

Giornata di studio:

Innovazione di processo e prodotto
nella filiera orzo per migliorare la qualità
e la sostenibilità ambientale
di alimenti e bevande

Firenze, 7 ottobre 2015

Nota di redazione: alla giornata di studio hanno partecipato anche Paolo Fantozzi (“Introduzione al tema”) e Francesco Fantozzi con una relazione su “Impiego energetico di biomasse residuali della filiera orzo-birra”. I relatori non hanno consegnato il testo per la stampa

ALESSANDRO TONDELLI*, STEFANO DELBONO*, FRANZ BADECK*,
CHIARA BISELLI*, FULVIA RIZZA*, DONATA PAGANI*, NADIA FACCINI*,
RENZO ALBERICI*, MARINA BARONCHELLI*, FABIO REGGIANI*,
ALBERTO GIANINETTI*, GIAMPIERO VALÈ*, LUIGI CATTIVELLI*

Innovazione e sostenibilità nella coltivazione dell'orzo

I. INTRODUZIONE

La capacità delle piante coltivate di adattarsi ai diversi ambienti del pianeta determina il loro areale di diffusione, così se da un lato esistono specie capaci di crescere solo in ambienti molto specifici (ad esempio le piante tropicali) dall'altro ci sono piante caratterizzate da una marcata adattabilità ambientale. L'orzo è probabilmente la specie in cui questa caratteristica è più accentuata, essendo coltivato a partire dagli ambienti freddi del circolo polare artico sino ai margini del deserto, passando per l'altopiano himalayano. La capacità di questa specie di adattarsi alle condizioni più disparate è sostenuta da una ricca diversità genetica che oggi è accuratamente caratterizzata a livello molecolare e valutata a livello fenotipico per identificare nuovi caratteri che possono contribuire a migliorare la sostenibilità della coltura. La grande capacità di adattamento dell'orzo è innanzitutto legata alla presenza di fattori genetici che consentono di sincronizzare il ciclo vegetativo della pianta con l'ambiente (richiesta di vernalizzazione, sensibilità al fotoperiodo e geni di precocità). In questo modo si possono avere orzi primaverili precoci adatti agli ambienti con inverni freddi e lunghi e una breve stagione primaverile-estiva, così come orzi invernali tardivi capaci di sfruttare appieno tutte le potenzialità produttive dei climi temperati. Inoltre la buona resistenza alla siccità dell'orzo consente alla pianta di ben adattarsi agli ambienti siccitosi come quelli del Nord Africa o del Medio Oriente dove varietà di orzo primaverile vengono seminate in inverno per sfruttare al meglio la maggiore piovosità della stagione invernale-primaverile (fig. 1).

* *Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (CREA), Centro di ricerca per la genomica vegetale, Fiorenzuola d'Arda (PC)*

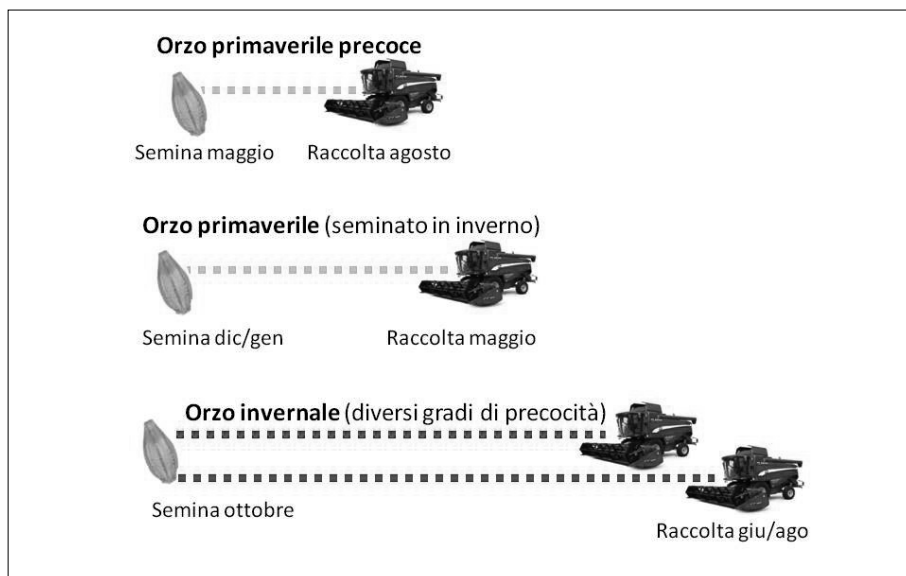


Fig. 1 *L'orzo con un ciclo produttivo che può variare da 90 a 300 giorni e una buona resistenza alla siccità è in grado di adattarsi a una vasta gamma di ambienti, dal circolo polare artico ai limiti del deserto*

La biodiversità dell'orzo coltivato non è limitata solo alla capacità della specie di adattarsi ai vari ambienti, ma si estende anche alla tipologia di spiga (orzo distico e orzo polistico), alla tipologia di granella (seme nudo e seme vestito) e alla composizione del seme che consente di selezionare piante per uso zootecnico, per la produzione di malto, o ad alto contenuto di betagluca- ni per l'alimentazione umana. Infine esiste una enorme biodiversità costituita dalle varietà antiche e dalle forme selvatiche che spesso portano importanti fonti di resistenza a malattie. Tutto questo patrimonio di biodiversità è alla base del processo di selezione che porta allo sviluppo delle nuove varietà ad alta sostenibilità, piante resistenti alle malattie, efficienti nell'utilizzo delle risorse nutritive (elementi fertilizzante e acqua) e capaci di produrre un seme con specifici profili qualitativi.

2. CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DELLA BIODIVERSITÀ DEGLI ORZI COLTIVATI

Nell'ambito di un progetto Europeo dedicato all'esplorazione della diversità genetica dell'orzo (EXBARDIV) è stata condotta una caratterizzazione molecolare di circa 400 varietà europee testandone la variabilità allelica per circa

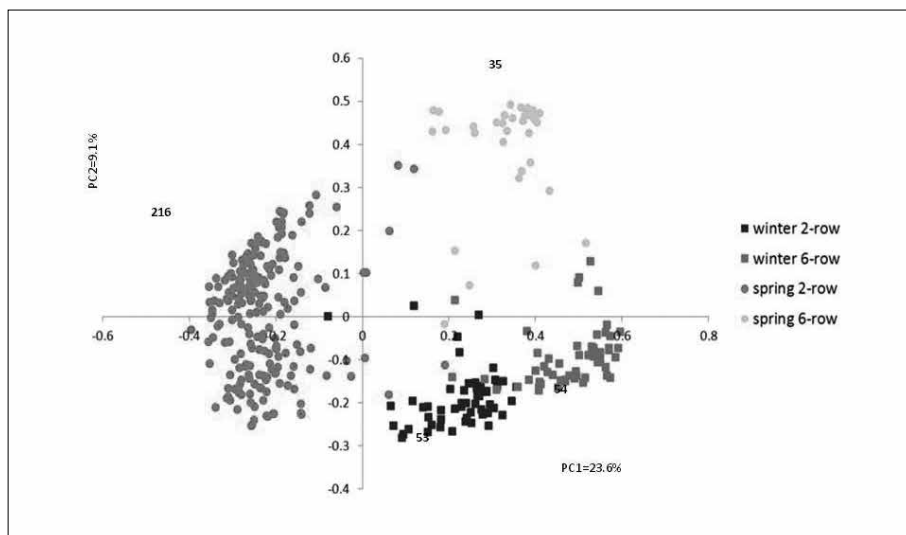


Fig. 2 *Analisi delle componenti principali (PCA) generata dalla caratterizzazione molecolare di circa 400 varietà di orzo mediante circa 9.000 marcatori molecolari*

9.000 polimorfismi di singolo nucleotide (SNP; Tondelli et al., 2013). I risultati hanno evidenziato come le varietà si raggruppano chiaramente sulla base del loro habitus di crescita (invernale e primaverile) e delle diverse tipologie di spiga (distico e polistico), un dato che suggerisce come il miglioramento genetico degli ultimi 50 anni abbia operato prevalentemente entro ciascuna tipologia di pianta limitando la diversità entro ciascun gruppo di breeding ma ampliando quella tra le diverse tipologie di orzo. La figura 2 illustra il risultato dell'analisi delle componenti principali della varianza (PCA) realizzata con i dati molecolari. La componente principale (PC1) spiega il 23% di tutta la diversità analizzata e distingue chiaramente il gruppo dei primaverili distici, prevalentemente da malto dalle altre tipologie, mentre la PC2 (9% delle diversità spiegata) separa nettamente i primaverili polistici da tutti gli invernali. Ulteriori analisi sul gruppo dei soli orzi primaverili hanno indicato come il miglioramento genetico degli ultimi decenni abbia significativamente modificato la diversità genetica determinando un'associazione tra certe regioni cromosomiche e le superiori caratteristiche produttive delle varietà moderne (Tondelli et al., 2013). Questi dati spiegano l'azione del miglioramento genetico sul genoma e consentono di procedere a un'analisi genetica attraverso *Genome Wide Association Scan* (GWAS; Barabaschi et al., 2016) per l'identificazione dei caratteri necessari a migliorare la sostenibilità della coltura dell'orzo e dei geni a essi associati. Ad esempio, usando il sottoinsieme degli

orzi primaverili è stato analizzata la base genetica della tolleranza al freddo dimostrando come esista una variabilità genetica per tale carattere anche all'interno del germoplasma primaverile e come questo carattere sia controllato dagli stessi loci sul cromosoma 5H responsabili della generalmente maggior resistenza al freddo degli orzi invernali (Tondelli et al., 2015).

