

**4.**

## **RISULTATI**

Le attività del lavoro di dottorato sono state influenzate dalla necessità di allevare e produrre, durante la campagna maidicola 2004 e 2005, i campioni di mais scelti per questo studio.

I 4 genotipi sono stati allevati impiegando uno schema sperimentale a file, ogni fila costituita da un genotipo.

Le semine (maggio 2004 e 2005) sono state eseguite con eccesso di seme e, in ogni fila, le piante sono state diradate all'investimento desiderato di 6,7 piante/m<sup>2</sup>.

All'epoca della fioritura (luglio-agosto 2004 e 2005) le piante di ciascuna fila sono state impollinate manualmente con polline proveniente dalle piante della stessa fila (Bertolini et al, 1999).

Le piante sono state lasciate in campo fino a maturazione e raccolte (settembre 2004 e 2005) manualmente.

I campioni sono stati scelti in seguito ad un precedente studio, svolto presso l'Istituto Sperimentale per la Cerealicoltura di Bergamo, che aveva come finalità la caratterizzazione per il contenuto in carotenoidi di una "core collection" europea di mais (Pisacane et al, 2003) comprendente genotipi di mais provenienti da diversi paesi europei (Francia, Germania, Grecia, Italia, Portogallo e Spagna).

I risultati avevano mostrato che i campioni con concentrazione media in carotenoidi più elevata erano quelli di provenienza italiana.

Sono così stati scelti i materiali "migliori" di mais e utilizzati per questo lavoro di tesi.

## 4.1 ANALISI DEGLI ANTIOSSIDANTI NELLA FARINA INTEGRALE

### DI MAIS

#### 4.1.1 Carotenoidi

I dati dei campioni allevati durante la campagna maidicola 2004 hanno mostrato che il campione n° 3 presentava il più alto contenuto in carotenoidi totali (42,0 mg kg<sup>-1</sup> s.s.). In tutti i campioni luteina e zeaxantina sono stati i carotenoidi maggiormente significativi con valori compresi tra 0,9 e 14,5 mg kg<sup>-1</sup> per la luteina, e tra 9,3 e 20,9 mg kg<sup>-1</sup> per la zeaxantina.

Tutti i risultati sono mostrati come media di due repliche (tabella 12) e sono stati calcolati escludendo dal peso della farina la % di umidità (tabella 13).

Genotipo	luteina	zeaxantina	a	b	a	b	Carotenoidi totali
			criptoxantina	criptoxantina	carotene	carotene	
1	10,3	16,1	0,3	1,2	0,7	0,0	39,4
2	0,9	20,6	0,6	2,7	1,6	0,0	37,3
3	4,1	20,9	0,5	4,1	0,9	0,0	42,0
4	14,5	9,3	0,0	2,0	0,6	0,1	36,4

Tabella 12: contenuto in carotenoidi (mg kg<sup>-1</sup>) nelle farine integrali dei 4 genotipi oggetto di studio allevati durante la campagna 2004

<b>Genotipo</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>% Umidità</b>	8,0	8,3	7,7	8,7

Tabella 13: percentuale di umidità dei campioni di farina integrale allevati durante la campagna 2004

I dati dei campioni allevati durante la campagna 2005 sono mostrati nella tabella 14 come media di due repliche.

Questi mostrano che il campione n° 2 presentava la concentrazione maggiore di carotenoidi totali (90,4 mg kg<sup>-1</sup> s.s.). In tutti i campioni analizzati la luteina e la zeaxantina sono stati i carotenoidi maggiormente rappresentativi con valori compresi, per la luteina tra 4,4 e 26,8 mg kg<sup>-1</sup> calcolati sulla sostanza secca e, per la zeaxantina, tra 10,1 e 27,7 mg kg<sup>-1</sup> s.s. Tutti i risultati sono stati calcolati al netto della % di umidità (tabella 15).

<b>Genotipo</b>	<b>luteina</b>	<b>zeaxantina</b>	<b>a criptoxantina</b>	<b>b criptoxantina</b>	<b>a carotene</b>	<b>b carotene</b>	<b>Carotenoidi totali</b>
<b>1</b>	26,8	19,6	0,7	1,2	0,0	0,0	58,6
<b>2</b>	25,3	27,7	1,1	3,3	0,8	1,2	90,4
<b>3</b>	4,4	22,2	1,0	4,0	0,0	0,6	48,1
<b>4</b>	22,9	10,1	0,0	1,0	0,6	0,5	53,6

Tabella 14: contenuto in carotenoidi (mg kg<sup>-1</sup>) nelle farine integrali dei 4 genotipi oggetto di studio allevati durante la campagna 2005

<b>Genotipo</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
<b>% Umidità</b>	8,8	9,3	7,8	8,9

Tabella 15: percentuale di umidità dei campioni di farina integrale allevati durante la campagna 2005

I risultati sui singoli carotenoidi dei genotipi oggetto di studio, e allevati negli anni 2004 e 2005, hanno evidenziato che luteina e zeaxantina sono i carotenoidi maggiormente presenti nella granella di mais. Questo risultato è in accordo con precedenti studi (Janick-Buckner et al, 2001).

