e approccio scientifico di livello adeguato.

Una posizione di rilievo occupano in questo settore gli aspetti di controllo e monitoraggio dei requisiti di sicurezza igienica, che debbono ovviamente essere soddisfatti anche da produzioni "di nicchia". Nel merito, si deve principalmente tener conto della particolare variabilità delle materie prime e dei parametri di processo, caratteristici di queste produzioni. La variabilità iniziale deve essere necessariamente trattata come una ricchezza in termini di bio-diversità, ma essa comporta anche una maggiore variabilità delle caratteristiche igienico-sanitarie e di stabilità dei prodotti ottenuti. La gestione dei pericoli microbiologici rende necessaria l'adozione di sistemi tecnologicamente flessibili, con maggiori margini di sicurezza e possibilmente basati su più di un fattore protettivo per il loro contenimento e per il controllo del rischio (Cattaneo, 2012).

2.1 Il progetto MIERI

Da indagini svolte nell'ultimo quinquennio, anche grazie al finanziamento nel 2009 del Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali di un progetto quadriennale (progetto MIERI: «MIniaturizzazione e semplificazione di linee di trasformazione per piccole produzioni agroalimentari e impiego di Energie RInnovabili»), sono state raccolte le principali esigenze sentite dalle piccole imprese del settore.

Le tematiche emerse con maggiore frequenza per il settore ortofrutticolo sono risultate:

- produzione di conserve e semiconserve vegetali (compresi sott'oli, sott'aceti, essiccati...);
- minifranto;
- trasformazione di erbe officinali e oli essenziali;
- concia (in verde o al naturale) di olive da mensa.

Per quanto riguarda le imprese agrituristiche o le imprese con punti vendita diretta, le esigenze emerse sono così riassumibili:

- confezionatori sottovuoto e/o atmosfera modificata;
- piccole imbottigliatrici;
- piccole etichettatrici;

- piccole invasettatrici;
- abbattitori di calore per le preparazioni a consumo differito.

Il dibattito sulla riduzione di fonti energetiche tradizionali e non rinnovabili, sulla riduzione o l'azzeramento dell'emissione di inquinanti, è aperto su scala planetaria, ma è possibile individuare alcune linee di tendenza.

Si possono mettere in atto numerose strategie di ottimizzazione impiantistica e di risparmio energetico, che consentano una maggiore sinergia tra i sistemi e aumentino l'efficienza energetica dell'impresa vista nel suo insieme.

La ricerca pubblica applicata ha sviluppato in questo contesto e in collaborazione con università e partner privati, tecnologie impiantistiche e produttive, degne della Grande Industria, ma trasferibili su piccola scala al servizio dei circuiti brevi, delle filiere corte e delle micro, piccole imprese italiane (Cattaneo, 2009).

Il progetto si è sviluppato su due filoni caratterizzanti, il primo relativo all'ideazione e all'adozione di impianti e tecnologie adeguate (miniaturizzazione e semplificazione) per la conservazione/trasformazione dei prodotti agroalimentari. Grande attenzione è stata data all'ottimizzazione delle condizioni di processo e al controllo dei requisiti igienici e di sicurezza sia per gli operatori che per i consumatori, nonché alla stesura dei relativi manuali operativi. Il secondo concernente l'adozione ove possibile di fonti di energie rinnovabili, che necessitano di implementazione specifica, per piccole produzioni alimentari. Quattro i prototipi miniaturizzati sviluppati, validati e già disponibili anche in versione commerciale (figg. 4-7).

Tutti gli impianti sono dotati di misure di sicurezza idonee a salvaguardare il lavoratore, a norma con la più recente normativa europea in termini di igiene e sicurezza di processo e di prodotto. Macchinari dalle dimensioni ridotte, ma che permettono a piccole e micro imprese di avere prodotti sicuri, sani, naturali e a basso impatto ambientale, riducendo al minimo gli scarti di lavorazione.

I prototipi realizzati, sono delle macchine, frutto di elaborazione e ricerca scientifica, che si trasformano ora in strumenti prontamente trasferibili di divulgazione, di educazione e di miglioramento della redditività aziendale.