3. SVILUPPO DI PIANTE RESISTENTI ALLE MALATTIE

La sostenibilità dell'orzo, e più in generale di tutte le piante coltivate, è supportata da un continuo progresso genetico che mira a inserire nelle moderne varietà nuovi geni che conferiscono particolari caratteristiche produttive o qualitative e di resistenza a stress di natura biotica e abiotica. In questa attività di miglioramento genetico grande attenzione è rivolta alla ricerca e all'introduzione di fonti di resistenza alle malattie virali e fungine. Piante geneticamente resistenti permettono produzioni più elevate e salubri senza ricorrere a trattamenti fitosanitari. Le moderne varietà di orzo portano fonti di resistenza alle virosi (virus del mosaico giallo dell'orzo e virus del nanismo dell'orzo), all'oidio, alla striatura e alla maculatura bruna e altre malattie fungine, tutte introdotte attraverso l'uso di marcatori molecolari (Marker-Assisted Selection). Le principali malattie dell'orzo in Italia sono illustrate in figura 3.

La ricerca di nuove fonti di resistenza alle malattie è essenziale per contrastare l'evoluzione dei patogeni. Da oltre 20 anni, il Centro di ricerca per la genomica di Fiorenzuola cura la ricerca di nuove fonti di resistenza alla striatura bruna dell'orzo, una patologia trasmessa dal seme, causata dal fungo *Pyrenophora graminea* e normalmente controllata con la concia. Questo lavoro ha portato all'identificazione di due fonti di resistenza denominate *Rdg1* e *Rdg2* e all'isolamento di uno di essi (Biselli et al., 2010; Bulgarelli et al., 2010). I marcatori associati a queste fonti di resistenza sono attualmente utilizzati nei programmi di miglioramento genetico. L'introduzione di resistenze genetiche alla striatura bruna è fondamentale per la coltivazione in biologico, dove non è possibile ricorrere alla concia del seme e, più in generale, costituisce un passo avanti per migliorare la sostenibilità della coltura.

L'analisi di ampie collezioni di germoplasma rappresenta la strada maestra per l'identificazione di nuove fonti di resistenza. In questo lavoro sino a qualche tempo fa si procedeva unicamente con un'analisi fenotipica testando con sistemi di inoculo artificiale la risposta di tutti i materiali genetici. Oggi è invece possibile operare anche attraverso il ri-sequenziamento dei genomi, ovvero andando alla ricerca di nuove varianti alleliche codificanti per nuove fonti di

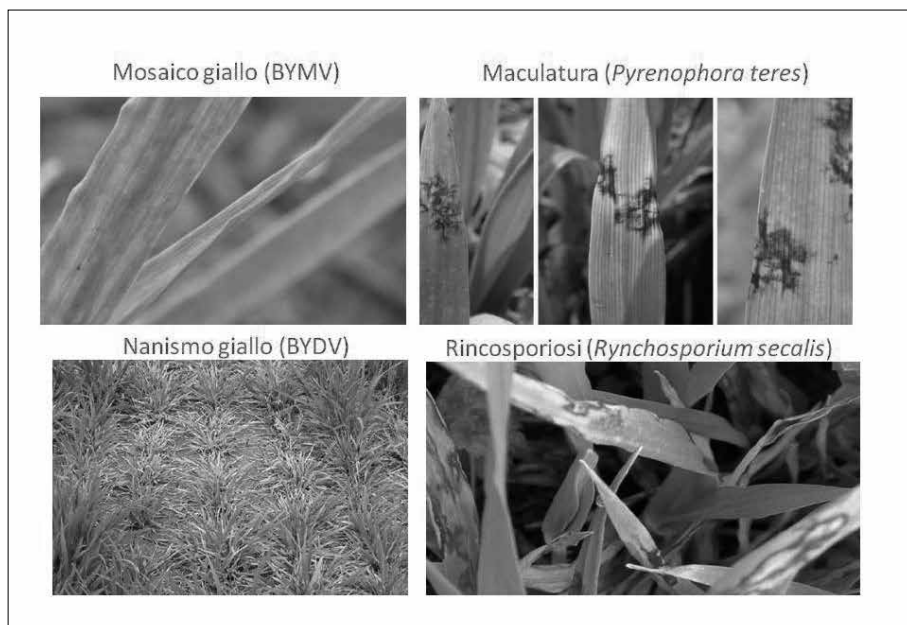


Fig. 3 Alcune delle principali malattie dell'orzo in Italia

resistenza. Un primo lavoro fatto per il gene *Rdg2* che controlla la resistenza alla striatura bruna dell'orzo ha portato all'identificazione di nuove varianti alleliche codificanti per nuovi profili di resistenza (Biselli et al., 2013).

4. HABITUS DI CRESCITA E PRECOCITÀ

La sincronizzazione del ciclo vegetativo della coltura con le caratteristiche climatiche delle aree di coltivazione è un altro aspetto fondamentale per garantire il successo e la sostenibilità della coltura. La pianta deve infatti produrre la spiga e successivamente riempirla quando le condizioni ambientali (in particolare temperatura e disponibilità idrica) sono le più favorevoli. Nel caso dell'orzo esistono due principali tipologie di piante: quelle ad habitus invernale (inducono la fioritura solo dopo il soddisfacimento di un fabbisogno di freddo) e quelle ad habitus primaverile (non necessitano di una esposizione al freddo per indurre la fioritura) (Rizza et al., 2011). Gli orzi ad habitus invernali hanno il potenziale di sviluppare una resistenza al freddo più elevata degli orzi ad habitus primaverile. Negli ultimi anni è aumentato l'interesse in un terzo tipo di habitus chiamato

alternativo o facoltativo. Questo habitus è caratterizzato da un elevato potenziale di sviluppo di resistenza al freddo ma non necessita di una esposizione al freddo per indurre la fioritura. Mentre nel centro-nord Italia gli orzi invernali sono raccomandati per la semina autunnale e quelli primaverili sono utilizzati per le semine in febbraio-marzo, nelle zone meridionali o più in generale nelle aree mediterranee, è frequente l'utilizzo di orzi primaverili in semina autunnale. Oltre all'habitus di crescita, molti altri geni controllano la regolazione fine e l'esatta determinazione dell'epoca di fioritura contribuendo all'ampia adattabilità dell'orzo all'ambiente. Tra questi i regolatori della risposta alla lunghezza del giorno (fotoperiodo) e i geni di precocità *per se* (Comadran et al., 2012). Le migliori combinazioni alleliche a tutti questi fattori sono state, dapprima inconsciamente e oggi sempre più consapevolmente, selezionate dai breeders per permettere alle migliori linee di sfruttare al meglio le diverse condizioni ambientali (Comadran et al., 2012).

5. ORZO DA MALTO

Una particolare tipologia di orzo è quello destinato alla produzione di malto per la produzione di birra o whisky. Il tipico orzo da malto è un orzo distico con semi grandi e omogenei, solitamente primaverile, con basso contenuto in betaglucani. La maltazione è un processo industriale basato su una parziale germinazione dei semi in condizioni controllate. Il processo di germinazione, a seguito dell'azione di vari enzimi, determina una parziale degradazione dei polisaccaridi e delle proteine della cariosside, il processo viene bloccato mediante essiccazione e il prodotto ottenuto (malto) viene macinato, ammostato e utilizzato come substrato per la fermentazione del lievito. Il contenuto proteico deve essere limitato al 10-11%, un eccessivo contenuto proteico limita la macinabilità dell'orzo maltato (friabilità) e provoca intorbidamento della birra. Questa particolare caratteristica dell'orzo da malto contribuisce a incrementare la sostenibilità della coltura in quanto limita il fabbisogno di concimazione azotata (Gianinetti et al., 2005; Gianinetti et al., 2015). Gli orzi da malto vengono valutati sulla base di vari parametri, soprattutto della resa in estratto del malto, che indica la sostanza estratta utilizzabile per la fermentazione alcolica. Infatti, la resa in birra, e/o il grado alcolico di questa, dipendono da quanto materiale utile può essere estratto (solubilizzato) dall'orzo maltato (Gianinetti et al., 2015).

CARATTERE	PRINCIPALI GENE FONTI DI RESISTENZA	REFERENZE
Barley Yellow Dwarf Virus	<i>Yd2, Yd3</i>	Jefferies et al., 2003
Barley Yellow Mosaic Virus	<i>rym9, rym11</i>	Werner et al., 2005
Striatura bruna (<i>Pyrenophora graminea</i>)	<i>Rdg1, Rdg2</i>	Biselli et al., 2010; Bulgarelli et al., 2010
Oidio (<i>Blumeria graminis f.s. hordei</i>)	<i>mlo11</i>	Tacconi et al, 2006
Maculatura bruna (<i>Pyrenophora teres</i>)	<i>Rpt5</i>	Manninen et al., 2006
Habitus di crescita	<i>Hv-BM5, ZCCT-H</i>	Rizza et al., 2011

Tab. 1 *Principali malattie dell'orzo per le quali sono disponibili fonti di resistenza associate a marcatori molecolari routinariamente utilizzati nei programmi di breeding in atto presso il Centro di ricerca per la genomica vegetale di Fiorenzuola d'Arda. Nell'ultima riga della tabella sono riportati i loci e i marcatori utilizzati per determinare l'habitus di crescita*

6. MIGLIORAMENTO GENETICO DELL'ORZO

Presso il Centro di ricerca per la genomica del CREA è in atto un intenso programma di miglioramento genetico dell'orzo in cui la sostenibilità costituisce uno degli obiettivi prioritari. Particolare attenzione è dedicata allo sviluppo di linee con resistenze genetiche alle principali malattie, per molte di esse si dispone di marcatori molecolari usati per la selezione assistita. Marcatori molecolari sono utilizzati anche per l'esatta determinazione dell'habitus di crescita (tab. 1).

