



www.uniurb.it

Università degli Studi di Urbino 'Carlo Bo'
Dipartimento di Scienze Biomolecolari

Gruppo di Ricerca sulla Capacità Antiossidante.

Via A. Saffi 2, 61029 Urbino (PU). Tel 0722 305288, Fax 0722 305324, web: <http://www.uniurb.it/orac/>

**RELAZIONE TECNICA PER AZIENDA AGRICOLA
"FLAMINIA MONTEFELTRO"**

In Italia, la produzione e commercializzazione degli sfarinati è regolata dal D.P.R. n. 187 del 2001.

In tale Decreto sono definiti i parametri per poter classificare le farine di grano tenero, le semole di grano duro e la pasta. Tra questi parametri ci sono l'umidità, le ceneri, le proteine e l'acidità (quest'ultima solo per la pasta), che servono sostanzialmente per avere una classificazione merceologica degli sfarinati.

Oltre a questi parametri, è utile valutare anche altri fattori che si riferiscono maggiormente alle proprietà reologiche di una farina, come la % di glutine, da cui dipende il comportamento degli impasti ottenuti, durante la lavorazione meccanica. Oltre al glutine è utile valutare gli **arabinoxilani**, polisaccaridi non amilacei che giocano un ruolo nel processo di panificazione, in quanto favoriscono l'incremento del volume del pane e la produzione di una mollica più fine ed omogenea, influenzando le proprietà dell'impasto e del prodotto finale (Courtin & Delcour, 2002). Gli arabinoxilani del frumento sono inoltre interessanti da studiare in quanto l'EFSA, l'autorità per la sicurezza alimentare, ha fornito indicazioni sulla salute (health claim), secondo cui: *l'assunzione di almeno 8 g di arabinoxilani su 100 g di carboidrati disponibili nell'ambito del pasto, contribuisce alla riduzione della glicemia post-prandiale.*

Ci sono poi parametri, come il **glutathione ridotto (o GSH)**, i **polifenoli** e l'**ORAC** (che misura la capacità antiossidante dei polifenoli), che forniscono una valutazione nutrizionale del prodotto, attraverso la determinazione del potere antiossidante degli sfarinati e dei prodotti derivati, in modo da valutarne eventuali variazioni in seguito alla lavorazione meccanica o alla cottura.

- Il GSH è considerato come una delle più importanti molecole antiossidanti presenti nel nostro organismo, che protegge i globuli rossi dallo stress ossidativo e che è in grado di chelare i metalli pesanti, proteggendoci da un loro effetto tossico.
- I polifenoli sono anch'essi molecole antiossidanti, riscontrati essenzialmente nelle piante e coinvolte nella prevenzione di malattie degenerative, come il cancro e le malattie cardiovascolari. Anche in questo caso, gli effetti benefici dei polifenoli dipendono dalla quantità consumata e dalla loro biodisponibilità (Manach et al., 2004).

Nei cereali, i polifenoli totali vengono distinti in liberi e legati: i primi sono liberi nel citoplasma delle cellule vegetali e, per questo, più biodisponibili, di più facile estrazione e in grado di fornire la maggiore capacità antiossidante. I polifenoli legati sono quelli complessati a strutture fibrose della parete cellulare e, per questo, richiedono una estrazione più prolungata.

- L'ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) rappresenta infine uno strumento per determinare la qualità dei polifenoli, misurando la loro capacità antiossidante, ossia la capacità di protezione nei confronti dei radicali liberi. Il valore ORAC viene espresso in equivalenti di Trolox, ossia un derivato analogo della vitamina E, considerata come una delle più importanti molecole antiossidanti naturali.

I radicali liberi, generati in seguito alla esposizione a radiazioni, stress, metalli, etc., sono delle specie altamente reattive, in grado di danneggiare le macromolecole del nostro organismo (DNA, lipidi, proteine), causando a lungo termine patologie degenerative.

Lo **SCOPO DELLA RICERCA** era quello di valutare le caratteristiche merceologiche e reologiche (umidità, ceneri, % di glutine e arabinoxilani), gli antiossidanti (GSH, polifenoli e ORAC), nei seguenti campioni:

- Grano tenero (granella, farina integrale e crusca), varietà Bologna;
- Grano duro (granella, semola integrale e crusca), varietà Odisseo;
- Pane realizzato con la farina integrale di grano tenero;
- Pasta (Spaghetti) cruda e cotta, realizzata con la semola integrale di grano duro.

È stato inoltre effettuato un confronto con la pasta commerciale (a base di semola di grano duro) e il pane realizzato con la farina di grano tenero tipo 00.

Il **MATERIALE UTILIZZATO**, fornito dall'azienda agricola "Flaminia Montefeltro" del Sig. Mensà Patrizio, è pervenuto nel Laboratorio del Dipartimento di Scienze Biomolecolare (DISB) i primi di Aprile 2015.