Già disponibili gratuitamente al sito www.mieri.entecra.it anche le linee guida, editate da CRA (Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura), per il corretto funzionamento di tutti gli impianti prototipo realizzati e per un approccio responsabile ai problemi legati alla trasformazione alimentare su piccola scala.

In particolare, per quanto concerne i tre prototipi specifici per il settore orto-frutticolo, si riassumono di seguito le caratteristiche degli impianti:



Fig. 4 Linea per la produzione di conserve vegetali e animali e mini-caldia per produzioni casearie (confetture, passate, conserve in genere, salse, paté)



Fig. 5 Minicaseificio alimentato anche con combustibile da biomasse (piccole produzioni casearie)



Fig. 6 Essiccatore a energia solare per frutta e ortaggi in pezzi (cubetti, rondelle, dischi, stick)



Fig. 7 Negozio mobile con banchi di vendita refrigerati da energia rinnovabile

– Linea per la produzione di conserve vegetali e animali e mini-caldia per produzioni casearie, funzionante a energia mista (fig. 4): in pochi metri quadrati sono riuniti stazioni di lavaggio e triturazione, un elemento centrale destinato alla cottura/concentrazione, sia a “bacinella aperta”, sia sotto vuoto

– Essiccatore a energia solare per frutta e ortaggi in pezzi (fig. 6): un impianto pilota contraddistinto dalla semplicità del principio costruttivo, dal prezzo di acquisto estremamente contenuto e dal costo di esercizio inesistente.

– Negozio mobile con banchi di vendita refrigerati da energia rinnovabile (fig. 7): sicurezza e qualità alimentare sono i concetti che hanno suggerito la progettazione dell’ultimo prototipo, che ospita sul tetto dei pannelli fotovoltaici che concorrono al funzionamento dei frigoriferi. Tutto il sistema sfrutta un innovativo circuito refrigerante ad “accumulo”. L’autonomia energetica del negozio (9 ore) supera la normale durata di una giornata di vendita al mercato.



Fig. 8 *Confettura da Arancia amara con bucce*



Fig. 9 *Dolcificante da uva bianca e nera, senza blanching (TQ) e con blanching (SCOT-TATA)*



Fig. 10 *Gelatine dolci ottenute con essiccatore solare*



Fig. 11 *Snack di zucca ottenuto con essiccatore solare*

Nella selezione dei prodotti target sono sempre state poste come priorità alcune caratteristiche di prodotto volte a facilitare l'inserimento di prodotti di qualità nei mercati locali, nazionali e/o internazionali, prestando attenzione alla valorizzazione dei contenuti salutistici, nutrizionali e alla preservazione delle caratteristiche di prodotto, nonché alla carenza di prodotti simili e/o innovativi. Tutte le prove sono state condotte come test comparativi (Della Campa et al., 2014) per la messa a confronto dei risultati ottenibili con tecnologie tradizionali o di normale utilizzo rispetto a quelli caratterizzanti i prodotti ottenuti con gli impianti miniaturizzati in valutazione.

Sono state privilegiate quindi la produzione di conserve, condensati e prodotti trasformati a partire da materie prime biologiche e/o che non avessero attuali grandi sbocchi di mercato, al fine di aumentarne il valore aggiunto sia per il produttore che per il consumatore finale.

Altro filone sviluppato ha riguardato la messa a punto (Della Campa et al., 2011) e la produzione di prodotti innovativi (Della Campa et al., 2012), destinati anche all'industria di trasformazione come semilavorati (Lo Scalzo et al., 2012), sia con il fine di minimizzare gli scarti del settore grazie a un loro parziale riutilizzo come ingredienti in prodotti a elevato valore aggiunto.

Esempi di prodotti ottenibili con gli impianti miniaturizzati, sono riportati nelle figure 8-11.

L'attività dell'ultimo anno ha riguardato in particolare il monitoraggio qualitativo dei prodotti ottenuti dai vari impianti, confrontando l'effetto della tecnologia di produzione sulla presenza di molecole a capacità antiossidante, principalmente l'acido ascorbico e i polifenoli, andandone a misurare l'effetto sulla potenzialità biologica mediante differenti saggi antiossidanti in vitro, per i quali è stato preso in considerazione un approccio relativo alla Spettrometria di Risonanza Paramagnetica Elettronica (EPR).