7. PROSPETTIVE

Oltre alle malattie, le nuove frontiere della ricerca genetica per migliorare la sostenibilità dell'orzo sono rivolte verso il miglioramento dell'efficienza d'uso dell'azoto (Nitrogen Use Efficiency, NUE) e dell'acqua (Water Use Efficiency, WUE), caratteri indispensabili per garantire una coltivazione sostenibile nell'ottica della riduzione degli input e dei cambiamenti climatici. L'ampliamento dell'apparato radicale giocherà un ruolo fondamentale nel miglioramento di questi caratteri, e oggi molti studi sono volti all'identificazione dei geni che controllano l'architettura del sistema radicale e la sua plasticità, ovvero la capacità di svilupparsi in modo diverso a seconda delle condizioni del suolo.

RIASSUNTO

L'orzo è una delle specie coltivate con la più ampia capacità di adattamento all'ambiente. La sostenibilità dell'orzo, e più in generale di tutte le piante coltivate, è supportata da un continuo progresso genetico che inserisce nelle moderne varietà nuovi geni che confe-

riscono particolari caratteristiche produttive o qualitative e di adattamento all'ambiente biotico e abiotico. Nell'attività di miglioramento genetico grande attenzione è rivolta alla ricerca e all'introduzione di fonti di resistenza alle malattie virali e fungine. La continua ricerca di nuove fonti di resistenza alle malattie fornisce nuovi alleli per contrastare l'evoluzione dei patogeni mentre l'uso esteso dei marcatori molecolari consente di introdurre rapidamente tali alleli nelle linee elite.

ABSTRACT

Barley has a well know adaptation capacity and sustainability, being able to growth in fertile as well as in marginal environments. These traits are sustained by a continuous genetic improvement through breeding activity that introduce new yield and quality related traits as well as new sources of resistance to diseases and environmental stresses in the modern cultivars. Modern breeding work relies on the availability of novel sources of resistance as well as on the extensive application of molecular markers to sustain the discovery of new alleles and their introgression into the elite lines.

REFERENZE

- BARABASCHI D., TONDELLI A., DESIDERIO F., VOLANTE A., VACCINO P., VALÈ G., CATTIVELLI L. (2016): *Next generation breeding*, «Plant Science», 242, pp. 3-13.
- BISELLI C., URSO S., BERNARDO L., TONDELLI A., TACCONI G., MARTINO V., GRANDO S., VALÈ G. (2010): *Identification and mapping of the leaf stripe resistance gene Rdg1a in Hordeum spontaneum*, «Theoretical Applied Genetics», 120, pp. 1207-1218.
- BISELLI C., URSO S., TACCONI G., STEUERNAGEL B., SCHULTE D., STEIN N., CATTIVELLI L., VALÈ G. (2013): *Haplotype variability and identification of new functional alleles at the Rdg2a leaf stripe resistance gene locus*, «Theoretical and Applied Genetics», 126, pp. 1575-1586.
- BULGARELLI D., BISELLI C., COLLINS N.C., CONSONNI G., STANCA A.M., SCHULZE-LEFERT P., VALÈ G. (2010): *The CC-NB-LRR-type Rdg2a resistance gene confers immunity to the seed-borne barley leaf stripe pathogen in the absence of hypersensitive cell death*, «PLoS One», 5: e12599.
- COMADRAN J., KILIAN B., RUSSELL J., RAMSAY L., STEIN N., GANAL M., SHAW P., BAYER M., THOMAS W., MARSHALL D., HEDLEY P., TONDELLI A., PECCHIONI N., FRANCA E., KORZUN V., WALTHER A., WAUGH R. (2012): *Natural variation in a homolog of Antirrhinum CENTRORADIALIS contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley*, «Nature Genetics», 44, pp. 1388-1392.
- GIANINETTI A., BARONCHELLI M., ALBERICI R., FACCINI N., CATTIVELLI L. (2015): *Valutazione qualitative degli orzi da birra in Italia*, «L'Informatore Agrario», 32, pp. 56-59.
- GIANINETTI A., TOFFOLI F., CAVALLERO A., DELOGU G., STANCA A.M. (2005): *Improving discrimination for malting quality in barley breeding programmes*, «Field Crop Research», 94, pp. 189-200.
- JEFFERIES J.P., KING B.J., BARR A.R., WARNER P., LOGUE S.J., LANGRIDGE P. (2003): *Marker-assisted backcross introgression of the Yd2 gene conferring resistance to barley yellow dwarf virus in barley*, «Plant Breeding», 122, pp. 52-56.

- MANNINEN O.M., JALLI M., KALENDAR R., SCHULMAN A., AFANASENKO O., ROBINSON J. (2006): *Mapping of major spot-type and net-type netblotch resistance genes in the Ethiopian barley line CI 9819*, «Molecular Breeding», 49, pp. 1564-1571.
- RIZZA F., PAGANI D., GUT M., PRÁŠIL I.T., LAGO C., TONDELLI A., ORRÙ L., MAZZUCOTELLI E., FRANCA E., BADECK F.W., CROSATTI C., TERZI V., CATTIVELLI L., STANCA A.M. (2011): *Diversity in the response to low temperature in representative barley genotypes cultivated in Europe*, «Crop Science», 51, pp. 2759-2779.
- TACCONI G., BALDASSARRE V., COLLINS N.C., BULGARELLI D., STANCA A.M., VALÈ G. (2006): *Haplotype characterization and markers at the barley Mlo powdery mildew resistance locus as tools for marker-assisted selection*, «Genome», 49, pp. 864-872.
- TONDELLI A., PAGANI D., NASEH GHAFORI I., RAHIMI M., ATAEI R., RIZZA F., FLAVELL A.J., CATTIVELLI L. (2014): *Allelic variation at Fr-H1/Vrn-H1 and Fr-H2 loci is the main determinant of frost tolerance in spring barley*, «Environmental and Experimental Botany», 106, pp. 148-155.
- TONDELLI A., XU X., MORAGUES M., SHARMA R., SCHNAITHMANN F., INGVARSDEN C., MANNINEN O., COMADRAN J., RUSSELL J., WAUGH R., SCHULMAN A., PILLEN K., RASMUSSEN S., KILIAN B., CATTIVELLI L., THOMAS W., FLAVELL A.J. (2013): *Structural and temporal variation in the genetic diversity of a European collection of barley cultivars and utility for association mapping of quantitative traits*, «Plant Genome», 6, p. 2.
- WERNER K., FRIEDT W., ORDON F. (2005): *Strategies for Pyramiding resistance genes against the barley Yellow Mosaic Virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2)*, «Molecular Breeding», 16, pp. 45-55.

Caratterizzazione dei polisaccaridi dell'orzo

I β -glucani sono polisaccaridi lineari composti da catene di residui di glucosio polimerizzati attraverso legami β -(1-4) e β -(1-3). I legami β -(1-4) possono ripetersi da due a quattro volte consecutivamente, mentre i legami β -(1-3) sono presenti singolarmente. In altre parole, la struttura è composta maggiormente da unità di cellotriosio e cellotetraosio legate da legami β -(1-3). Il resto della struttura (5-10%) è composta da blocchi più lunghi formati da unità di glucosio (da 5 a 15) legate tramite legami β -(1-4) (Wood et al., 1994; Johansson et al., 2004).

L'orzo è uno dei cereali più ricchi in β -glucani. Infatti, il loro contenuto varia, secondo fattori genetici e ambientali, dal 2,5% all'11,3%. Rispetto ad altri cereali, la quantità di β -glucani nell'orzo è superiore a quella di avena (2,2-7,8%), segale (1,2-2,0%) e frumento (0,4-1,4%). All'interno dell'orzo si trovano principalmente nelle pareti cellulari dell'endosperma amidaceo (70-80%) e in minore percentuale nello strato aleuronico e negli strati più esterni della cariosside. Per questo motivo gli orzi senza glumelle (*hull-less barley*) hanno un contenuto più elevato in β -glucani. Inoltre, varietà particolari, ad esempio le varietà "waxy", che contengono amido principalmente composto da amilopectina, ne sono maggiormente ricchi (Izydorczyk e Dexter, 2008).

Gli arabinoxilani, invece, sono formati da residui di xilosio legati insieme da legami β -(1-4) e sostituiti generalmente in posizione O-2, O-3, o entrambe, da residui di arabinosio. Inoltre l'arabinosio può legare in diverse posizioni, residui di acido p-cumarico o ferulico. In genere, il rapporto tra arabinosio e xylosio negli arabinoxilani dell'orzo è di circa 0,6. Rispetto ad altri cereali, la quantità di arabinoxilani nell'orzo è generalmente inferiore a quella della

* Centro di Eccellenza per la Ricerca sulla Birra, Università degli Studi di Perugia

segale (7,6-12%), ma superiore a quella di avena (2,7-3,5%), sorgo (1,8%) e riso (2,6%) (Izydorczyk e Dexter, 2008). Infatti, alcune varietà, possono arrivare a contenere intorno al 12% di questi composti (Holtekjølén et al., 2006). Essi si ritrovano principalmente nello strato aleuronico (67-71%) e in minor quantità nelle pareti cellulari dell'endosperma.