#### 4.1.2 Tocoli

Diversi metodi HPLC per l'analisi dei tocoli, sono riportati in letteratura. Pyca e Sliwiok (2001) hanno descritto la separazione di  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferolo utilizzando differenti tecniche cromatografiche e i problemi di interazione tra la struttura della molecola e le sue proprietà fisiche, chimiche e biologiche. In questo articolo, il confronto tra le diverse tecniche ha indicato la NP-HPLC (Normal Phase High Performance Liquid Chromatography) come la migliore tecnica di separazione dei tocoferoli. In un altro studio (Ruperéz et al, 2001) si è confermato che la cromatografia in fase normale dà una buona separazione di tutti gli isomeri.

Kamal-Eldin et al. (2000) hanno messo a confronto differenti colonne cromatografiche per cercare la colonna HPLC universale per tutti e otto i componenti dei tocoli.

Panfilì et al. (2003) hanno descritto una procedura rapida, usando una colonna in fase normale, per la determinazione simultanea di tutti gli isomeri di tocoferoli e tocotrienoli. Il risultato descritto è stato la separazione degli otto isomeri con NP-HPLC, estratti saponificati prima dell'iniezione in HPLC. Un altro studio ha riportato la descrizione di questa tecnica di estrazione (Lang et al, 1992).

La possibilità di utilizzare genotipi di mais con un alto contenuto in antiossidanti come materia prima per produrre alimenti e la possibilità di mettere a punto un metodo veloce per l'analisi simultanea di tutti e otto gli isomeri, ha spinto a studiare questi composti.

Le prove sperimentali, condotte su avena, hanno dimostrato di poter determinare e quantificare simultaneamente tocoferoli e tocotrienoli attraverso un'analisi NP-HPLC, senza trattamento di saponificazione dei campioni e con una corsa cromatografia totale di 11 minuti, pari ad una riduzione del tempo di analisi superiore al 100% (figura 8). L'autenticazione dei singoli componenti nelle analisi HPLC è stata ottenuta confrontando le molecole dei singoli tocoli con gli standard equivalenti allo stesso tempo di ritenzione. (Pisacane et al, 2004).

In seguito, si è verificata l'efficacia del metodo per la determinazione dei tocoli anche per l'analisi di mais, frumento (duro, tenero e monococco), orzo e riso.

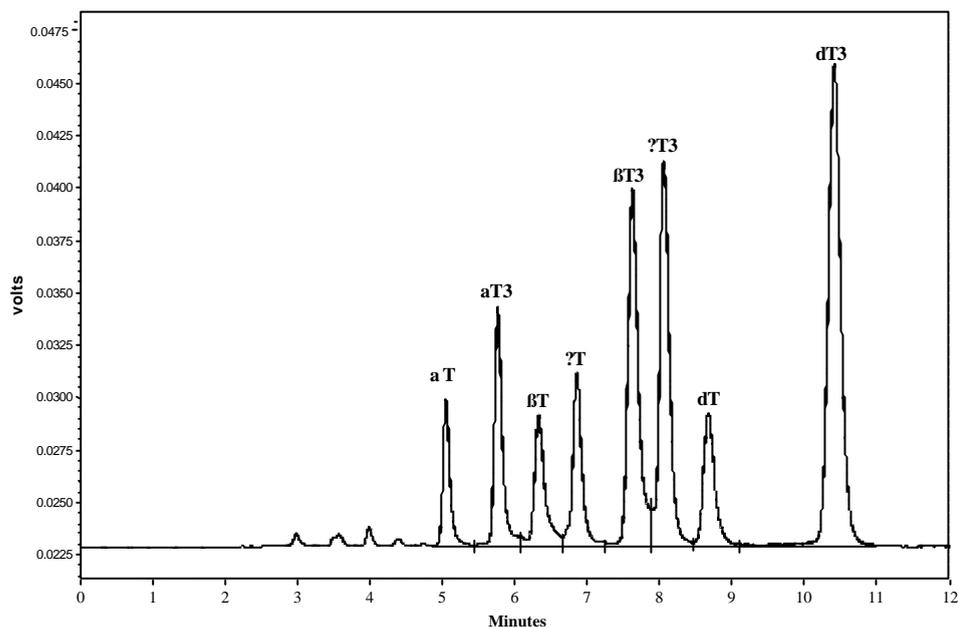


Figura 8: cromatogramma di riferimento degli otto standard di tocoli

Per i tocoli totali, delle farina integrali, sono stati analizzati solo i campioni allevati durante la campagna maidicola del 2005.

I risultati hanno mostrato che il valore più alto è stato trovato nel campione n° 1 (251,2 mg kg<sup>-1</sup> s.s.).

L'isomero  $\gamma$ -tocoferolo si è confermato (Kurilich e Juvik, 1999a e 1999b) tra i tocoli quello maggiormente rappresentativo per tutti i campioni, con valori di concentrazione compresi tra 66,4 e 176,0 mg kg<sup>-1</sup> s.s.

Anche  $\alpha$ -tocoferolo (valori tra 20,3 e 32,8 mg kg<sup>-1</sup> s.s.),  $\alpha$ -tocotrienolo (valori tra 11,2 e 19,0 mg kg<sup>-1</sup> s.s.) e  $\beta$ -tocotrienolo (valori tra 22,8 e 31,6 mg kg<sup>-1</sup> s.s.) hanno mostrato concentrazioni discrete.