I risultati ottenuti hanno permesso di verificare:

- la versatilità della linea polifunzionale e la sua idoneità per l'innovazione di processo e di prodotto, nonché la sua validità come strategia per la valorizzazione delle micro e piccole imprese;
- i vantaggi ottenibili grazie alla disidratazione di prodotti alimentari mediante esposizione al sole attraverso un sistema protetto (essiccatore solare), quali: un prodotto con colore più intenso; più morbido ma allo stesso tempo più consistente alla masticazione; un miglioramento dell'igiene di prodotto e di processo; la semplificazione del processo (il sistema protegge il prodotto da pioggia e rugiada); la bassa richiesta di energia per la produzione;
- i requisiti di eco compatibilità del negozio mobile, adatto alla vendita anche in «farmer-market» difficilmente raggiungibili con i normali automezzi destinati alla vendita ambulante; il forte risparmio energetico e il basso impatto ambientale; la corretta conservazione degli alimenti sia in vetrina che nella cella frigorifera interna senza effetti negativi sulla durabilità dei prodotti esposti e/o conservati durante il trasporto.

3. *Packaging*

La sicurezza e la qualità di un prodotto alimentare confezionato sono il risultato di interazioni complesse tra l'alimento, la confezione e l'ambiente. Ciascuno di questi elementi può entrare in relazione con ogni altro, dando luogo a qualche fenomeno di interazione.

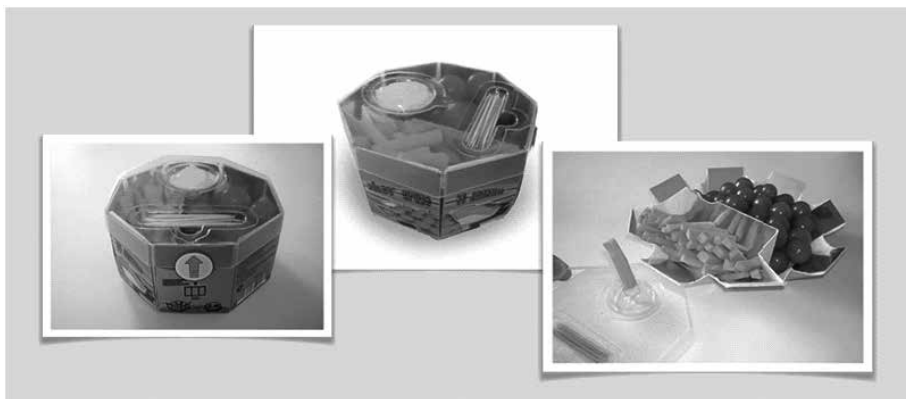


Fig. 12 *Esempio di imballo con alte caratteristiche di sostenibilità e di impatto visivo (fonte: www.arthurkenzo.com/v2/vegebox/)*

Nel corso del tempo il packaging ha subito un'evoluzione concettuale: tecniche di confezionamento per contenimento e protezione, quindi l'impiego di materiali barriera, di confezioni che modulano la conservazione, di materiali attivi e dispositivi intelligenti, con biomateriali e biomateriali attivi.

Requisiti essenziali da associare ai diversi tipi di packaging e da valutare per una scelta corretta dello stesso in funzione del tipo di alimento da confezionare risultano essere principalmente associati alle funzioni di:

- contenimento;
- protezione fisica;
- protezione dei requisiti di qualità, sia nutrizionali che sensoriali;
- comunicazione visiva delle caratteristiche di prodotto (fig. 12).

A questi requisiti oggi si sommano alcuni requisiti supplementari. Si parla quindi di: comodità e facilità d'uso; problemi associati alla logistica e al servizio; e, non ultimo, sostenibilità. All'interno del sistema economico che governa ogni impresa, si devono inoltre tener in considerazione ulteriori requisiti detti propriamente "di sistema", relativi a parametri di redditività e competitività aziendale.

Il settore ortofrutticolo, in questo contesto, presenta esigenze particolari data la "deperibilità" e "fragilità" dei prodotti e le necessità di garantire il più a lungo possibile il loro stato di freschezza.