Sia i β -glucani che gli arabinoxilani sono "non-starch polysaccharides (NSP)", cioè polisaccaridi non amidacei e sono molto conosciuti in ambito nutrizionale come ingredienti funzionali per le loro proprietà prebiotiche. Infatti, l'Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) li ha inseriti tra le fonti di fibra alimentare e ne ha riconosciuto le proprietà benefiche per la salute umana. Nello specifico, è stato scientificamente provato che i β -glucani dell'orzo e dell'avena hanno effetti significativi sull'abbassamento del colesterolo nel sangue, con conseguente diminuzione dei fattori di rischio che possono portare all'insorgenza di malattie coronariche (EFSA, 2011a). Inoltre, lo stesso panel scientifico che ha condotto lo studio, ha suggerito che il consumo di almeno 3 grammi al giorno di β -glucani, come parte di una dieta a basso contenuto di grassi saturi e di uno stile di vita sano, può promuovere la salute cardiovascolare. Nello stesso anno è stato pubblicato un parere dell'EFSA anche per gli arabinoxilani. Infatti, diversi sono stati gli studi per verificare gli effetti di questi polimeri sull'aumento del senso di sazietà, sulla capacità di ridurre i problemi di stitichezza e sulla riduzione della glicemia. Proprio riguardo l'ultimo punto è stata confermata una relazione causa-effetto tra il consumo di arabinoxilani e l'abbassamento della risposta glicemica post-prandiale (EFSA, 2011b). Il panel scientifico ha concluso che il quantitativo necessario da assumere nell'arco della giornata per avere tale effetto è di 8g di fibre ricche in arabinoxilani; di cui, questi, devono essere circa il 60%. Il controllo della glicemia attraverso un'alimentazione fortificata con arabinoxilani permette inoltre di prevenire l'obesità, il diabete e le patologie a essi correlate.

Dall'affermazione degli effetti benefici, è scaturito un forte interesse verso la produzione di alimenti funzionalizzati con β -glucani e arabinoxilani, confermato dalla crescente diffusione di pubblicità mediatiche riguardanti soprattutto pasta e prodotti da forno.

Anche se non sono chiari i meccanismi con cui questi polimeri possano avere effetti sulla salute umana, l'attenzione è rivolta allo studio delle loro proprietà reologiche, alla loro capacità di aumentare notevolmente la viscosità delle soluzioni e di formare gel (Lazaridou, 2003).

Oltre all'aspetto nutrizionale e salutistico, β -glucani e arabinoxilani sono oggetto di studio anche nell'ambito delle tecnologie alimentari, soprattutto nei processi di produzione di malto e birra. Nel settore birrario, infatti, questi

polimeri sono ben conosciuti per i problemi che possono creare durante i processi di filtrazione di mosto e birra, proprio a causa delle loro proprietà reologiche e del loro quantitativo. Perciò, il loro contenuto viene monitorato già a partire dall'orzo in modo da selezionare le varietà migliori e poi nel malto, per sapere se il relativo mosto avrà problemi di filtrazione oppure no. Infatti, mosti prodotti da malti poco modificati potrebbero avere un contenuto di β -glucani eccessivo con conseguenze negative in termini di velocità di filtrazione di mosto e birra e di resa in estratto (Jonkova e Surleva, 2013). Molto spesso si correla la presenza di β -glucani con la viscosità del mosto, che viene utilizzata come parametro predittivo per la futura filtrazione (Sadosky e Schwartz, 2002). Negli ultimi anni lo studio si è intensificato, poiché non è stato finora possibile definire una correlazione tra il quantitativo di β -glucani nel malto e nel mosto con la filtrabilità. A tal proposito l'attenzione si è spostata sull'analisi delle proprietà molecolari di questi polimeri per caratterizzarli, in termini di peso molecolare, struttura, conformazione, stato di aggregazione, viscosità intrinseca e dimensioni molecolari (Marconi et al., 2014). Oltretutto, problemi che spesso vengono attribuiti alla presenza di β -glucani potrebbero in realtà essere causati dagli arabinoxilani, poiché il loro contenuto nell'orzo è molto maggiore dei β -glucani. Tra l'altro, mentre i β -glucani vengono degradati a opera degli enzimi endogeni durante il maltaggio, gli arabinoxilani subiscono una degradazione molto meno marcata, restando inalterati nel malto finale e conseguentemente nel mosto e nella birra (Lee e Bamforth, 2009). Infatti, uno studio effettuato da alcuni ricercatori americani su diversi campioni di birra commerciale ha mostrato che il quantitativo di arabinoxilani è dieci volte superiore a quello dei β -glucani (Schwartz e Han, 1995).

Vista l'importanza di questi polimeri, sia in campo alimentare che birrario, il Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari ed Ambientali (DSA3) e il Centro di Eccellenza per la Ricerca sulla Birra (CERB) dell'Università degli Studi di Perugia, sono impegnati da anni nello sviluppo di ricerche in ambito di cereali e prodotti a base di cereali arricchiti in β -glucani e arabinoxilani e studiano metodi per l'analisi chimica di questi composti anche nel processo di produzione della birra.

Il metodo analitico maggiormente utilizzato per l'analisi del contenuto totale di β -glucani in orzo, malto, mosto e birra e nei prodotti da forno, viene fornito dalla ditta Megazyme International sotto forma di kit enzimatico approvato da EBC, AOAC, AAOC e ICC. Il metodo, basato sulla procedura di McCleary e Glennie-Holmes (McCleary e Glennie-Holmes, 1985), permette di determinare il contenuto totale di questi composti nelle diverse matrici so-

lide e liquide. Brevemente, il metodo consiste nell'estrazione preliminare dei β -glucani dal campione di partenza e la loro successiva degradazione in glucosio per mezzo dell'aggiunta di enzimi specifici (lichenase e β -glucosidase). Successivamente quest'ultimo viene fatto reagire quantitativamente con un colorante specifico, fornito con il kit, per produrre un composto di colore rosso/rosa che viene analizzato allo spettrofotometro. Dall'assorbanza del prodotto di reazione si risale alla concentrazione iniziale di β -glucani che può essere espressa come percentuale su sostanza secca, per le matrici solide, oppure in milligrammi per litro, se il campione da analizzare è liquido.

A differenza dei β -glucani, non esiste un metodo quantitativo per l'analisi rapida di arabinosilani nei campioni di interesse. Infatti, in letteratura sono state pubblicate diverse metodiche per l'analisi di questi composti, che coinvolgono l'uso di diverse tecniche analitiche e strumentali (Englyst et al., 1982; Douglas, 1981). Molto spesso queste metodiche prevedono una fase preliminare di rimozione delle interferenze tramite etanolo puro o etanolo acquoso e la successiva estrazione acquosa dei polimeri. Durante l'estrazione vengono solubilizzate anche sostanze interferenti, come amido, destrine e proteine, che molto spesso vengono rimosse attraverso l'aggiunta di enzimi addetti alla loro demolizione (α -amilasi, amiloglucosidasi e pancreatina), prima di procedere con la precipitazione selettiva delle sostanze d'interesse e la successiva analisi strumentale.

Presso il DSA3 è in corso l'implementazione di un metodo analitico basato sulle suddette procedure per la determinazione di arabinosilani dalle matrici d'interesse, che prevede l'idrolisi acida degli estratti di arabinosilani in arabinosio e xilosio. Successivamente, lo xilosio viene fatto reagire con phloroglucinol secondo il metodo di Douglas (1981) per la determinazione spettrofotometrica.

Oltre alla determinazione del contenuto totale di β -glucani e arabinosilani è importante conoscere la dimensione di questi polimeri, il loro peso molecolare e quindi le diverse frazioni che compongono il polimero, le la viscosità intrinseca e tutte le altre proprietà molecolari di cui è già stata citata l'importanza. A questo scopo, presso il DSA3, è stato sviluppato un metodo per l'estrazione di β -glucani di orzo e malto e la successiva caratterizzazione tramite cromatografia a esclusione molecolare ad alte prestazioni (HPSEC) accoppiata con triplo detector (Marconi et al., 2014) (fig. 1).

Il metodo è stato anche impiegato, con ottimi risultati, all'interno di alcune ricerche attualmente in fase di ottimizzazione, per la caratterizzazione dei β -glucani solubili da sfarinati e prodotti da forno. La cromatografia a esclusione molecolare permette di separare i polimeri in base al loro raggio idrodi-

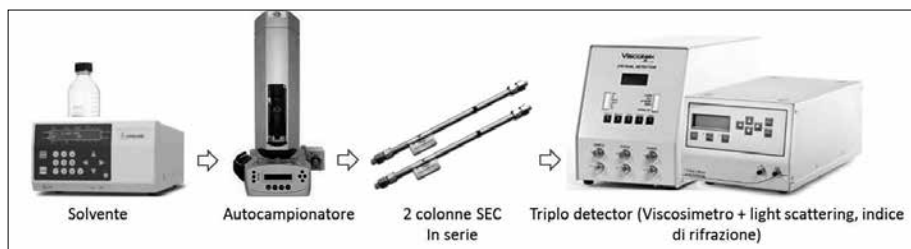
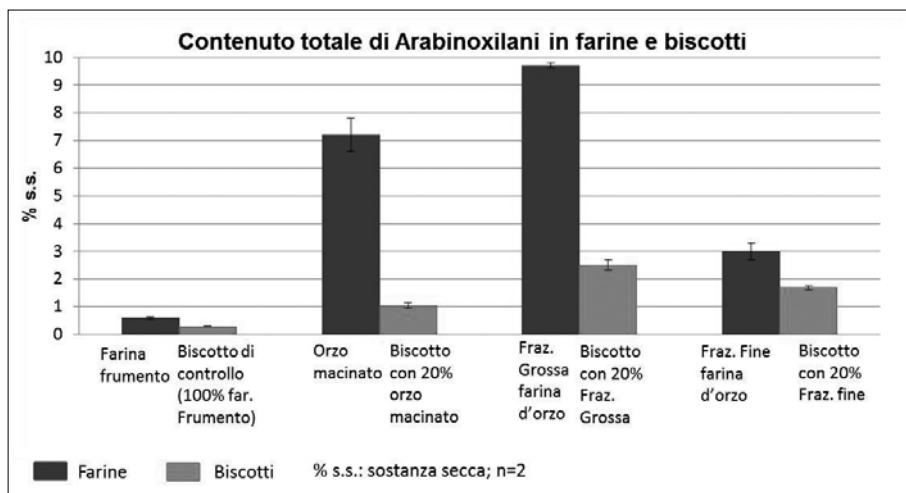