Tutti i risultati sono stati calcolati sulla sostanza secca (tabella 15) e mostrati (tabella 16) come media di due repliche.

<b>Genotipo</b>	<b>a - T</b>	<b>a - T3</b>	<b>b - T</b>	<b>g - T</b>	<b>b - T3</b>	<b>g - T3</b>	<b>d - T</b>	<b>d - T3</b>	<b>Tocoli totali</b>
<b>1</b>	21,6	14,7	0,6	176,0	0,0	31,6	2,4	1,1	248,1
<b>2</b>	32,8	19,0	0,9	172,5	0,0	21,9	2,7	1,5	251,2
<b>3</b>	20,3	11,2	0,3	94,1	1,3	24,9	0,6	0,3	153,0
<b>4</b>	27,3	17,8	0,4	66,4	0,9	22,8	0,5	0,5	136,5

T = tocoferolo;  
T3 = tocotrienolo

Tabella 16: contenuto in tocoli (mg kg<sup>-1</sup>) nelle farine integrali dei 4 genotipi oggetto di studio allevati durante la campagna 2005

## **4.2 ANALISI DELLE MICOTOSSINE**

I risultati delle analisi di micotossine, sui campioni allevati nell'anno 2005, hanno mostrato che DON e Aflatossina B1 sono sempre risultati assenti nei campioni analizzati.

Il contenuto di fumonisina ha, invece, presentato valori compresi tra 0,0 e 10,0 mg kg<sup>-1</sup> e lo zearalenone valori compresi tra 3,4 e 17,1 µg kg<sup>-1</sup> (tabella 17).

<b>genotipo</b>	<b>Fumonisine (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Zearalenone (µg kg<sup>-1</sup>)</b>
<b>1</b>	1,0	17,1
<b>2</b>	0,0	13,3
<b>3</b>	3,0	12,7
<b>4</b>	10,0	3,4

Tabella 17: contenuto di fumonisina e zearalenone nei 4 genotipi oggetto di studio (i risultati sono le medie di due repliche)

### 4.3 ANALISI STATISTICA

Il coefficiente di correlazione semplice (r) tra antiossidanti e zearalenone non è mai risultato significativo.

Il coefficiente di correlazione semplice (r) tra antiossidanti e fumonisina non è risultato significativo con luteina,  $\alpha$ - e  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -,  $\beta$ - e  $\gamma$ -tocoferolo e tutti e quattro gli isomeri del tocotrienolo.

Le correlazioni negative significative sono riportate in tabella 18.

I valori nella tabella 18 mostrano che esiste una correlazione negativa significativa tra la concentrazione di fumonisina e zeaxantina ( $r = -0,92$ ),  $\alpha$ -criptoxantina ( $r = -0,97$ ) e  $\beta$ -criptoxantina ( $r = -0,70$ ).

Nella tabella 19 viene mostrata una correlazione negativa significativa tra il  $\gamma$ -tocoferolo e il contenuto in fumonisina ( $r = -0,69$ ).

<b>Antiossidanti</b>	<b>Fumonisina</b>
zeaxantina	-0,92**
$\alpha$ -criptoxantina	-0,97**
$\beta$ -criptoxantina	-0,70*
$\gamma$ - tocoferolo	-0,69*
** = significativo con $p = 0,01$ ; * = significativo con $p = 0,05$	

Tabella 18: coefficiente di correlazione semplice (r) tra contenuto in antiossidanti e accumulo di fumonisina

Al fine di verificare l'esistenza di una correlazione negativa e significativa tra il contenuto in zeaxantina e l'accumulo in fumonisina, le analisi sono state ripetute su 16 campioni casuali di farina di genotipi differenti di mais. I risultati sono riportati in tabella 19.

<b>N° campioni</b>	<b>Zeaxantina (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>Fumonisina (µg ml<sup>-1</sup>)</b>
<b>1</b>	6,0	0
<b>2</b>	21,9	0
<b>3</b>	6,6	3
<b>4</b>	8,0	4
<b>5</b>	15,7	0
<b>6</b>	11,7	1
<b>7</b>	12,3	0
<b>8</b>	7,0	3
<b>9</b>	6,3	3
<b>10</b>	5,6	4
<b>11</b>	8,7	0
<b>12</b>	6,3	1
<b>13</b>	3,0	5
<b>14</b>	7,9	2
<b>15</b>	14,5	1
<b>16</b>	5,5	4

Tabella 19: contenuto di zeaxantina (mg kg<sup>-1</sup>) e fumonisina (µg ml<sup>-1</sup>) nei 16 genotipi di mais scelti per verifica

La correlazione nei 16 campioni analizzati come verifica, tra zeaxantina e fumonisina, ha mostrato un valore di  $-0,46$  con  $p=0,025$ .

Questa correlazione è risultata ancora negativa, ma con un'intensità più bassa (-0,46) imputabile alla più bassa concentrazione di zeaxantina riscontrata nei genotipi analizzati come verifica.

Lo studio dell'influenza della concentrazione di zeaxantina sulla crescita radiale del *Fusarium verticillioides* è stata valutata con successivi test in vitro.

#### 4.4 INIBIZIONE DELLA CRESCITA DEL FUNGO

L'effettiva efficacia degli antiossidanti sulla crescita del fungo è stata valutata attraverso test in vitro. Per questo test è stato scelto come antiossidante la zeaxantina, in quanto è l'antiossidante specifico del mais e per questo contenuto nei campioni a concentrazioni più elevate.