Diversi i punti critici da tenere in considerazione che si rilevano dal campo alla vendita. In particolare, per la movimentazione dei prodotti ortofrutticoli freschi vengono individuati tre momenti specifici, ai quali corrispondono diverse soluzioni di imballaggio: il trasporto dal campo ai centri di smistamento (consorzi, magazzini di stoccaggio ecc.); il trasporto

dai centri di smistamento alla distribuzione (mercati rionali, GDO ecc.) e la vendita al consumo.

Una recente sintesi delle disponibilità della fascia di mercato coperta dalle diverse soluzioni di imballaggio di potenziale impiego lungo la filiera ortofrutticola (Cattaneo e Rizzolo, 2012; Cattaneo e Rizzolo, 2013) evidenzia la vasta gamma e l'alta differenziazione dei materiali più innovativi che, se da un lato hanno sicuramente migliorato l'offerta e la disponibilità di prodotti idonei al confezionamento alimentare, dall'altra possono rendere più difficile la scelta del materiale di imballaggio da parte del produttore e del trasformatore aggravando la fase di valutazione dei reali benefici e vantaggi offerti dalle diverse tipologie di packaging attualmente disponibili.

Soddisfare appieno la "complicata" normativa europea (Framework Regulation, EC 1935/2004) relativa al confezionamento e, contemporaneamente, scegliere la soluzione di imballaggio più congrua per il prodotto e più sostenibile per l'agricoltore o l'impresa non è facile.

Le più importanti novità riguardano soprattutto la vendita al consumo, con l'introduzione di combinazione di materiali sintetici con sostanze naturali al fine di introdurre nuove, specifiche e utili funzionalità, come nel caso del "bio-packaging"; di materiali catalogati come imballaggi biofunzionali ("functional bio-packaging"), dove può essere prevista l'incorporazione di sostanze naturali attive ad attività antimicrobica e/o antiossidante; di "packaging" definiti ACTIVE and SMART, cioè imballaggi attivi e intelligenti. Si tratta principalmente di sistemi o film a rilascio di sostanze antimicrobiche. I film possono contenere la sostanza antimicrobica immobilizzata, quali per esempio polimeri modificati ad attività antimicrobica, barriere multistrato con antimicrobici immobilizzati (Piergiovanni e Limbo, 2004).

Si inserisce in questo contesto la ricerca in corso, finanziata nel 2011 su bando «Industria 2015: Nuove tecnologie per il Made in Italy» dal Ministero dello Sviluppo Economico, intitolato: «Nuove soluzioni di imballaggio attivo a base di propoli italiana per l'estensione della shelf life di prodotti alimentari nazionali tipici di largo consumo - PACKPROLFE» per soddisfare la crescente richiesta di prodotti alimentari dall'elevata qualità e sicurezza igienica, specialmente se freschi destinati al consumo diretto. Più specificamente, sono stati sviluppati materiali di packaging definibili 'attivi', ovvero in grado di interagire attivamente e positivamente col prodotto confezionato. A questo fine sono stati utilizzati, quale sostanza attiva, estratti di propoli italiana, di cui sono ben note le proprietà antimicrobiche e antiossidanti.

Lo sviluppo di un packaging innovativo e performante, secondo quanto previsto dall'idea progettuale, permetterà da un lato la valorizzazione di un

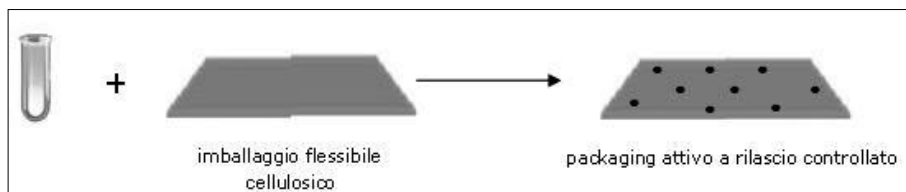


Fig. 13 Schema di assemblaggio della propoli in materiali flessibili cellulosici

materiale ‘povero’ ma molto eco-compatibile quale la carta, dall’altro potrebbe portare a una riduzione dello spessore totale del packaging sintetico utilizzato e, infine, l’estensione di conservabilità del prodotto potrebbe ridurre gli sprechi contribuendo anche in questo modo a migliorare la sostenibilità delle produzioni nazionali più tipiche. Come illustrato nella figura 13, il sistema così definito non può che non essere concepito come un assemblaggio di diverse componenti.