Fig. 1 Schema di un sistema HPSEC con triplo detector

namico. Le sostanze vengono fatte fluire attraverso un sistema HPLC in cui le colonne cromatografiche separano i composti secondo le loro dimensioni. La fase stazionaria porosa all'interno delle colonne permette alle molecole più grandi di passare attraverso gli spazi interstiziali, mentre le molecole piccole passano attraverso i pori allungando il tragitto. Questo sistema permette di ottenere un profilo cromatografico (cromatogramma) in cui le molecole più grandi eluiscono con un tempo di ritenzione minore rispetto a quelle piccole. Le molecole raggiungono successivamente il triplo detector composto da indice di rifrazione, viscosimetro e light scattering detector. I tre strumenti misurano in maniera assoluta la concentrazione, la viscosità intrinseca e il peso molecolare. Inoltre l'elaborazione software dei segnali permette di estrapolare ulteriori informazioni che riguardano la diverse frazioni di peso molecolare, la struttura e la forma del polimero in soluzione e il grado di ramificazione.

Le metodiche messe a punto vengono attualmente impiegate presso il DSA3 all'interno di due grandi aree di ricerca che riguardano la *produzione di biscotti con sfarinati arricchiti in β -glucani e arabinoxilani* e lo *studio del comportamento dei polisaccaridi non amidacei nel processo produttivo della birra* in collaborazione con altre Università del centro Italia, con aziende del settore e con il CERB.

L'area tematica che riguarda i prodotti da forno parte da uno screening varietale di orzi zootecnici coltivati nel campo sperimentale di Papiano (PG) dell'Università degli Studi di Perugia, al fine di selezionare le varietà più ricche in β -glucani e arabinoxilani da impiegare, come sfarinati, nella formulazione di biscotti a elevato valore nutrizionale. Inoltre, le varietà più adatte allo scopo vengono sottoposte a frazionamento, tramite classificazione ad aria, per ottenere sfarinati arricchiti in β -glucani e arabinoxilani da impiegare nelle formulazioni. È prevista anche la realizzazione su scala pilota e pre-industriale dei migliori prototipi realizzati in laboratorio. I primi prototipi sono già stati realizzati utilizzando una varietà di orzo *Lutece*, a elevato contenuto di β -glucani e arabinoxilani (4,2% e 7,2% rispettivamente) e confrontati con un

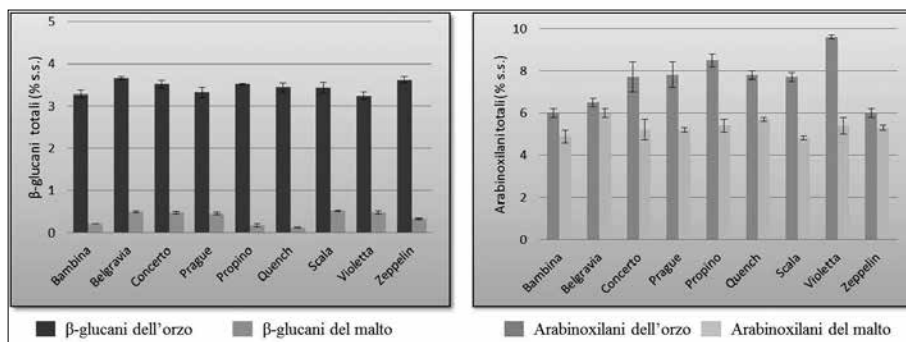


Graf. 1 *Contenuto totale di arabinoxilani in farine, frazioni ottenute tramite classificazione ad aria (fraz. Grossa e fraz. Fine) e nei biscotti formulate con il 20% di sfarinati*

biscotto realizzato con farina di frumento preso come riferimento. Nel grafico 1 vengono riportati i risultati relativi agli arabinoxilani (Falconi, 2015).

Dai primi risultati è stato possibile osservare un netto aumento del contenuto di β -glucani e arabinoxilani sostituendo il 20% della farina di frumento con quella di orzo. Inoltre, da un primo bilancio di massa si è notato che il quantitativo di questi polimeri viene conservato alla fine del processo produttivo, senza perdite durante la lavorazione e la cottura. A seguito di questi risultati è stato possibile realizzare biscotti altamente funzionali, utilizzando, al posto della farina di orzo, sfarinati precedentemente arricchiti con tecniche ad aria. In questo contesto prende importanza anche la caratterizzazione dei β -glucani e arabinoxilani nei biscotti finiti per ottenere informazioni sulle loro proprietà molecolari, oltre che alla quantità, al fine di migliorare il processo produttivo e preservare le proprietà correlate con gli effetti salutistici già evidenziati.

D'altro canto, in ambito birrario si è cercato di selezionare le varietà di orzo che offrono un minore contenuto di β -glucani e arabinoxilani, in modo da prevenire futuri problemi di filtrazione di mosto e birra. Lo studio è stato condotto su varietà di orzo coltivate nel campo sperimentale di Papiano (PG) dell'Università degli Studi di Perugia, delle quali 9 su 10 hanno mostrato un'ottima attitudine alla maltazione e sono state maltate presso l'impianto di micromalteria del CERB. Dall'analisi di β -glucani e arabinoxilani di orzi e malti corrispondenti sono emerse differenze sostanziali nel comportamento



Graf. 2 *Contenuto di β -glucani e arabinosilani in 9 varietà di orzo e nei corrispondenti malti espresso come percentuale su sostanza secca (media di 3 repliche)*

di questi due polimeri durante il maltaggio come riportato nel grafico 2 (Tomasi, 2015).

Innanzitutto è stato possibile confermare, in accordo con i dati di letteratura, che il contenuto di arabinosilani è generalmente maggiore di quello dei β -glucani. Inoltre si è visto che il comportamento dei due polimeri è diverso durante il maltaggio. Infatti, come atteso, è stato confermato che i β -glucani diminuiscono notevolmente, a seguito dell'azione degli enzimi endogeni che si sviluppano durante il maltaggio, mentre gli arabinosilani diminuiscono lievemente, evidenziando anche un differente comportamento degli enzimi addetti alla loro demolizione. Tramite l'analisi HPSEC degli estratti è stato possibile evidenziare che il processo di germinazione ha grande effetto anche sulle caratteristiche molecolari dei β -glucani (Marconi et al. 2014). Infatti, tempi di germinazione maggiori portano alla ulteriore diminuzione del contenuto e del peso molecolare dei β -glucani, con conseguente abbassamento delle dimensioni idrodinamiche e della viscosità intrinseca. Osservando le frazioni a diverso peso molecolare ottenute dal triplo detector si è visto che le frazioni di β -glucani a medio e alto peso molecolare (tra 100kDa e 400kDa e maggiori di 400kDa rispettivamente) diminuiscono a seguito del maltaggio, mentre le frazioni di arabinosilani a medio ed elevato peso molecolare si conservano nel malto finale. Inoltre, il triplo detector ha evidenziato una conformazione flessibile di tipo random coil per i β -glucani ($0,5 < \alpha < 0,8$), ma più rigida per gli arabinosilani ($\alpha > 0,8$), che mostrano anche maggiore raggio idrodinamico e viscosità intrinseca (dati non riportati). Questi risultati suggeriscono che gli arabinosilani potrebbero essere maggiormente responsabili di problemi spesso attribuiti ai β -glucani. Studi futuri riguarderanno le performance in fase di filtrazione dei mosti ottenuti dai malti, con l'obiettivo

di capire quale dei due polimeri ha maggiore effetto sulla filtrabilità e quali proprietà sono maggiormente coinvolte in questo processo.

RIASSUNTO

β -glucani e arabinoxilani sono i maggiori polisaccaridi non amidacei dell'orzo di grande interesse in campo alimentare e salutistico, ma anche in campo birrario. Recentemente sono stati inseriti dall'EFSA (European Food Safety Authority) tra le fonti di fibra solubile e sono stati accertati i loro benefici alla salute umana. In ambito birrario, invece, vengono spesso correlati con problemi di filtrazione di mosto e birra. Le relazioni causa-effetto di questi polimeri sono spesso associate alle loro proprietà, oltre che al contenuto, per cui la loro caratterizzazione, in termini di peso molecolare, struttura, conformazione, stato di aggregazione, viscosità intrinseca e dimensioni molecolari, è di grande interesse.

ABSTRACT

β -glucans and arabinoxylans are the main barley non-starch polysaccharides of great interest in the food and healthy, but also in brewing. They have recently been incorporated by EFSA among the sources of soluble fiber and their benefits to human health are verified. On the other hand, they are often related to wort and beer filtration problems in brewing. The cause-effect relationships of these polymers are often associated to their properties, in addition to the content, and thus, the characterization in terms of molecular weight, structure, conformation, state of aggregation, intrinsic viscosity and molecular size is of great interest.