I campioni erano granelle di grano tenero Bologna e di grano duro Odisseo e le corrispondenti, farine e crusche tutte derivate dal prodotto dell'annata 2014. I campioni delle farine e crusche provenivano da macinatura con mulino a pietra. I campioni sono stati conservati a + 6°C, in barattoli di plastica con tappo ermetico, fino al momento dell'analisi. Il pane è stato conservato a - 20 °C e scongelato al momento dell'analisi. La pasta è stata conservata in luogo fresco e asciutto, come riportato in etichetta.

ANALISI ESEGUITE PRESSO IL LABORATORIO DISB:

- 1) L'**umidità**, espressa in %, è stata calcolata su un campione di 5 g di farina, posto in stufa a 130° C fino al raggiungimento del peso costante.

- 2) Le **ceneri**, espresse in %, sono state determinate in muffola (550° C) su un campione di 2 g di farina.
- 3) Il **glutine**, espresso in %, è stato ottenuto per lavaggio a mano, partendo da 25 g di farina impastata e lavata con una soluzione salina di NaCl al 2%. Il glutine puro ottenuto è stato essiccato in stufa a 105°C per tutta la notte.
- 4) Gli **arabinoxilani totali**, espressi in % (g/100 g sostanza secca), derivano dall'analisi spettrofotometrica, secondo il metodo riportato da Kiszonas et al. (2012).
- 5) I **polifenoli totali** derivano dall'analisi delle componenti libere e legate. Il valore dei polifenoli, espresso in mg su 100 g di sostanza secca, è stato determinato con il metodo di Folin-Ciocalteu, come riportato da Singleton (1999).
- 6) La determinazione della **capacità antiossidante**, sugli estratti liberi e legati, è stata fatta mediante il **metodo ORAC**, come riportato da Ninfali e Bacchiocca (2003). I valori sono espressi in micromoli di equivalenti Trolox (μmolTE) su 100 g di sostanza secca.
- 7) Il **GSH**, espresso in mg su 100 g di sostanza secca, è stato determinato utilizzando il metodo spettrofotometrico riportato da Beutler et al. (1963), adattato ai campioni analizzati.

Per ciascun parametro, le analisi sono state eseguite in triplicato e il valore riportato fa riferimento alla media \pm la deviazione standard.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Parametri analitici determinati nella filiera di lavorazione dei prodotti integrali "Flaminia"

Tabella 1 riporta i parametri merceologici (umidità e ceneri) e reologici (% di glutine e arabinoxilani totali) determinati nei campioni sottoposti ad analisi.

Per quanto riguarda l'**umidità**, i campioni analizzati rientrano nel limite massimo fissato dal D.P.R./2001, ossia 14.5 % per la farina e la semola, 12.5 % per la pasta cruda.

Le **ceneri**, secondo il D.P.R./2001, devono essere:

- comprese tra 1.30 e 1.70 % affinché una farina possa essere classificata come “*farina integrale di grano tenero*”. Nel nostro caso la farina analizzata si trova leggermente al di sotto di tale range, essendo il valore pari all’1%.
- comprese tra 1.40 e 1.80 % affinché una semola possa essere classificata come “*semola integrale di grano duro*”. Nel nostro caso la semola rientra perfettamente nel range, essendo il valore pari all’1.5 %.
- comprese tra 1.40 e 1.80 % affinché una pasta possa essere classificata come “*pasta di semola integrale di grano duro*”. Anche in questo caso la pasta rientra nel range indicato dal Decreto, essendo il valore pari all’1.5 %.

È interessante notare che, mentre le due granelle hanno la stessa % di ceneri (1.7 %), le crusche risultano essere differenti (3 % per il grano tenero e 2 % per il grano duro), per il differente tasso di abburattamento, conseguente alla molitura.

Infatti, come comunicato dal Sig. Mensà, il grano tenero aveva una incidenza del 13 % circa, mentre il grano duro del 15%.

Infine, con la cottura del pane la % di ceneri rimane inalterata, mentre si riduce allo 0.5 % con la cottura della pasta.

Per quanto riguarda la **% di glutine**, la farina di grano tenero presenta un valore leggermente superiore rispetto al glutine determinato nella semola di grano duro.

Gli **arabinoxilani totali** sono presenti nelle due granelle (grano tenero e duro) in % non significativamente diverse tra loro (circa 1.7 %). Con la molitura, il loro contenuto non subisce variazioni significative. Anche la crusca proveniente dalla molitura, non mostra differenze % tra grano duro e tenero (circa 2.7 %). Tuttavia, la % di arabinoxilani nella crusca risulta essere superiore rispetto alle granelle e alle farine in quanto in essa si ha un’alta concentrazione di fibre e arabinoxilani totali.

Tabella 2 mostra il contenuto dei polifenoli totali (liberi + legati), la loro capacità antiossidante (determinata mediante il metodo ORAC) e il glutatione ridotto (o GSH).