Nel caso dei materiali flessibili cellulosici si avrà:

- propoli, in forma di soluzione idroalcolica;
- imballaggio cellulosico flessibile, in cui la propoli verrà direttamente incorporata alla matrice cellulosica.

Al fine del raggiungimento dell’obiettivo è stato fondamentale l’apporto di varie figure (industriali e non) che, attraverso il proprio background e l’esperienza accumulata nel corso degli anni, hanno contribuito, in perfetta sinergia tra ricerca pubblica e industria privata, a sviluppare le principali aree tematiche del programma. I risultati finali del progetto saranno pronti per il trasferimento nei primi mesi del 2015.

Un altro interessante approccio con il fine di fornire alternative valide ed “ecologiche”, supportate da sperimentazioni accurate, viene proposto in un progetto finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali con DM del 30 aprile 2012 un progetto biennale (progetto ProINN) e coordinato dall’Unità di ricerca per i processi dell’industria agroalimentare (CRA-IAA) di Milano, struttura afferente al Consiglio per la Ricerca e sperimentazione in Agricoltura (CRA). È in corso la valutazione di prodotti innovativi derivanti da polimeri organici di interesse per il settore agro-industriale da impiegare come rivestimento alimentare parzialmente biodegradabile e potenzialmente edule. Le performance dei rivestimenti proposti vengono valutate in comparazione con quelle degli attuali trattamenti utilizzati in diverse filiere alimentari, tra cui anche quella orto-frutticola, dal campo alla tavola. Lo “scale-up” di produzione e applicazione dei rivestimenti nell’ambiente industriale viene realizzato coinvolgendo le piccole e medie imprese (PMI)

per la dimostrazione in campo e la valutazione delle reali possibilità di trasposizione di scala dei nuovi rivestimenti. Un altro aspetto che viene considerato riguarda l'analisi completa dei fattori che possono limitarne la diffusione (accettabilità, prezzo, competitività, soddisfazione del consumatore, abitudini alimentari, resistenza e protezione del prodotto) e la valutazione del potenziale mercato. Non si tratta di pellicola in fogli, né di cartone, né di plastica, ma di soluzioni a elevata densità in grado di creare una pellicola protettiva composta esclusivamente da additivi alimentari autorizzati a livello europeo. Il trasferimento dei risultati finali del progetto potrebbe essere già possibile entro il 2014.

CONCLUSIONI

Da quanto sopra esposto, emerge chiara la necessità di standardizzare le procedure e uniformare i coefficienti tecnici da utilizzare nella progettazione e analisi del sistema, al fine di poter effettuare con applicazioni dedicate, comparazioni tra scenari diversi garantendo così la rispondenza delle soluzioni scelte sotto il profilo tecnico-economico ed energetico.

Solo con azioni che hanno come obiettivo l'approfondimento di queste tematiche e che vedono uniti, nello sforzo di rilanciare il settore agro-industriale italiano, enti di ricerca, imprese costruttrici, organizzazioni di categoria, enti di formazione e divulgazione, produttori e trasformatori e, non ultimo, associazioni di consumatori si può dare una nuova spinta al sistema agro-industriale italiano.

Con queste premesse, la ricerca in agricoltura riuscirà a supportare adeguatamente la domanda dell'industria e potrà essere in grado di continuare a fornire e trasferire risultati utili al rilancio della competitività del settore, nel rispetto della tradizione pur con occhio vigile agli sviluppi dell'innovazione.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano tutti i partner, pubblici e privati che hanno cooperato alla realizzazione delle attività di ricerca e di sviluppo sperimentale e al trasferimento dei risultati, il Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali, il Ministero dello Sviluppo Economico e la Fondazione AGER che hanno creduto nelle proposte dei ricercatori, finanziando progetti che hanno permesso di raggiungere obiettivi concreti che confidiamo possano essere utili

al rilancio dell'economia italiana nel settore agro-industriale e in particolare ortofrutticolo.