BIBLIOGRAPHY

- DOUGLAS S.G. (1981): *A rapid method for the determination of pentosans in wheat flour*, «Food Chemistry», 7, pp. 139-145.
- EFSA (2011a): *Scientific Opinion on the substantiation of a health claim related to barley beta-glucans and lowering of blood cholesterol and reduced risk of (coronary) heart disease pursuant to Article 14 of Regulation (EC) No 1924/2006*, «EFSA Journal», 9 (12), p. 2470.
- EFSA (2011b): *Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to arabinoxylan produced from wheat endosperm and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 830) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006*, «EFSA Journal», 9 (6), p. 2205.
- ENGLYST H., WIGGINS H. S., CUMMINGS J. H. (1982): *Determination of the Non-starch polysaccharides in Plant Foods by Gas- Liquid Chromatography of Constituent Sugars as Alditol Acetates*, «Analyst», 107, pp. 307-318.
- FALCONI C. (2015): *Innovative bakery products using flour with high nutritional properties*,

- Proceedings Books of XX Workshop on the Developments in the Italian PhD Research on Food Science, Technology and Biotechnology, ISBN: 978-88-99407-02, pp 143-144.
- HOLTEKJØLEN A.K., UHLEN A.K., BRÅTHEN E., SAHLSTRØM S., KNUTSEN S.H. (2006): *Contents of starch and non-starch polysaccharides in barley varieties of different origin*, «Food Chemistry», 94, pp. 348-358.
- IZYDORCZYK M.S., J.E. DEXTER (2008): *Barley β -glucans and arabinoxylans: Molecular structure, physicochemical properties, and uses in food products – a Review*, «Food Research International», 41, pp. 850-868.
- JOHANSSON L., TUOMAINEN P., YLINEN M., EKHOLM P., VIRKKI L. (2004): *Structural analysis of water-soluble and -insoluble β -glucans of whole-grain oats and barley*, «Carbohydrate Polymers», 58, pp. 267-274.
- JOHANSSON L., TUOMAINEN P., YLINEN M., EKHOLM P., VIRKKI L. (2004): *Structural analysis of water-soluble and -insoluble β -glucans of whole-grain oats and barley*, «Carbohydrate Polymers», 58, pp. 267-274.
- JONKOVA G., SURLEVA A. (2013): *Impact of polysaccharides of malt on filterability of beer and possibilities for their reduction by enzymatic additives*, «Journal of Chemical Technology and Metallurgy», 48 (3), pp. 234-240.
- LAZARIDOU A., BILIADERIS C. G., IZYDORCZYK M. S. (2003): *Molecular size effects on rheological properties of oat β -glucans in solution and gels*, «Food Hydrocolloids», 17, pp. 693-712.
- MARCONI O., TOMASI I., DIONISIO L., PERRETTI G., FANTOZZI P. (2014): *Effects of malting on molecular weight distribution and content of water-extractable β -glucans in barley*, «Food Research International», 64, pp. 677-682.
- MCCLEARY B.V., GLENNIE-HOLMES M. (1985): *Enzymic quantification of (1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 4)- β -D-glucan in barley and malt*, «Journal of the Institute of Brewing», 91, pp. 285-295.
- SADOSKY P., SCHWARTZ P.B. (2002): *Effect of arabinoxylans, β -glucans and Dextrins on the Viscosity and Membrane Filterability of a Beer Model Solution*, «Journal of the American Society of Brewing Chemists», 60 (4), pp. 153-162.
- SCHWARZ P. B., HAN J.-Y. (1995): *Arabinoxylan content of commercial beers*, «Journal of the American Society of Brewing Chemists», 53 (4), pp. 157-159.
- TOMASI I. (2015): *Behavior of non-starch polysaccharides during malting and brewing*, Proceedings Books of XX Workshop on the Developments in the Italian PhD Research on Food Science, Technology and Biotechnology, ISBN: 978-88-99407-02, pp. 206-207.
- WOOD P.J., WEISZ J., BLACKWELL B.A. (1991): *Molecular characterization of cereal β -D-glucans. Structural analysis of oat β -D-glucan and rapid structural evaluation of β -D-glucan from different sources by high-performance liquid chromatography of oligosaccharides released by lichenase*, «Cereal Chemistry», 68 (1), pp. 31-39.

Impiego di sfarinati di orzo per lo sviluppo di alimenti funzionali

L'orzo e gli altri cereali contengono numerosi composti bioattivi localizzati in parti differenti della cariosside fra cui beta-glucani, lignani, tocotrienoli, folati, fruttani, fitosteroli, polifenoli, policosanoli, fitati, pentosani, arabinoxilani che svolgono numerose attività biologiche (prebiotica, probiotica, antiossidante, ipoglicemica, ipocolesterolemica, riduzione di malattie cardiovascolari, cancro del colon e difetti del tubo neurale) che, mediante appropriate tecnologie di frazionamento e ricombinazione, possono essere isolati/concentrati in alcune frazioni da utilizzare come ingredienti per lo sviluppo di alimenti funzionali.

I prodotti a base di cereali (pasta, pane, prodotti da forno, cereali da colazione) inoltre sono alimenti che entrano ampiamente e frequentemente nella nostra dieta e che incontrano il favore del consumatore per facilità e semplicità d'uso relativamente alle operazioni di manipolazione trasporto e conservazione. Per i suddetti motivi tali alimenti si prestano perfettamente a essere utilizzati per veicolare composti/sostanze con proprietà bioattive e dietetiche per la realizzazione degli alimenti funzionali tanto da ricoprire la seconda posizione nel segmento di mercato dei cosiddetti functional foods dopo i prodotti a base latte e derivati.

Gli alimenti funzionali sono infatti alimenti caratterizzati da effetti addizionali dovuti alla presenza di componenti (generalmente non nutrienti), naturalmente presenti o aggiunti che interagiscono più o meno selettivamente con una o più funzioni fisiologiche dell'organismo (biomodulazione) portando a effetti positivi sul mantenimento della salute e/o prevenzione delle malattie. A livello europeo una prima definizione scientifica è stata elaborata

* *Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università del Molise*

da un gruppo di più di 100 esperti che hanno lavorato al progetto FUFOS (Functional Food Science in Europe), ed è comparsa nel 1999 sul «British Journal of Nutrition», nel documento recante il nome di “Scientific concepts of functional foods in Europe, Consensus Document”. In base a quanto stabilito in questo documento, «un alimento può essere considerato funzionale se dimostra in maniera soddisfacente di avere effetti positivi e mirati su una o più funzioni specifiche dell’organismo, che vadano oltre gli effetti nutrizionali normali, in modo tale che sia rilevante per il miglioramento dello stato di salute e di benessere e/o per la riduzione del rischio di malattia. Fermo restando che gli alimenti funzionali devono continuare ad essere alimenti e devono dimostrare la loro azione nelle quantità in cui vengono assunti normalmente nella dieta. Gli alimenti funzionali non sono né compresse, né capsule, ma alimenti che formano parte di un regime alimentare normale».

Numerosi sono i motivi che hanno portato al successo degli alimenti funzionali e tra questi possiamo annoverare:

- l’evidenza scientifica sul ruolo centrale giocato da fattori nutritivi nel mantenere gli standard salutistici e nel prevenire malattie;
- l’evoluzione della percezione di alimento come solo nutrimento ad alimento come nutrimento/promotore di benessere e salute;
- l’inversione della filiera non più dal campo alla tavola ma dal consumatore al prodotto;
- l’adozione di una normativa specifica sugli alimenti funzionali anche in Europa (Reg. CE n. 1924/2006);
- l’avvento degli alimenti tagliati su misura “tailor made foods”.

Per questi motivi il mercato degli alimenti funzionali è in continua espansione soprattutto in Giappone e Nord America e in alcuni Paesi europei quali Inghilterra e Germania dove la cultura del cibo è meno legata alla tradizione e la sensibilità all’innovazione è più marcata. Anche in Italia il mercato è *in costante crescita, sebbene* a livelli più contenuti per i motivi suddetti. Solo il 30 per cento delle imprese italiane, infatti, investono in ricerca per l’innovazione di prodotto e di processo e soprattutto la quota preponderante del fatturato (64%) è legata alla tipologia di prodotto “tradizionale classico” mentre solo il 9% è rappresentato dalla tipologia “nuovi prodotti” fra cui si possono includere i functional foods. È interessante notare che una significativa quota del fatturato può essere ascritta alla tipologia di prodotto “tradizionale evoluto” che sta a significare un prodotto tradizionale migliorato/evoluto per specifici aspetti (ad esempio legati a contenuto di servizio, qualità nutrizionale o shelf-life), che mantiene le caratteristiche e la “memoria” nel consumatore del

prodotto classico. Sulla base delle considerazioni soprariportate emerge che un alimento funzionale prevede diverse tipologie e può essere ottenuto con diversi approcci: può essere un alimento naturale o un alimento che è stato processato utilizzando differenti sistemi tecnologici, chimici o biologici.

L'approccio tecnologico per lo sviluppo degli alimenti funzionali adatto al consumatore italiano è quello di sviluppare prodotti naturali/integrali o "tradizionali evoluti" in modo da rispettare le materie prime, l'alimento e le esigenze/preferenze del consumatore. Tale approccio è molto più complicato e complesso da realizzare rispetto a una mera addizione (fortificazione) di composti estratti chimicamente o sintetizzati in laboratorio e richiede il supporto di differenti competenze quali genetisti, agronomi, chimici, biochimici, fisiologi vegetali, tecnologi, microbiologi, patologi, entomologi ma anche ingegneri, economisti, storici, giuristi, nutrizionisti ecc.

Non va poi dimenticata l'elevata accettabilità sensoriale che devono avere questi alimenti funzionalizzati, requisito indispensabile per la loro affermazione sul mercato dal momento che il consumatore non è disposto ad acquistare (pagare di più) un alimento con un valore aggiunto conferito dall'ingrediente bioattivo allorquando lo stesso risulti scadente da un punto di vista edonistico/sensoriale.