Prima di verificare l'efficacia della zeaxantina sulla crescita del fungo, sono state fatte prove di inibizione con il solo etanolo (solvente in cui è disciolto l'antiossidante), al fine di verificare se l'etanolo può causare un'inibizione. Questa prova ha dimostrato che l'etanolo, confrontato con piastre di controllo contenente acqua sterile, non causa inibizione della crescita del fungo quindi è stato possibile usarlo come controllo (figura 9).

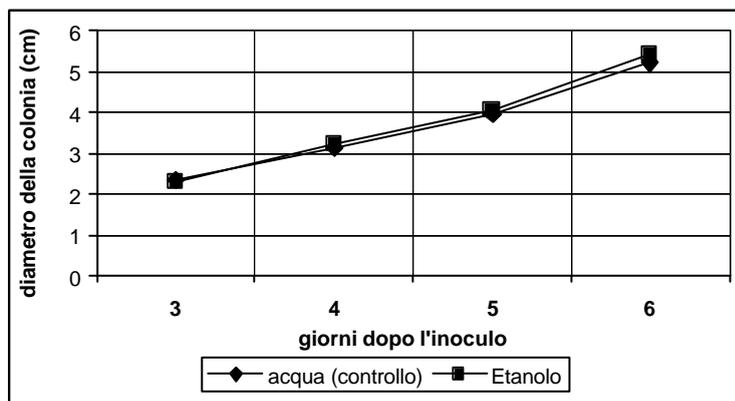


Figura 9: Effetto dell'etanolo sulla crescita radiale di *Fusarium verticillioides* (ceppo MRC826), a 3, 4, 5 e 6 giorni dopo l'inoculo, confrontate con acqua sterile (controllo)

Le piastre sono state osservate allo stereoscopio, modello Heerbrugg Plan 1x (WILD) corredato da macchina fotografia MPS 51S e Photoautomat MPS 45 (WILD).

I risultati ottenuti dai test in vitro hanno suggerito che mediamente la zeaxantina induce un'inibizione della crescita radiale del fungo. Un esempio di crescita e inibizione, 4 giorni dopo l'inoculo, viene riportato in figura 10.

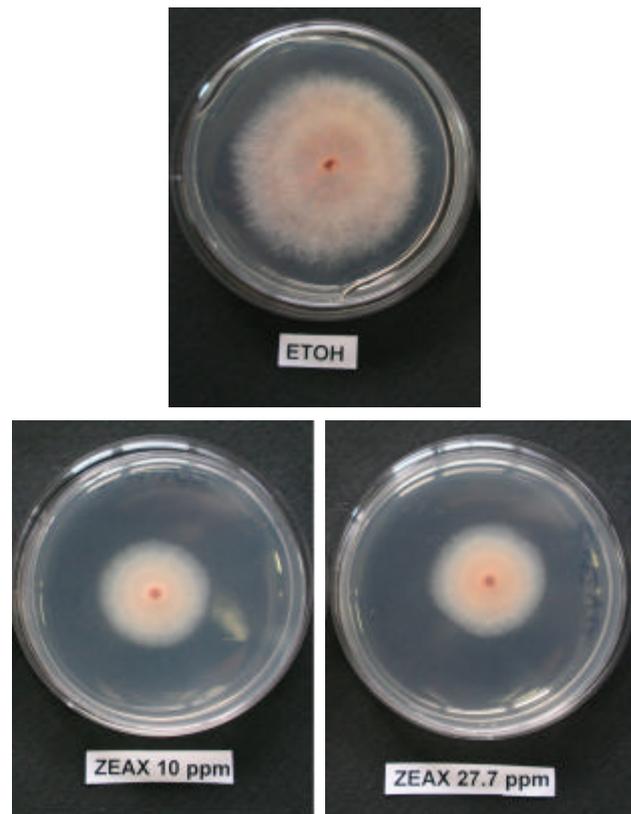


Figura 10: Esempio di crescita del *Fusarium verticillioides* in test in vitro (4 giorni dopo l'inoculo)

Le concentrazioni di zeaxantina testate hanno variato tra 10 e 27,7 mg kg<sup>-1</sup>, essendo questo il range di valori riscontrato nel calcolo della concentrazione della zeaxantina nei campioni oggetto di studio. Più in dettaglio, 6 giorni dopo l'inoculo, il diametro della colonia del fungo cresciuto su etanolo (controllo) misurava 5 cm, mentre le colonie del fungo inoculate in presenza di zeaxantina, mostravano una riduzione del

diametro con una misura di finale di 3 cm (figura 11) e senza grandi differenze tra i campioni a diverse concentrazioni di zeaxantina.