Come si nota dalla tabella, **i polifenoli** subiscono un dimezzamento in entrambi i campioni (grano tenero e duro), passando dalla granella alla farina/semola, per rimozione della crusca. La componente che viene maggiormente ridotta è quella legata alle strutture fibrose, di cui è ricca la crusca. Tuttavia, la frazione libera dei polifenoli, quella che contribuisce alla maggiore capacità antiossidante, non risulta modificata in seguito alla molitura dei due campioni.

La crusca di grano tenero presenta un contenuto in polifenoli superiore rispetto a quella di grano duro, per il differente tasso di abburattamento rilevato in seguito alla molitura.

L’**ORAC**, mostra un andamento simile a quello dei polifenoli.

In particolare, come si nota dalla tabella 2, le due granelle (grano duro e tenero) hanno un valore ORAC non significativamente diverso tra loro, con il maggior contributo antiossidante fornito dalla componente libera.

Con la molitura dei campioni, si ha una piccola riduzione della capacità antiossidante, grazie al fatto che la componente libera dei polifenoli, non subisce variazioni in seguito alla molitura.

Per quanto riguarda la crusca, ancora una volta si nota la differenza tra l'ORAC del grano tenero e quello del duro, per il diverso tasso di abburattamento.

Per quanto riguarda il **glutazione ridotto o GSH**, possiamo notare (Tab. 2) che si ha lieve incremento durante la molitura dei due tipi di grano per concentrazione dell'endosperma amilaceo. Nella crusca di grano tenero il contenuto di GSH è significativamente superiore rispetto a quello presente nella crusca di grano duro.

Confronto con i prodotti commerciali non integrali

Figura 1 mostra il confronto degli arabinosilani totali tra i prodotti commerciali (pane e pasta) e quelli integrali "Flaminia".

Come si nota dal **Riquadro A**, con la cottura della pasta si assiste ad un incremento della % di arabinosilani sia nel prodotto artigianale "Flaminia" che in quello commerciale, in seguito a una maggiore estrusione di tali composti, dovuta alle alte temperature. Tuttavia, gli arabinosilani nella pasta "Flaminia" sono di gran lunga superiori rispetto a quelli presenti nella pasta bianca commerciale (+ 75 %).

Durante il processo di panificazione (**Riquadro B**), si nota invece un calo degli arabinosilani nel prodotto "Flaminia". Tuttavia, anche in questo caso, la % di arabinosilani risulta superiore (+ 40 % circa) nel pane integrale "Flaminia" rispetto a quello bianco commerciale. Il calo degli arabinosilani nel prodotto integrale può essere riconducibile al fatto che queste molecole sono degradate da enzimi specifici presenti nella farina e nel lievito madre. Questa degradazione rappresenta un vantaggio perché arabinosilani più piccoli derivati dal taglio dei maggiori migliorano le caratteristiche dell'impasto. Tuttavia una buona parte di essi è consumata durante il tempo di lievitazione.

Figura 2 mostra il confronto dei polifenoli totali (liberi + legati) tra i prodotti commerciali (pane e pasta) ottenuti con farina/semola bianca e quelli ottenuti a partire da farina/semola integrale "Flaminia".

Come si nota dal **riquadro A**, durante il processo di pastificazione, nella "Flaminia" si ha un lieve incremento dei polifenoli legati rispetto alla semola da cui è stata ottenuta la pasta. Con la cottura della pasta, bollita per 8', il valore dei polifenoli rimane invariato e comunque superiore rispetto a quello della semola.

L'incremento dei polifenoli nella pasta (cruda e cotta) rispetto alla semola è dovuto al fatto che, con la lavorazione meccanica e la cottura, viene favorita l'estrazione, dalla

matrice alimentare, dei polifenoli legati, con conseguente incremento nella loro concentrazione, come confermato da dati di letteratura (Fares et al., 2010).

La pasta commerciale cruda presenta la stessa quantità di polifenoli liberi presenti nella pasta “Flaminia, ma una concentrazione di polifenoli legati decisamente più bassa (Fig. 2A). Nella pasta commerciale, la perdita di polifenoli liberi (ossia di quelli più antiossidanti) in seguito alla cottura è drammatica mentre nella pasta Flaminia i polifenoli liberi sono mantenuti dopo la bollitura.

Nel **riquadro B** della Figura 2 notiamo che durante il processo di panificazione, entrambi i prodotti subiscono un calo dei polifenoli (- 20% nel pane Flaminia e - 30 % nel pane bianco). Tuttavia, il contenuto complessivo dei polifenoli risulta superiore nel pane integrale “Flaminia” (+ 50 % circa) rispetto al pane bianco.

Figura 3 mostra il confronto della capacità antiossidante tra i prodotti commerciali (pane e pasta) ottenuti con farine raffinate e quelli artigianali ottenuti a partire da farina integrale “Flaminia”.