L'approccio utilizzato dal nostro gruppo di ricerca per lo sviluppo di alimenti funzionali a base di orzo è stato, pertanto, quello di mettere al centro dell'attenzione l'alimento stesso e il consumatore attraverso l'utilizzo di ingredienti/sfarinati naturali arricchiti in composti bioattivi ottenuti con la tecnologia del frazionamento/ricombinazione e l'impiego di tecnologie di trasformazione sostenibili. Un siffatto approccio ha richiesto una intensa attività di ricerca interdisciplinare con il coinvolgimento di differenti competenze dell'Ateneo e di altre istituzioni di ricerca nazionali e internazionali.

I beta-glucani sono dal punto di vista chimico dei polisaccaridi formati da catene lineari di unità di glucosio legate con legame glucosidico β -1-3 e β -1-4. Rappresentano circa il 70% dei componenti della parete delle cellule dell'endosperma amilifero dell'orzo e dell'avena. Per la loro composizione e struttura e per la capacità di assorbire acqua e gelificare possono avere effetti benefici sul metabolismo lipidico (con particolare riferimento all'azione ipocolesterolemizzante), sul metabolismo glucidico (riduzione indice glicemico) e sul senso di sazietà.

Nei nostri esperimenti volti a ottenere alimenti di largo consumo con buoni livelli beta-glucani, abbiamo adottato la tecnologia di arricchimento per via fisica degli sfarinati di orzo (frazionamento e ricombinazione). In particolare si è ricorsi alla classificazione ad aria capace di separare e concentrare

componenti presenti in frazioni di farina finemente macinata (micronizzata) sulla base delle dimensioni, della densità e della massa delle particelle. Con questa tecnica è stato possibile ottenere un arricchimento in beta-glucani pari al doppio del loro contenuto iniziale, raggiungendo in alcuni casi valori del 15-20%. Queste farine d'orzo arricchite in beta-glucani per via esclusivamente fisica sono state utilizzate per la produzione di alimenti funzionali quali pasta alimentare, pane, biscotti, taralli, cereali da colazione. Per la loro realizzazione parte della semola di frumento duro o della farina di frumento tenero è stata sostituita, in diverse percentuali (dal 25 al 50%), con lo sfarinato d'orzo arricchito in beta-glucani.

L'aggiunta di farina d'orzo comporta, in generale, variazioni spesso consistenti nelle proprietà reologiche degli sfarinati in miscela orzo/frumento rispetto a quelli tradizionali di solo frumento duro o tenero. Pertanto per sopperire a deficienze di carattere tecnologico si è *proceduto allo studio di bilanciate formulazioni* e all'utilizzo di appropriate tecnologie di trasformazione per correggere lo scadimento tecnologico conferito dall'aggiunta dello sfarinato d'orzo privo di proteine del glutine. In particolare per la produzione della pasta (formato spaghetti), è stato previsto l'uso di semole ad alto tenore proteico e di ottima qualità tecnologica oppure l'aggiunta di glutine vitale nelle formulazioni. Si è inoltre fatto uso di processi di essiccaamento ad alta temperatura per favorire la strutturazione del prodotto e la resistenza alla cottura e sovracottura.

I prodotti funzionali realizzati (pasta, pane, taralli, biscotti) sono stati caratterizzati al fine di valutarne il profilo nutrizionale, la quantità di composto bioattivo e l'accettabilità sensoriale. I risultati ottenuti hanno dimostrato che la sostituzione della semola e della farina con opportune quantità di sfarinato d'orzo ha consentito di ottenere alimenti funzionali caratterizzati da eccellente accettabilità sensoriale e elevato contenuto in beta-glucani variante tra 3,5% e 6,5% (pasta 5,2%). Le quantità di beta-glucani presenti erano tali da soddisfare i requisiti della Food and Drug Administration (FDA) secondo i quali sono necessari 3g giornalieri di beta-glucani (facilmente conseguibili con almeno due porzioni giornaliere assunte fra i prodotti realizzati) e 0,75g di beta-glucani per porzione affinché si possa riportare il claim salutistico "capace di ridurre il rischio di malattie cardiovascolari" (FDA, 2005).

Tali quantità soddisfano anche i requisiti salutistici fissati dal Regolamento CE 1924/2006 e dalla European Food Safety Authority (EFSA) con numerosi pareri (Scientific opinion-EFSA Journal 2009; 7 (9): 1254; Scientific opinion-EFSA Journal 2010; 8 (12): 1885; Scientific opinion-EFSA Journal

2011; 9 (12): 2470; Scientific opinion-EFSA Journal 2011; 9 (12): 2471) che in linea di massima ricalcano quelli espressi dalla FDA (3g di beta-glucani/die). Al fine di confermare i dati riportati in letteratura sull'effetto ipoglicemico e anticolesterolemico dei prodotti realizzati è stata predisposta una dieta che fornisse almeno 8g di beta-glucani/die basata su 4 porzioni di prodotti arricchiti in beta-glucani da somministrare per oltre un mese ad un gruppo rappresentativo di volontari. Lo studio ha messo in evidenza che una dieta così composta consegue una riduzione significativa del livello di glucosio e colesterolo ematici.

Nella pubblicazione di Bruno e Marconi (Claims salutistici, tutela del consumatore e sviluppo della scienza: il caso dei beta-glucani, «Rivista di Diritto Alimentare», 1, 2012, pp. 1-22) abbiamo voluto mettere in evidenza alcune criticità in quel difficile equilibrio tra imprese (che investono in ricerca per migliorare la qualità, anche funzionale alla salute, dei propri alimenti), i valutatori scientifici di tali prodotti come riconosciuti dalla legge (nel nostro caso europea) e il consumatore (il quale, comunque, resta il supremo valutatore e arbitro del mercato). La pubblicazione critica, con una serie di circostanziate motivazioni, l'interpretazione restrittiva dell'Autorità Garante della Concorrenza e del Mercato (AGCM) che limita il raggiungimento della quantità fisiologicamente attiva di 3g beta-glucani/die per poter apporre le indicazioni salutistiche (claim) all'assunzione di una singola porzione di prodotto. Le sanzioni amministrative pecuniarie così irrogate dall'Autorità Garante a diverse imprese alimentari che avevano inserito claim salutistici su prodotti che non raggiungevano il livello di 3g di beta-glucani per porzione, avrebbero potuto avere gravi effetti distortivi il mercato degli alimenti funzionali; in questo modo, infatti, si ostacola l'approccio etico/sostenibile di sviluppo dei prodotti funzionali illustrato in precedenza e si penalizza il comportamento virtuoso di produttori di alimenti che vogliano impiegare ingredienti naturalmente ricchi o arricchiti per via fisica in composti bioattivi e non ottenuti per sintesi o estrazione chimica.

Per questo motivo l'EFSA è *dovuta intervenire con un ulteriore parere* per definire meglio quale fosse l'apporto minimo di beta glucani veicolato da una porzione (1g beta-glucani/porzione: sempre in un contesto di quantità fisiologicamente attiva di 3g beta-glucani/die) per poter apporre le indicazioni salutistiche (claim) suddette.

Da questa complessa e vasta attività di ricerca sugli alimenti funzionalizzati con beta-glucani d'orzo sono derivate numerose pubblicazioni scientifiche ma anche diverse tipologie di alimenti industriali (paste, biscotti ecc.) attualmente presenti in commercio.

RIASSUNTO

In questa rassegna sono riportati i risultati di una sperimentazione che ha evidenziato la possibilità di utilizzare con successo tecniche fisiche, quali la classificazione ad aria, per la produzione di sfarinati d'orzo arricchiti in beta-glucani. Tali sfarinati sono stati quindi utilizzati come ingredienti per la produzione di differenti alimenti funzionali (pasta, pane, biscotti e taralli) caratterizzati da eccellenti proprietà sensoriali e da livelli di beta-glucani appropriati per il controllo della glicemia e della colesterolemia.

ABSTRACT

In this review, barley flours enriched in beta-glucans were obtained by physical techniques and used to develop different functional foods. The study highlighted that air classifications is an appropriate technique to obtain barley flours enriched in beta-glucans. These enriched flours were successfully used as ingredients to produce different functional foods (pasta, bread, biscuits and taralli), with excellent sensorial properties and beta-glucan amounts suitable to control the glycemic and cholesterol levels.

BIBLIOGRAFIA

- BRUNO F., MARCONI E. (2012): *Claims salutistici, tutela del consumatore e sviluppo della scienza: il caso dei betaglucani*, «Rivista di Diritto Alimentare», 1, pp. 1-22.
- CUBADDA R.E., MARCONI E. (2008): *Sviluppo di alimenti funzionali a base di cereali arricchiti con beta glucani dell'orzo: una rassegna*, «Ingredienti Alimentari», 36, pp. 6-13.
- GÓMEZ-CARAVACA A.M., VERARDO V., MARCONI E., CABONI M.F. (2014): *A chemometric approach to determine the phenolic compounds in different barley samples by two different stationary phases: a comparison between C18 and pentafluorophenyl core shell columns*, «Journal of Chromatography A», 1355, pp. 134-142.
- GÓMEZ-CARAVACA A. M., VERARDO V., CANDIGLIOTA T., MARCONI E., CABONI M.F. (2015): *Use of air classification technology as green process to produce functional barley flours naturally enriched of alkylresorcinols, beta glucans and phenolic compounds*, «Food Research International», 73, pp. 88-96.
- MARCONI E., GRAZIANO M., CUBADDA R. (2000): *Composition and utilization of barley pearling byproducts for making functional pastas rich in dietary fiber and β -glucans*, «Cereal Chemistry», 77, pp. 133-139.
- MARCONI E., MESSIA M.C. (2012): *Pasta made from nontraditional raw materials: technological and nutritional aspects*, in *Durum wheat: Chemistry and Technology*, Ch. 11, Sisson M.J., Carcea M., Marchylo B., Abecassis J. Eds. AACC St Paul, MN (USA), pp. 123-157.
- PANFILI G., FRATIANNI A., DI CRISCIO T., MARCONI E. (2008): *Tocol and β -glucan levels in barley varieties and in pearling by-products*, «Food Chemistry», 107, pp. 84-91.
- VERARDO V., GOMEZ-CARAVACA A.M., MESSIA M.C., MARCONI E., CABONI M.F. (2011): *Development of functional spaghetti enriched in bioactive compounds using barley coarse*

fraction obtained by air classification, «Journal of Agricultural and Food Chemistry», 59, pp. 9127-9134.