RIASSUNTO

Il settore orto-frutticolo è caratterizzato dalla necessità di rispondere a esigenze particolari per la conservazione dal campo alla tavola, legate alla diversità delle materie prime. Le esigenze di mercato richiedono prodotti disponibili, poco deperibili, pratici, "freschi", a costi contenuti. Questa complessa richiesta rappresenta l'insieme delle forze motrici che, negli ultimi anni, hanno spinto il settore alimentare all'innovazione di materiali, macchine e tecnologie. Quali soluzioni per il futuro? I risultati della ricerca pubblica possono favorire il trasferimento di informazioni per la risoluzione di problemi connessi al rispetto delle norme igieniche e di sicurezza, dei lavoratori e del consumatore, alla possibile riduzione degli scarti e la riduzione dell'impatto ambientale, alla messa a punto di prodotti innovativi per il rilancio della competitività aziendale e industriale.

ABSTRACT

The fruit and vegetables sector is characterized by the need to reply to particular needs for storage from field to table, related to the diversity of raw materials. The market demands require basket, not perishable, practical, "fresh", and low cost products. That represents a complex set of driving forces that, in recent years have prompted the food industry innovation of materials, machines and technologies. What solutions for the future? The results of public research can facilitate the transfer of information to solve problems related to compliance with the hygiene and safety of workers and consumers; the possible waste reduction and the reduction of the environmental impact; the development of innovative products for the company's competitiveness at both the internal and the industrial level.

BIBLIOGRAFIA

- CATTANEO T.M.P., FRANCOLINO S., DAFFONCHIO D. (2009): *La ricerca pubblica al servizio delle piccole imprese: Vantaggi della miniaturizzazione della trasformazione casearia e dell'auto approvvigionamento energetico*, «Latte», 12, p. 21.
- CATTANEO T.M.P. (2012): *Industria alimentare e nuove tecnologie tra tradizione e modernità*, in *Alimentazione la sfida del nuovo millennio*, a cura di A. Michelini, L'Erma di Bretschneider, Roma, pp. 127-135.
- CATTANEO T.M.P., RIZZOLO A. (2012): *Soluzioni di imballaggio sostenibili per l'orticoltura*, «L'Informatore Agrario», 68, (31), pp. 57-59.
- CATTANEO T.M.P., RIZZOLO A. (2013): *Packaging, soluzioni controllate per migliorare la qualità dell'offerta*, «Frutticoltura», 9, pp. 2-5.
- CORTELLINO G., RIZZOLO A., GOBBI S. (2014): *Effect of Conventional and Alternative*

- Modified Atmosphere Packaging on the Shelf-Life of Fresh-Cut Apples*, «Acta Horticulturæ», accettato il 14 ottobre 2013, in corso di stampa.
- DELLA CAMPA M., AVITABILE LEVA A., BERTOLO G., MAESTRELLI A. (2011): *Use of energy saving system in small artisanal food productions. «Solar candies»: a traditional product made up thorough a solar drying system. Comparison between the traditional and the innovative technique*, in *Book of Abstracts, «2nd International ISEKI Food Conference*», a cura di Silva C.L.M., Ramos I.N., Pittia P., Oliveira S.M., Spazio Immagina S.r.L., Milano, p. 176.
- DELLA CAMPA M., LO SCALZO R., BERTOLO G., CATTANEO T. (2012): *Phytochemical changes in processed grape innovative products by a small-scale plant*, in *Book of Abstracts. 2012 EFFOST Annual Meeting*, a cura di N. Gontard, EFFOST, Wageningen, NL, p. 94.
- DELLA CAMPA M., LO SCALZO R., CATTANEO T.M.P, VOKK R., KULDJARV R. (2014): *Studio preliminare per l'impiego di "Napping" Test per la valutazione sensoriale di yogurt aromatizzati*, in *Atti XI Congresso di Scienza e Tecnologia degli Alimenti – XI CISETA*, a cura di S. Porretta, Chiriotti Editore, Torino, accettato il 22 maggio 2013, in corso di stampa.
- PIERGIOVANNI L., LIMBO S. (2004): *The protective effect of film metallization against oxidative deterioration and discoloration of sensitive foods*, «Packaging Technology and Science», 17, pp. 155-164.
- VANOLI M., ECCHER ZERBINI P., GRASSI M., RIZZOLO A. (2010): *Ethylene production and quality in 1-methylcyclopropene treated Abbé Fétel pears after storage in dynamically controlled atmosphere*, «Acta Horticulturæ», 876, pp. 31-38.

Finito di stampare in Firenze
presso la tipografia editrice Polistampa
nel giugno 2014