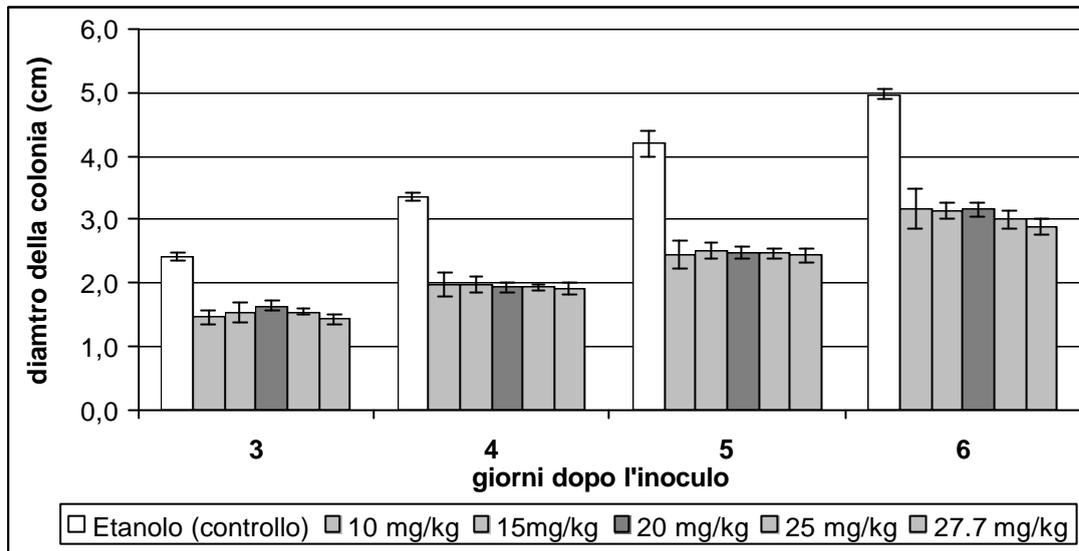


Figura 11: Effetto dei differenti livelli di zeaxantina sulla crescita radiale di *Fusarium verticillioides* (ceppo MRC826), inoculato su PDA, a 3, 4, 5 e 6 giorni dopo l'inoculo, confrontate con il controllo. Le barre di errore indicano  $\pm$  D.S.

La riduzione percentuale della crescita del fungo per effetto della zeaxantina (formula di Pandey et al, 1982), è stata calcolata con le concentrazioni di 10 e 27,7 mg kg<sup>-1</sup> e in media ha riportato valori di riduzione del 40,2% con la zeaxantina ad una concentrazione di 10 mg kg<sup>-1</sup> e 42% (valore medio) con la zeaxantina avente una concentrazione di 27,7 mg kg<sup>-1</sup> (Tabella 20).

<b>Trattamento</b>	<b>3 giorni</b>	<b>4 giorni</b>	<b>5 giorni</b>	<b>6 giorni</b>	<b>Media totale della % di inibizione</b>
<b>Zeaxantina 10,0 mg kg<sup>-1</sup></b>	39,7 ± 0,11	41,1 ± 0,19	41,8 ± 0,22	38,1 ± 0,31	40,2 ± 1,6
<b>Zeaxantina 27,7 mg kg<sup>-1</sup></b>	40,9 ± 0,08	43,3 ± 0,10	42,0 ± 0,11	41,9 ± 0,13	42,0 ± 0,9
<b>I dati sono la media di quattro repliche</b>					

Tabella 20: Percentuale di inibizione della crescita radiale (media ± DS) confrontata con il controllo (etanolo)

## **4.5 ANALISI DEI CAROTENOIDI NELLE FRAZIONI DELLA LAVORAZIONE DELLA GRANELLA DI MAIS**

Le frazioni oggetto di studio, per ognuno dei genotipi allevati nell'anno 2004 e 2005, sono state:

- farina comune;
- semola per polenta;
- scarto della lavorazione della farina comune (scarto molino);
- scarto della lavorazione della semola per polenta (scarto semolatrice).

I dati sul contenuto totale di carotenoidi, nei campioni allevati nell'anno 2004, hanno mostrato che in tutte le frazioni di mais analizzate il genotipo numero 2 ha presentato i valori più alti eccetto che per lo scarto della farina comune (Tabella 21).

In tutti i campioni analizzati la luteina e la zeaxantina sono stati i carotenoidi più rappresentativi con concentrazioni che hanno variato per la luteina tra 0,0 e 11,1 mg kg<sup>-1</sup> calcolato sulla sostanza secca e, per la zeaxantina tra 0,0 e 13,9 mg kg<sup>-1</sup> calcolato sulla sostanza secca. Il range dei carotenoidi totali ha mostrato valori compresi tra 0,0 e 37,4. I valori sono la media di due repliche per campione.

I dati sul contenuto totale di carotenoidi, nei campioni allevati nell'anno 2005, hanno mostrato che in tutte le frazioni di mais analizzate il genotipo numero 2 ha rispecchiato l'andamento dell'anno precedente continuando a presentare i valori più alti eccetto che per lo scarto della farina comune (Tabella 22).

Anche la luteina e la zeaxantina hanno seguito l'andamento dimostrandosi i carotenoidi più rappresentativi con concentrazioni che hanno variato per la luteina, tra

0,0 e 32,9 mg kg<sup>-1</sup> calcolato sulla sostanza secca e, per la zeaxantina tra 0,0 e 35,1 mg kg<sup>-1</sup> calcolato sulla sostanza secca. Il range dei carotenoidi totali ha mostrato valori compresi tra 0,0 e 116,3. I valori sono la media di due repliche per campione.