VERARDO V., CEVOLI C., PASINI F., GOMEZ-CARAVACA A.M., MARCONI E., FABBRI A., CABONI M.F. (2015): *Analysis of oligomer proanthocyanidins in different barley genotypes using high-performance liquid chromatography–fluorescence detection- mass spectrometry and near-infrared methodologies*, «Journal of Agricultural and Food Chemistry», 63, pp. 4130-4137.

VITAGLIONE P., BARONE LUMAGA R., MONTAGNESE C., MESSIA M.C., MARCONI E., SCALFI L. (2010): *Satiating effect of a barley beta-glucan enriched snack*, «Journal of the American College of Nutrition», 29, pp. 113-121.

Il *carbon footprint* della birra lager

I consumi di energia e di acqua, la formazione di scarti ed effluenti e le emissioni in aria sono i principali impatti ambientali dell'industria brassicola. Pertanto, il settore delle bevande sia Europa che in Nord America ha iniziato a implementare opportune strategie per ridurre l'impatto sul riscaldamento globale del pianeta, tenendo conto della sensitività del potenziale di riscaldamento globale della birra (GWP) nei riguardi delle materie prime, della scelta dei materiali di imballaggio, della logistica di distribuzione, del grado di riuso/riciclo, ecc.

Si riportano in tabella 1 i consumi specifici registrati in media nelle principali birrerie industriali europee, come estratto da Cimini e Moresi (2015).

Per valutare l'impronta del carbonio (*carbon footprint*, CF) applicando il metodo standard *Publicly Available Specification 2050* (BSI, 2008), i confini del sistema analizzato non sono stati ristretti al solo processo di produzione della birra, ma sono stati estesi dalle fase campo inerente la coltivazione dell'orzo, del mais e del luppolo alla fase di produzione del malto, della semola di granturco e del luppolo essiccato, alla manifattura dei materiali ausiliari e di imballaggio, includendo il trasporto delle materie prime, dei coadiuvanti di processo e degli imballaggi dai siti di produzione al cancello della birreria e il trasporto della birra lager confezionata fino ai centri di distribuzione, lo smaltimento degli imballaggi scartati, il trattamento anaerobico e aerobico delle acque di scarico, la produzione di biogas per digestione anaerobica, la generazione di energia termica e infine il consumo di elettricità dalla rete di distribuzione nazionale.

* Dipartimento per l'Innovazione nei sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali, Università della Toscana

CONSUMI SPECIFICI	BIRRERIE EUROPEE	UDM
Malto di orzo	15-18	kg hL ⁻¹
Semola di mais	-	kg hL ⁻¹
Luppolo in pellet	260	g hL ⁻¹
Terre di diatomee	80 – 570 (255)	g hL ⁻¹
PVPP	20-40	g hL ⁻¹
Soda caustica (30% p/p)	0.39 – 1.07 (0.7)	kg hL ⁻¹
Anidride Carbonica	830– 3060 (1830)	g hL ⁻¹
Energia termica	150-350 (110)	MJ hL ⁻¹
Biogas generato	3.0-3.3	MJ hL ⁻¹
Energia elettrica	8-20 (12.7)	kWh hL ⁻¹
Acqua	5-20 (4.9)	hL hL ⁻¹
Trebbie	14-19 (17)	kg hL ⁻¹
Surplus di lievito	2-4 (3)	kg hL ⁻¹

Tab. 1 *Intervallo di variazione dei consumi specifici di materie prime, ingredienti, energia termica ed elettrica, detergenti e acqua, e della formazione di sottoprodotti e metano per hl di birra lager relativamente alle principali birrerie europee. I valori fra parentesi indicano il dato medio*

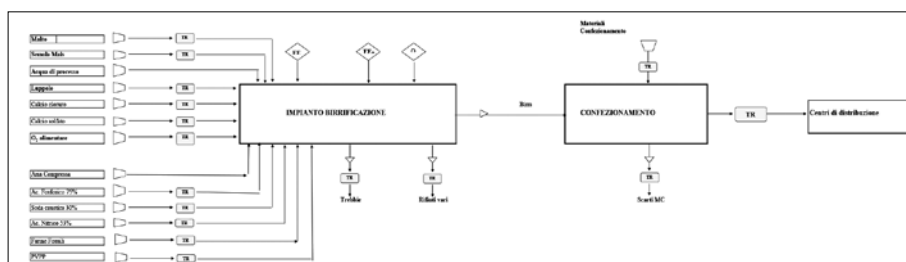


Fig. 1 *Diagramma di flusso del processo di produzione di birra lager*

In figura 1 si riporta il diagramma di flusso del processo di produzione di birra lager, utilizzato per la stima del Carbon Footprint.

In base a quanto già riportato in dettaglio (Cimini e Moresi, 2015), l'impatto ambientale della produzione e della distribuzione di 1 hL di birra lager industriale è risultato fortemente condizionato dal tipo di confezionamento prescelto. In particolare, nel caso di birra lager prodotta da una birreria industriale dell'Italia centrale nel periodo aprile 2012-marzo 2013, si è stimato un impronta del carbonio (CF) pari a 57 kg CO_{2e} hL⁻¹ per la birra confezionata in bottiglia di vetro da 66 cL, a 67 o 74 kg CO_{2e} hL⁻¹ per la birra in bottiglia di vetro da 33 cL assemblate in cartoni o in cluster da 3, a 69 kg CO_{2e} hL⁻¹ per la birra in lattina di alluminio da 33 cL, ed a 25 kg CO_{2e} hL⁻¹ per la birra in fusti di acciaio inox da 30 L. Detta variazione nei valori di CF deriva dal diverso

contributo dei materiali di imballaggio e del trasporto. In particolare, l'impatto degli imballaggi era minimo nel caso dei fusti, grazie all'elevato coefficiente di riuso, e massimo nel caso dei cluster di 3 bottiglie di vetro da 33 cL.

Rispetto ai dati disponibili in letteratura, i valori di CF stimati sono risultati nettamente inferiori probabilmente per la maggiore scala di produzione e per la più corta catena di distribuzione della birreria esaminata, grazie anche all'impiego delle trebbie in mangimistica e alla digestione anaerobica delle acque di scarico con formazione di metano, utilizzato per coprire le richieste di energia termica dell'impianto industriale.

L'analisi di sensitività parametrica del CF ha permesso di identificare un paio di strategie promettenti che potrebbero essere applicate per ridurre ulteriormente le emissioni di gas climalteranti. La prima suggerirebbe di sostituire le bottiglie di vetro e i fusti di acciaio inox con nuovi contenitori in PET arricchiti con nanoparticelle di argilla, mentre la seconda prospetta l'impiego di orzo biologico coltivato in prossimità della malteria e della birreria. Entrambe queste strategie potrebbero essere applicate indipendentemente dalla scala di produzione della birreria.

Al contrario dei numerosi rapporti di valutazione dell'impatto ambientale disponibili nella letteratura tecnica, in questo lavoro (Cimini e Moresi, 2015) si è deliberatamente fatto uso di dati di processo e di fattori di emissione totalmente trasparenti per consentire a qualsiasi ricercatore non solo di applicare il modello di calcolo qui sviluppato, quale presupposto essenziale per il procedere delle indagini scientifiche, ma anche di ri-usarlo appena disponibili dati di processo più accurati.

RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato effettuato con il contributo del MIUR, progetto PRIN 2010-2011 - prot. 2010ST3AMX_003.

RIASSUNTO

In questo studio si è stimato l'impatto ambientale della produzione e distribuzione di 1 hL di birra lager, confezionata in diversi formati da una birreria industriale italiana del centro Italia nel periodo Aprile 2012 - Marzo 2013, utilizzando il metodo standard Publicly Available Specification 2050. Si sono inoltre individuati le fasi a maggior impatto del ciclo di vita della birra, ossia la manifattura delle bottiglie di vetro e la coltivazione dell'orzo.

ABSTRACT

This study assessed the environmental impact of the industrial production and distribution of 1 hL of a pale lager, as packed in different formats by an Italian brewery in the centre of Italy over the period April 2012-March 2013, in compliance with the Publicly Available Specification 2050 standard method, as well as the main hot spots in the life cycle of beer (i.e., glass bottle production and barley cultivation).

BIBLIOGRAFIA

- CIMINI A., MORESI M. (2015): *Carbon Footprint of a pale lager packed in different formats: assessment and sensitivity analysis based on transparent data*, «Journal of Cleaner Production», XXX, 1-18 (<http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.06.063>).
- BSI (2008): *Publicly Available Specification (PAS 2050) for the assessment of the life cycle greenhouse gas emission of goods and services*, British Standards Institution, London.