Sia nel **riquadro A** che nel **B**, i valori di ORAC hanno un andamento simile a quello riportato in Figura 2, relativo ai polifenoli.

Anche in questo caso notiamo infatti un calo dell’ORAC nei prodotti commerciali, sia durante la cottura della pasta, sia durante la panificazione. I prodotti integrali “Flaminia” non subiscono variazioni ORAC, probabilmente per il fatto che nell’integrale, avendo preservato gran parte della crusca, e quindi dei polifenoli legati, si riesce a garantire una protezione dei polifenoli liberi, ossia di quelli più biodisponibili e con la maggiore capacità antiossidante, che non vengono danneggiati dai processi di lavorazione o di cottura.

Figura 4 mostra il confronto del glutathione ridotto (GSH) tra i prodotti commerciali (pane e pasta) ottenuti con farina/semola bianca e quelli artigianali ottenuti a partire da farina/semola integrale “Flaminia”.

Come si nota dal **riquadro A**, con la cottura della pasta c’è un incremento del GSH in entrambi i prodotti (pasta Flaminia e commerciale).

Nel **riquadro B**, relativo al confronto tra il pane integrale e bianco commerciale, si assiste a una stabilità di tale antiossidante durante il processo di panificazione.

Tuttavia è interessante notare come cambia il valore del GSH in base al tasso di abburattamento ottenuto. La farina integrale “Flaminia” ha infatti un valore superiore (+ 40% circa) rispetto alla farina raffinata tipo 00.

In conclusione:

- Le farine Flaminia sono un ottima base per la realizzazione di paste alimentari e pane.
- I parametri merceologici e reologici rientrano nei limiti fissati dal D.P.R. 2001, fatta eccezione per la farina di grano tenero, leggermente al di sotto del limite.
- Consumando un piatto (100 g) di pasta integrale “Flaminia” si introducono circa 3 g di arabinoxilani, 37 mg di GSH, 200 mg di polifenoli totali, che

forniscono 13.000 unità ORAC, ben al di sopra dei valori consigliati dalle linee guida (Prior et al. 2005) di circa 6000 Unità ORAC/die.

- Consumando una porzione (50 g) di pane realizzato con la farina integrale di grano tenero “Flaminia” si introducono circa 0.3 g di arabinoxilani, 12 mg di GSH, 60 mg di polifenoli totali, che forniscono ben 4600 unità ORAC.
- Oltre ai polifenoli totali, la protezione antiossidante è garantita anche dal GSH, presente nelle farine integrali “Flaminia” in quantità decisamente superiore rispetto alle farine bianche.
- Gli arabinoxilani mostrano un sorprendente incremento di concentrazione durante la cottura della pasta e inoltre contribuiscono al processo di panificazione, favorendo la lievitazione del pane.

Bibliografia

- Beutler E., Duron O., Kelly B.M. (1963). *J Lab Clin Med*, 61, 882-888.
- Courtin C.M. & Delcour J.A. (2002). *J Cereal Sci*, 35, 225-243.
- Fares C., Platani C., Baiano A., Menga V. (2010). *Food Chem*, 119, 1023-1029.
- Kiszonas A.M., Courtin C.M., Morris C.F. (2012). *Cereal Chem*, 89, 143-150.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand C., Remesy, C. and Jimenez, L. (2004). *Am J Clin Nutr*, 79, 727-747.
- Ninfali P., Bacchiocca M. (2003). *J. Agric Food Chem*, 51, 2222-2226.
- Prior R.L., Wu X., Schaich K. (2005). *J Agric Food Chem*, 53, 4290-4302.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela Raventos R.M. (1999). *Methods Enzymol*, 299, 152-178.

Urbino, 14 Maggio 2015.

Firmato

Prof Paolino Ninfali
Docente di Biochimica della Nutrizione
Dipartimento di Scienze Biomolecolari
Università degli studi di Urbino “Carlo Bo”

Tabella 1. Parametri merceologici e reologici determinati nei campioni sottoposti ad analisi.				
	UMIDITÀ (%)	CENERI (%)	GLUTINE (%)	ARABINOXILANI (%)
GRANO TENERO (varietà Bologna)				
Granella	11.37	1.75		1.85±0.17 ^a
Farina	13.00	1.00	7.82±0.62 ^a	1.59±0.11 ^a
Crusca	12.49	3.00		2.56±0.18 ^b
GRANO DURO (varietà Odisseo)				
Granella	11.19	1.70		1.63±0.07 ^a
Semola	12.87	1.50	6.48±0.24 ^b	1.65±0.07 ^a
Crusca	12.79	2.00		2.84±0.29 ^b
PRODOTTI LAVORATI				
Pasta cruda	10.52	1.50		1.24±0.06 ^a
Pasta cotta	58.89	0.50		2.66±0.19 ^b
Pane	32.34	1.00		0.64±0.03 ^c