<b>Genotipo</b>	<b>Frazione</b>	<b>Luteina</b>	<b>Zeaxantina</b>	<b>Carotenoidi totali</b>
<b>1</b>	Farina comune	6,5	7,5	20,1
<b>2</b>		9,3	10,1	29,4
<b>3</b>		2,0	6,0	12,6
<b>4</b>		10,6	6,2	25,2
<b>1</b>	Semola per polenta	4,9	5,8	15,1
<b>2</b>		6,7	8,2	21,7
<b>3</b>		1,7	5,3	11,2
<b>4</b>		7,2	4,0	16,1
<b>1</b>	Scarto del molino	0,0	0,0	0,0
<b>2</b>		0,0	0,0	0,0
<b>3</b>		0,0	0,0	0,0
<b>4</b>		1,1	0,5	2,2
<b>1</b>	Scarto della semolatrice	4,9	6,5	16,8
<b>2</b>		11,1	13,9	37,4
<b>3</b>		1,8	6,0	12,3
<b>4</b>		6,8	4,5	16,3

Tabella 21: contenuto (mg kg<sup>-1</sup>) dei carotenoidi maggiormente rappresentativi delle frazioni dei 4 genotipi di mais allevati nel 2004

<b>Genotipo</b>	<b>Frazione</b>	<b>Luteina</b>	<b>Zeaxantina</b>	<b>Carotenoidi totali</b>
<b>1</b>	Farina comune	9,4	35,1	83,5
<b>2</b>		32,9	31,1	116,3
<b>3</b>		17,2	16,5	56,1
<b>4</b>		31,2	13,5	75,3
<b>1</b>	Semola per polenta	4,5	19,1	44,7
<b>2</b>		18,6	23,3	74,1
<b>3</b>		14,2	16,6	50,8
<b>4</b>		18,9	8,3	44,6
<b>1</b>	Scarto del molino	0,0	0,8	1,2
<b>2</b>		1,3	1,5	4,2
<b>3</b>		0,8	0,0	1,3
<b>4</b>		3,5	1,5	7,8
<b>1</b>	Scarto della semolatrice	7,3	24,1	57,0
<b>2</b>		22,7	27,4	87,0
<b>3</b>		11,7	12,3	39,0
<b>4</b>		19,6	9,1	46,2

Tabella 22: contenuto ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) dei carotenoidi maggiormente rappresentativi delle frazioni dei 4 genotipi di mais allevati nel 2005

#### **4.6 RESA ALLA MACINAZIONE**

Considerando l'alto contenuto in carotenoidi dello scarto prodotto dalla lavorazione della semola per polenta (scarto semolatrice), è stata calcolata la resa alla macinazione dei 4 genotipi allevati durante la campagna maidicola 2004 (tabella 23) e 2005 (tabella 24).

<b>Genotipo</b>	<b>Produzione maidicola (t/ha)</b>	<b>Resa alla macinazione (%)</b>				
		<b>Farina comune</b>	<b>Semola per polenta</b>	<b>Scarto molino</b>	<b>Scarto semolatrice</b>	<b>Totale</b>
<b>1</b>	1,86	19,9	76,1	1,3	2,7	100
<b>2</b>	3,33	17,3	78,4	1,2	3,1	100
<b>3</b>	3,22	14,3	50,2	1,2	4,3	100
<b>4</b>	2,02	23,3	70,8	1,4	4,5	100

Tabella 23: Produzione maidicola (t/ha) e resa alla macinazione (%) per i 4 genotipi allevati nel 2004

<b>Genotipo</b>	<b>Produzione maidicola (t/ha)</b>	<b>Resa alla macinazione (%)</b>				
		<b>Farina comune</b>	<b>Semola per polenta</b>	<b>Scarto molino</b>	<b>Scarto semolatrice</b>	<b>Totale</b>
<b>1</b>	2,69	14,9	79,2	3,9	2,0	100
<b>2</b>	2,67	14,7	78,8	3,3	3,2	100
<b>3</b>	3,02	15,5	81,1	2,6	0,8	100
<b>4</b>	3,75	17,9	77,1	2,9	2,1	100

Tabella 24: Produzione maidicola (t/ha) e resa alla macinazione (%) per i 4 genotipi allevati nel 2005

La produzione di sottoprodotti derivanti dalle lavorazioni di materiali agricoli, quali il mais, ha fatto aumentare l'interesse verso questi prodotti di scarto.

I dati ottenuti da questo studio e l'interesse per gli antiossidanti naturali e la possibilità di poterli recuperare ha portato ad evidenziare lo scarto della semolatrice come possibile fonte, a basso costo, di antiossidanti.

#### 4.7 ANALISI DEI TOCOLI NELLE FRAZIONI DELLA LAVORAZIONE

##### DELLA GRANELLA DI MAIS DEL GENOTIPO n° 1

Le frazioni oggetto di studio, per il genotipo n°1 (scelto per un miglior comportamento durante le fasi di macinazione), allevato nell'anno 2005, sono state:

- farina comune;
- semola per polenta;

I dati sul contenuto totale di tocoli hanno mostrato che la frazione farina comune ha presentato i valori più alti (Tabella 25).

Il  $\gamma$ -tocoferolo si è dimostrato l'isomero più rappresentativo con concentrazioni che hanno variato tra 82,3 mg kg<sup>-1</sup> s.s. per la semola per polenta calcolato sulla sostanza secca, e 134,9 mg kg<sup>-1</sup> per la farina comune calcolato sulla sostanza secca. I valori sono la media di due repliche per campione.