^{a, b} *Lettere diverse indicano differenze significative ($p < 0.05$), mediante test t di Student. Lettere uguali indicano differenze non significative. Il confronto per la significatività è stato effettuato all'interno di ciascun box per grano tenero, duro e prodotti lavorati.*

Tabella 2. Polifenoli (PF) liberi, legati e totali (mg/100 g sostanza secca), loro capacità antiossidante, determinata mediante metodo ORAC ($\mu\text{molTE}/100$ g sostanza secca) e glutazione ridotto o GSH (mg/100 g sostanza secca)

	Polifenoli liberi	Polifenoli legati	Polifenoli totali	ORAC dei PF liberi	ORAC dei PF legati	ORAC totale	Glutazione ridotto (GSH)
GRANO TENERO							
Granella	83±4 ^a	217±7 ^a	300±15^a	7380±173 ^a	4852±186 ^a	12232±600^a	19.89±1.38^a
Farina	76±3 ^a	80±3 ^b	156±5^b	7633±393 ^a	1951±62 ^b	9585±479^b	26.93±2.00^b
Crusca	143±7 ^b	300±8 ^c	443±35^c	11070±215 ^b	7657±120 ^c	18727±936^c	35.82±2.70^c
GRANO DURO							
Granella	88±8 ^a	188±8 ^a	276±22^a	7161±640 ^a	3871±179 ^a	11033±562^a	21.98±2.00^a
Semola	72±8 ^a	75±2 ^b	147±10^b	8727±667 ^a	1820±31 ^b	10547±527^a	29.01±1.90^b
Crusca	93±2 ^{ab}	204±8 ^a	297±20^a	10595±322 ^b	5333±189 ^a	15928±796^b	24.03±5.54^{ab}
PRODOTTI LAVORATI							
Pasta cruda	68±6 ^a	110±3 ^a	178±9^a	9649±388 ^a	3770±134 ^a	13419±670^a	13.48±0.08^a
Pasta cotta	68±7 ^a	134±10 ^b	202±16^b	9095±134 ^a	3909±131 ^a	13000±650^a	36.68±3.19^b
Pane	65±7 ^a	61±3 ^c	126±6^c	6886±386 ^b	2318±191 ^b	9205±460^b	24.77±2.63^c

^{a, b} Lettere diverse indicano differenze significative ($p < 0.05$), mediante test *t* di Student. Lettere uguali indicano differenze non significative. Il confronto per la significatività è stato effettuato all'interno di ciascun box per grano tenero, duro e prodotti lavorati.