<b>Genotipo n°1</b>	<b>a - T</b>	<b>a - T3</b>	<b>b - T</b>	<b>g - T</b>	<b>b - T3</b>	<b>g - T3</b>	<b>d - T</b>	<b>d - T3</b>	<b>Tocoli totali</b>
<b>Farina comune</b>	29,2	16,2	0,3	134,9	1,3	35,3	0,8	0,7	218,7
<b>Semola per polenta</b>	18,6	9,5	0,2	82,3	0,9	21,0	0,6	0,2	133,3

T = tocoferolo;  
T3 = tocotrienolo

Tabella 25: contenuto in tocoli (mg kg<sup>-1</sup>) nelle frazioni del genotipo n°1 allevato durante la campagna 2005

#### **4.8 ANALISI DEGLI ANTIOSSIDANTI NELLA PASTA**

I risultati sulla pasta, spaghetti, ottenuta miscelando in due diversi rapporti (30:70 e 15:85) la farina comune del genotipo n° 1, e essiccata a diverse temperature, sono stati confrontati con un campione di pasta contenente solo frumento duro.

Il contenuto in carotenoidi totali è risultato pari a 0,2 mg/100g s.s. per la pasta di sola semola di frumento duro. Valori più elevati, compresi tra 0,4 e 2,0 mg/100g s.s. sono stati registrati nelle altre tipologie di paste corrispondenti ad aggiunte del 15 o 30% di farina di mais, rispettivamente (tabella 26).

I diversi trattamenti termici a bassa e alta temperatura nella preparazione delle paste, arricchite con farina di mais, hanno evidenziato, come atteso, una riduzione nel contenuto in antiossidanti totali pari a circa il 40% imputabile a più elevate temperature di essiccazione.

<b>Campione</b>	<b>Composizione pasta</b>	<b>Essiccazione</b>	<b>Carotenoidi totali (mg/100g s.s.)</b>
<b>Pasta di semola di frumento duro</b>	100% semola di frumento duro	Alta temperatura	0,2
<b>Pasta ottenuta con miscelazione di farina del genotipo n°1+frumento duro</b>	15% mais + 85% frumento	Bassa temperatura	1,0
	15% mais + 85% frumento	Alta temperatura	0,4
	30% mais + 70% frumento	Bassa temperatura	2,0
	30% mais + 70% frumento	Alta temperatura	1,0

Tabella 26: contenuto in carotenoidi totali (mg/100g s.s.) su pasta di frumento duro e pasta ottenuta con miscelazione di farina del genotipo n°1 e semola di frumento duro

Il contenuto in tocoli totali ha seguito un andamento analogo. La pasta preparata con sola semola di frumento duro ha rivelato un contenuto in tocoli pari a 1,6 mg/100g s.s., l'aggiunta di farina di mais nella misura del 15 o 30% nella preparazione della pasta, fa aumentare il contenuto di questi composti a valori pari a 3,0 e 4,0 mg/100g s.s., rispettivamente (tabella 27). L'alta temperatura produce una riduzione nel contenuto in tocoli totali rispetto alla bassa temperatura, pari a circa il 38%; questo effetto è molto più evidente sulla pasta preparata con il 15% di aggiunta di farina di mais il cui contenuto in tocoli totali si riduce fino a 1,4 mg/100g s.s., valore inferiore anche alla pasta di farina di solo frumento duro.

<b>Campione</b>	<b>Composizione pasta</b>	<b>Essiccazione</b>	<b>Tocoli totali (mg/100g s.s.)</b>
<b>Pasta di semola di frumento duro</b>	100% semola di frumento duro	Alta temperatura	1,6
<b>Pasta ottenuta con miscelazione di farina del genotipo n°1+frumento duro</b>	15% mais + 85% frumento	Bassa temperatura	3,0
	15% mais + 85% frumento	Alta temperatura	1,3
	30% mais + 70% frumento	Bassa temperatura	4,1
	30% mais + 70% frumento	Alta temperatura	2,4

Tabella 27: contenuto in tocoli totali (mg/100g s.s.) su pasta di frumento duro e pasta ottenuta con miscelazione di farina del genotipo n°1 e semola di frumento duro

La pasta a più elevato contenuto in antiossidanti è stata ottenuta miscelando semola di frumento duro con farina di mais nel rapporto (70:30) e essiccata a bassa temperatura.

#### **4.9 CAPACITA' ANTIOSSIDANTE TOTALE (TAC)**

Il risultato sul contenuto in antiossidanti mostra che la pasta ottenuta miscelando semola di frumento duro con farina di mais nel rapporto (70:30) e essiccata a bassa temperatura è quella con la concentrazione più elevata, come è stato anche confermato dall'analisi sulla capacità antiossidante totale (TAC).

Il suddetto tipo di pasta ha mostrato il valore di TAC più alto, 0,61 TAA mmoliTrx/kg .

Nella tabella 28 si evince che l'essiccazione ad elevata temperatura riduce drasticamente la TAC delle paste con mais, che mostrano valori confrontabili con la pasta di semola di frumento duro (controllo). Al contrario, le paste essiccate a basse temperature mostrano valori di TAC più alti rispetto al controllo.

<b>Campione</b>	<b>Composizione pasta</b>	<b>Essiccazione</b>	<b>TAA mmoliTrx/Kg</b>	<b>Dev.St.</b>
<b>Pasta di semola di frumento duro</b>	100% semola di frumento duro	Alta temperatura	0,05	0,01
<b>Pasta ottenuta con miscelazione di farina del genotipo n°1+frumento duro</b>	15% mais + 85% frumento	Bassa temperatura	0,15	0,01
	15% mais + 85% frumento	Alta temperatura	0,08	0,02
	30% mais + 70% frumento	Bassa temperatura	0,61	0,18
	30% mais + 70% frumento	Alta temperatura	0,09	0,03

Tabella 28: capacità antiossidante totale (TAC)

#### **4.10 ANALISI DEGLI ANTIOSSIDANTI NELLA PASTA DOPO COTTURA**

Il contenuto in carotenoidi e tocoli nella pasta (spaghetti), ottenuta miscelando nel rapporto 30:70 la farina comune del genotipo n° 1 e frumento duro, e essiccata a diverse temperature, è stato determinato dopo cottura e liofilizzazione dei campioni.

Il contenuto in carotenoidi totali non ha dimostrato significative differenze in relazione alla temperatura di essiccazione della pasta. I valori sono risultati pari a 0,86 mg/100g s.s. per la pasta essiccata a bassa temperatura e 0,83 mg/100g s.s. per quella essiccata ad alte temperature (tabella 29).

<b>Pasta con 30% mais + 70% frumento</b>	<b>Luteina</b>	<b>Zeaxantina</b>	<b>Totale carotenoidi</b>
<b>Bassa temperatura</b>	0,29	0,30	0,86
<b>Alta temperatura</b>	0,33	0,27	0,83

Tabella 29: concentrazione di carotenoidi (mg/100g s.s.) in pasta ottenuta con miscelazione del 30% di farina del genotipo n°1 e semola di frumento duro, essiccata a diverse temperature, dopo cottura

Il contenuto in tocoli, come riportato in tabella 30, sembra essere influenzata dal trattamento termico. Per ogni isomero si osserva dopo trattamento ad alte temperature una concentrazione inferiore rispetto al processo a basse temperature.

I valori dei tocoli totali sono risultati pari a 1,92 mg/100g s.s. per la pasta essiccata a bassa temperatura e 1,51 mg/100g s.s. per quella essiccata ad alte temperature.

<b>Pasta con 30% mais + 70% frumento</b>	a - T	a - T3	b - T	g - T	b - T3	g - T3	d - T	d - T3	<b>Tocoli totali</b>
<b>Bassa temperatura</b>	0,57	0,13	0,19	0,19	0,60	0,22	0,00	0,02	1,92
<b>Alta temperatura</b>	0,42	0,09	0,13	0,12	0,41	0,12	0,00	0,02	1,51

T = tocoferolo;  
T3 = tocotrienolo

Tabella 30: concentrazione di tocoli (mg/100g s.s.) in pasta ottenuta con miscelazione del 30% di farina del genotipo n°1 e semola di frumento duro, essiccata a diverse temperature, dopo cottura

Confrontando i risultati delle analisi sui carotenoidi e tocoli, prima e dopo la cottura della pasta, è stato osservata una diminuzione del contenuto degli antiossidanti imputabile alla degradazione termica (figura 12).

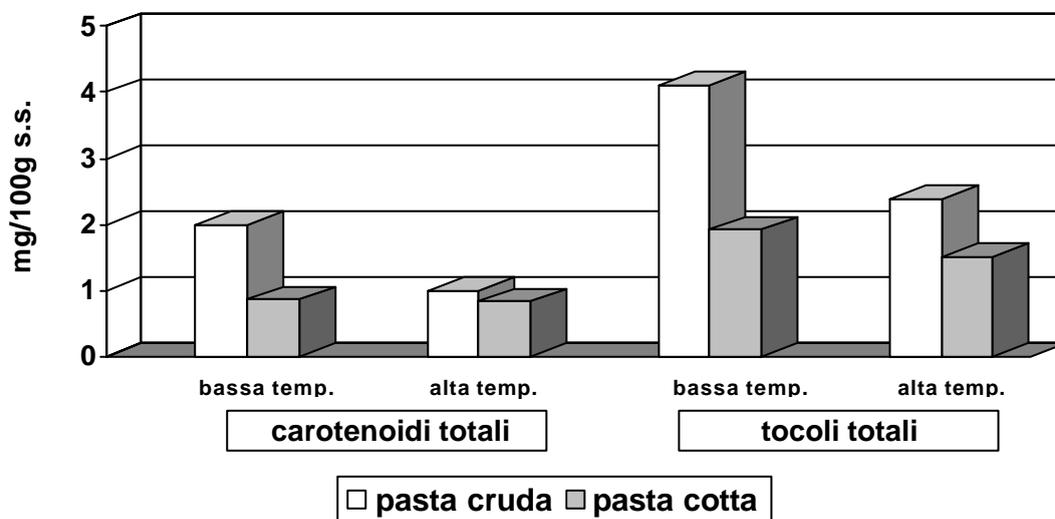


Figura 12: confronto tra la concentrazione totale di carotenoidi e tocoli (mg/100g s.s.) in pasta ottenuta con miscelazione del 30% di farina del genotipo n°1 e semola di frumento duro, essiccata a diverse temperature, prima e dopo la cottura