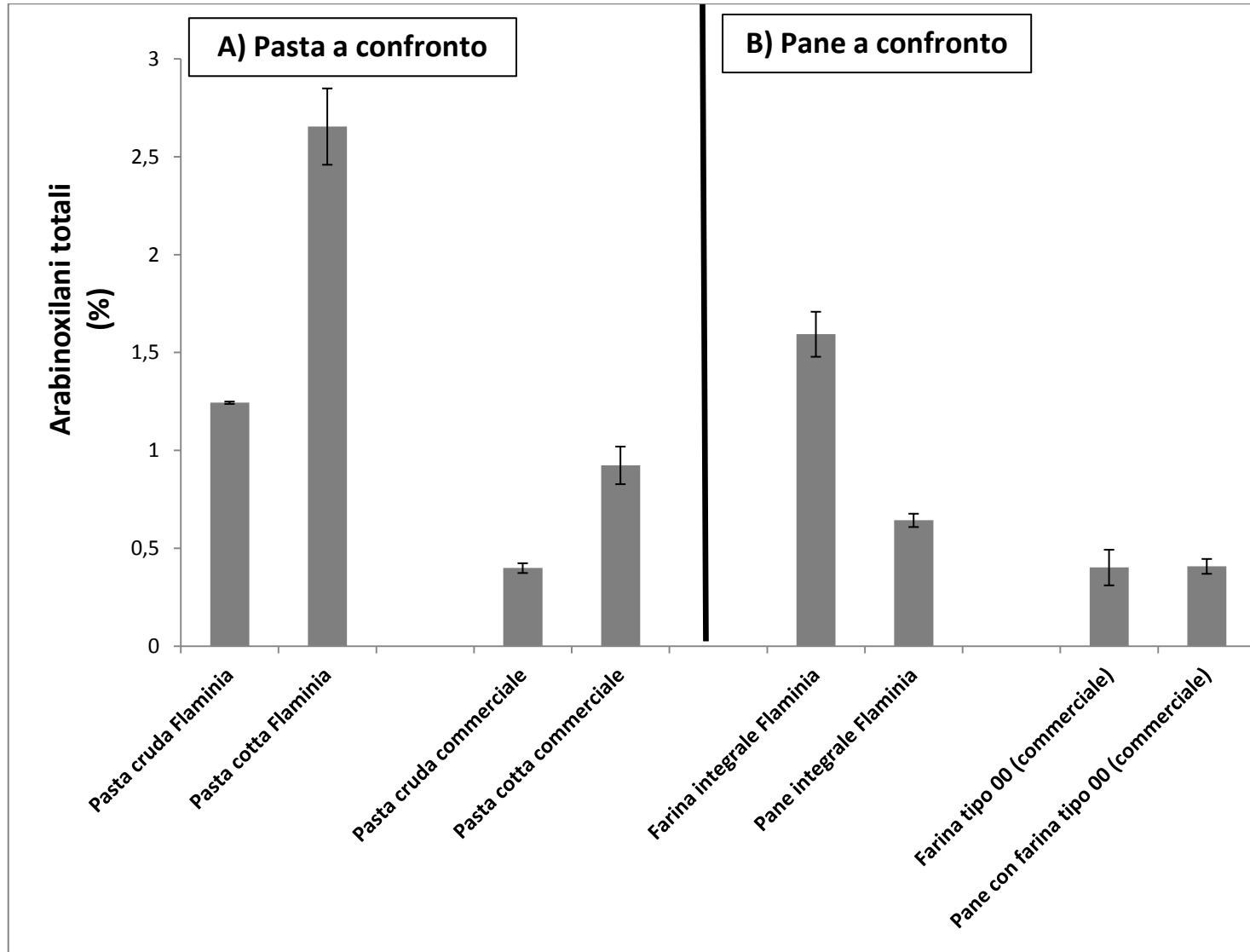


Figura 1. Confronto del contenuto in arabinosilani tra la pasta “Flaminia” e quella commerciale, realizzata con semola di grano duro (riquadro A) e il pane artigianale “Flaminia” e quello bianco, realizzato con la farina tipo 00 (riquadro B). I dati sono espressi in %.

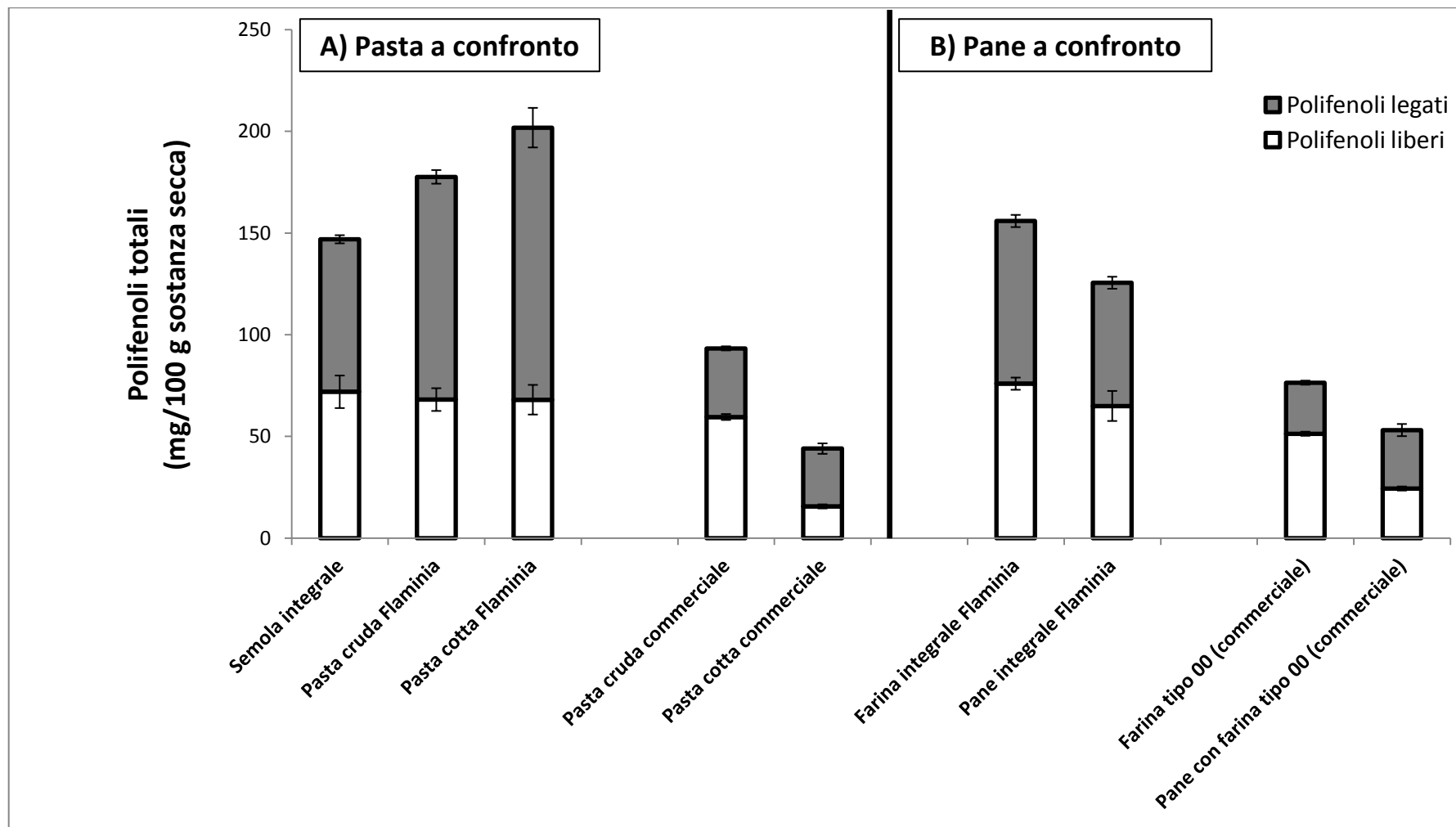


Figura 2. Confronto del contenuto in polifenoli tra la pasta “Flaminia” e quella commerciale, realizzata con semola di grano duro (riquadro A) e il pane artigianale “Flaminia” e quello bianco, realizzato con la farina tipo 00 (riquadro B). I dati sono espressi come mg di polifenoli su 100 g di pasta o pane, privati della umidità.

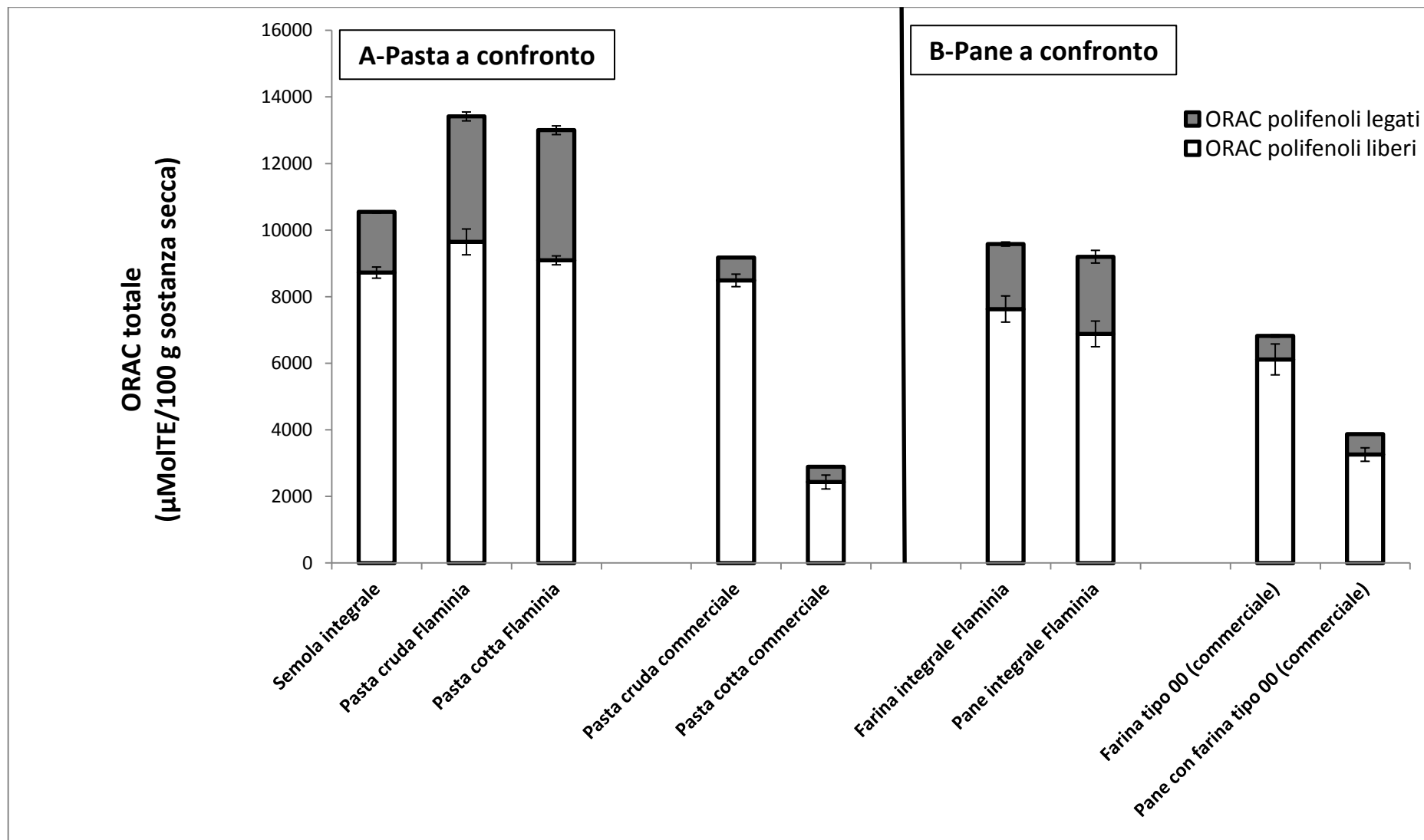


Figura 3. Confronto della capacità antiossidante dei polifenoli (determinata mediante metodo ORAC) tra la pasta “Flaminia” e quella commerciale, realizzata con semola di grano duro (riquadro A) e il pane artigianale “Flaminia” e quello bianco, realizzato con la farina tipo 00 (riquadro B). I dati sono espressi come micromoli di Trolox equivalenti (Unità ORAC) su 100 g di pasta o pane, privati della umidità.

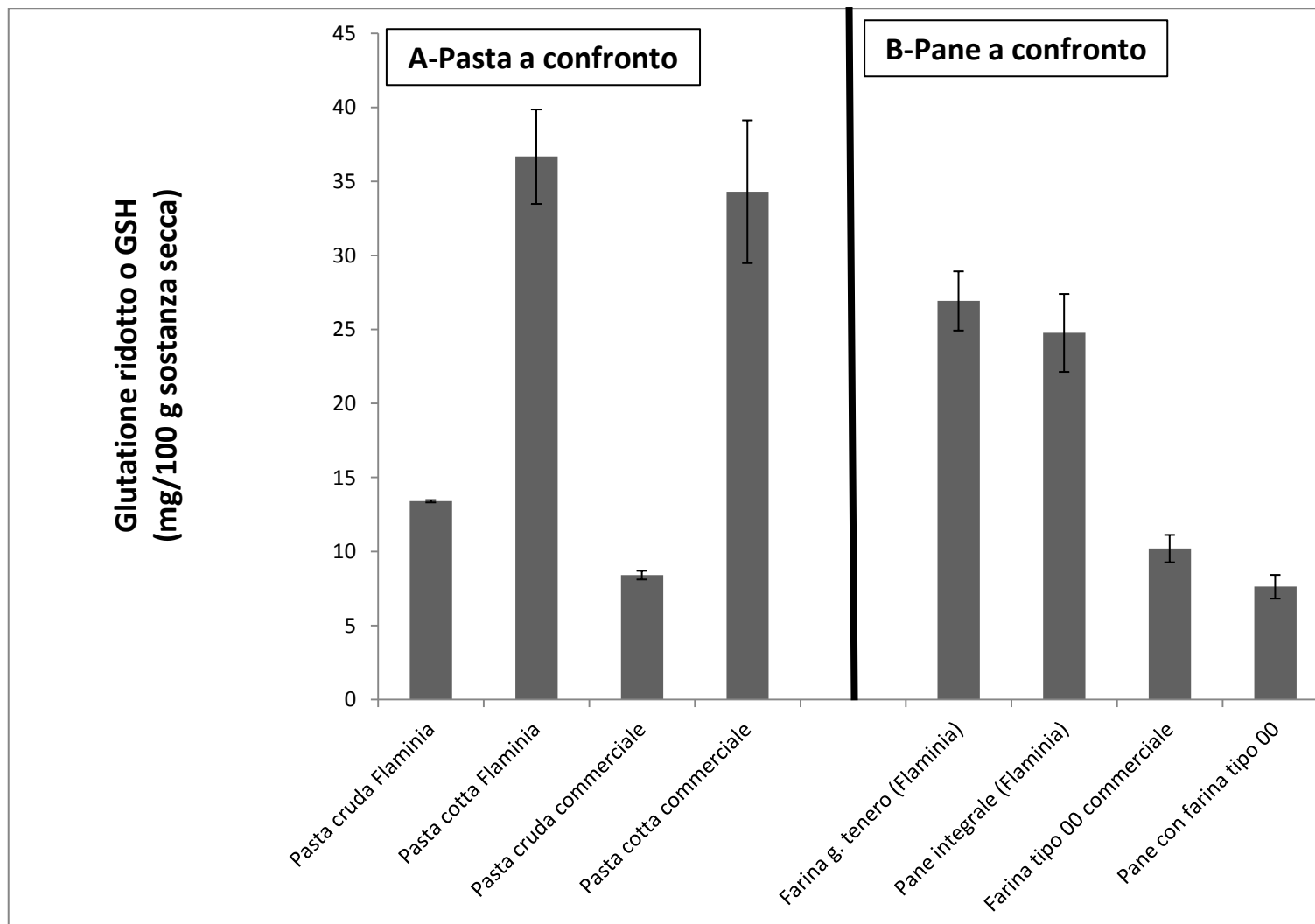


Figura 4. Confronto del glutatone ridotto (GSH) tra la pasta “Flaminia” e quella commerciale, realizzata con semola di grano duro (riquadro A) e il pane artigianale “Flaminia” e quello bianco, realizzato con la farina tipo 00 (riquadro B). I dati sono espressi come mg di GSH su 100 g di pasta o pane, privati della umidità.